

Table des matières

Liste des Figures.....	
Liste des Tableaux.....	
Liste des abréviations.....	
Introduction.....	1
Chapitre I : <i>Revue Bibliographique</i>	
<u>1 Définition et généralités</u>.....	4
1-1 Définition de l’asthme.....	4
1-2 Impact Socio-économique	6
1-2-1 Impact économique.....	6
1-2-2 Impact social.....	6
1-3 Epidémiologie.....	7
1-3-1 Prévalence de l’asthme.....	7
1-3-1-1 Dans le monde.....	7
1-3-1-2 En Algérie.....	8
1-3-2 Mortalité.....	10
1-4 Physiopathologie de l’asthme.....	10
<u>2 Facteurs de risques de l'Asthme</u>.....	13
2-1 Facteurs environnementaux.....	13
2-1-1 Les Allergènes.....	13
2-1-1-1 Les Pneumallergènes.....	13
2-1-1-1-1 Les Allergènes de l’intérieur des maisons (allergènes d’habitats)	14
2-1-1-1-2 Les Allergènes de l’extérieur des maisons	16
2-1-1-2 Les Allergènes alimentaires et médicamenteux.....	17
2-1-2 Tabac.....	18
2-1-2-1 Tabagisme actif.....	18
2-1-2-2 Tabagisme passif.....	19
2-1-3 Pollution atmosphérique	20
2-1-4 Infections respiratoires.....	20
2-1-4-1 Infections respiratoires virales.....	21
2-1-4-2 Infections respiratoires bactériennes.....	21
2-1-4-3 Hypothèse de l’hygiène.....	22

2-1-5 L'exposition professionnelle à des produits chimiques ou biologiques.....	22
2-1-6 Facteurs socio-économiques.....	23
2-1-7 L'air froid.....	24
2-2 Facteurs liés à l'hôte.....	24
2-2-1 Prédisposition génétique.....	24
2-2-2 Atopie.....	25
2-2-3 L'âge et le sexe.....	26
2-2-4 Reflux gastro-œsophagien	26
2-2-5 l'Obésité.....	27
2-2-6 Facteurs Hormonaux.....	28
2-2-7 L'exercice physique.....	29
2-2-8 facteurs psychologiques.....	29
<u>3 Cytokines et l'asthme</u>	30
3-1 Définition et propriétés générales des cytokines.....	30
3-2 Classes des cytokines et l'asthme.....	31
3-2-1 Lymphokines.....	31
3-2-2 Cytokines pro- inflammatoires.....	31
3-2-3 Cytokines anti-inflammatoires.....	32
3-2-4 Facteurs de croissance.....	32
3-2-5 Chemokines.....	32
3-3 Réponses Th1/Th2.....	33
3-4 Le déséquilibre des cytokines et l'expression de l'asthme.....	35
<u>4 Génétique de l'asthme</u>	36
4-1 Etudes familiales.....	36
4-1-1 Etudes de prévalence familiale.....	36
4-1-2 Etudes de ségrégation familiale	36
4-2 Etudes de jumeaux.....	37
4-3 Etudes de liaison (Linkage).....	38
4-4- Etudes d'association.....	42
4-5 Etudes d'association du génome entier « Genome Wide Association Studies ».....	46
4-6 Etudes d'interaction.....	51
4-7 Gènes candidats à l'étude.....	51
4-7-1 Gène d'interleukine-18.....	51

4-7-2 Gène d'interleukine-4.....	54
4-7-3 Gène d'interféron- γ	57

Chapitre II : *Population d'étude et Méthodes*

<u>1 Population d'étude</u>	59
1-1 Groupe des cas.....	59
1-2 Groupe des témoins.....	59
<u>2-Méthodes</u>	59
2-1 Collection des échantillons.....	59
2-2 Extraction de l'ADN génomique.....	60
2-3 Vérification de qualité et quantité d'ADN.....	61
2-3-1 Dosage d'ADN par spectrophotométrie.....	61
2-3-2 Electrophorèse sur gel d'agarose	61
2-4 Génotypage des polymorphisms.....	61
2-4-1 Principe de la PCR.....	62
2-4-2 Principe de la PCR-SSP.....	63
2-4-3 Détection du polymorphisme <i>IL-18</i> (-137G/C).....	64
2-4-4 Détection du polymorphisme <i>IL-18</i> (-607C/A)	66
2-4-5 Détection du polymorphisme <i>IL-4</i> (-590 C/T)	68
2-4-6 Détection du polymorphisme IFN- γ (+874A/T).....	69
2-5- Analyses statistiques	71

Chapitre III : *Résultats*

1 Caractéristiques générales de la population étudiée	73
2 Extraction et vérification de la qualité et la quantité de l'ADN génomique.....	73
3 Association du polymorphisme -137G/C de l' <i>IL-18</i> avec le risque d'asthme.....	73
3-1 Etude de la distribution des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme -137G/C du gène d' <i>IL-18</i> chez les cas d'asthme et les témoins.....	73
3-2 Impact du polymorphisme -137G/C du gène <i>IL-18</i> sur la survenue de l'asthme selon le sexe.....	81
3-3 Impact du polymorphisme -137G/C du gène <i>IL-18</i> sur la survenue de l'asthme selon les antécédents familiaux d'asthme.....	81
3-4 Impact du polymorphisme -137G/C du gène <i>IL-18</i> sur la survenue de l'asthme selon les antécédents personnels allergiques.....	81
4- Association du polymorphisme -607C/A de l' <i>IL-18</i> avec le risque d'asthme.....	84

4-1 Etude de la distribution des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme -607C/A du gène d' <i>IL-18</i> chez les cas d'asthme et les témoins.....	84
4-2 Impact du polymorphisme -607C/A du gène <i>IL-18</i> sur la survenue de l'asthme selon le sexe.....	89
4-3 Impact du polymorphisme -607C/A du gène <i>IL-18</i> sur la survenue de l'asthme selon les antécédents familiaux d'asthme.....	89
4-4 Impact du polymorphisme -607C/A du gène <i>IL-18</i> sur la survenue de l'asthme selon les antécédents personnels allergiques.....	89
5- Association du polymorphisme -590 C/T de l' <i>IL-4</i> avec le risque d'asthme.....	92
5-1 Etude de la distribution des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme -590C/T du gène d' <i>IL-4</i> chez les cas d'asthme et les témoins.....	92
5-2 Impact du polymorphisme -590C/T du gène <i>IL-4</i> sur la survenue de l'asthme selon le sexe.....	97
5-3 Impact du polymorphisme -590C/T du gène <i>IL-4</i> sur la survenue de l'asthme selon les antécédents familiaux d'asthme.....	97
5-4 Impact du polymorphisme -590C/T du gène <i>IL-4</i> sur la survenue de l'asthme selon les antécédents personnels allergiques.....	97
6 Association du polymorphisme +874A/T de l' <i>IFN-γ</i> avec le risque d'asthme.....	100
6-1 Etude de la distribution des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme +874A/T du gène d' <i>IFN-γ</i> chez les cas d'asthme et les témoins.....	100
6-2 Impact du polymorphisme +874 A/T de l' <i>IFN-γ</i> sur la survenue de l'asthme selon le sexe.....	105
6-3 Impact du polymorphisme +874 A/T de l' <i>IFN-γ</i> sur la survenue de l'asthme selon les antécédents familiaux d'asthme.....	105
6-4 Impact du polymorphisme +874 A/T de l' <i>IFN-γ</i> sur la survenue de l'asthme selon les antécédents personnels allergiques.....	105

Chapitre VI :

Discussion générale

Discussion générale.....	108
1- Caractéristiques générales et cliniques de la population étudiée.....	108
2- Le polymorphisme -137G/C du gène d'interleukine-18.....	109
3- Le polymorphisme -607C/A du gène d'interleukine-18.....	114
4- Le polymorphisme -590C/T du gène d'interleukine-4.....	118

5- Le polymorphisme +874 A/T du gène d'interféron- γ	124
Conclusion et Perspectives	130
Références Bibliographiques	133
Annexes	179

Liste des Figures

Figure 1: Coupe schématique d'une bronche d'un patient asthmatique	5
Figure 2 Proportion des patients asthmatiques dans les différentes régions du monde.....	8
Figure 3: Classement des maladies chroniques en Algérie.....	9
Figure 4: Le taux de morbidité ressentie en Algérie selon la cause	9
Figure 5 Cascade inflammatoire dans la maladie d'asthme.....	12
Figure 6 : La polarisation Th1 ou Th2 de la réponse immunitaire	35
Figure 7 : Les principaux locus probablement associés avec l'asthme identifiés par les études d'association du génome entier GWAs.....	50
Figure 8 : Schéma de régulation de IgE par IL-18.....	52
Figure 9 : Représentation schématique d'éléments de contrôle connus dans le promoteur de l' <i>IL-4</i> par rapport au polymorphisme -590 C/T.....	56
Figure 10: Principe de la PCR.....	63
Figure11 : Le principe de la PCR-SSP.....	64
Figure 12: Séquence de la région d'intérêt avec les amorces utilisées pour la détection du polymorphisme <i>IL-18</i> (-137 G/C).....	65
Figure 13 : Séquence de la région d'intérêt avec les amorces utilisées pour la détection du polymorphisme <i>IL-18</i> (-607 C/A).....	67
Figure 14 : Séquence de la région d'intérêt avec les amorces utilisées pour la détection du polymorphisme <i>IL-4</i> (-590 CT).....	68
Figure 15 : Séquence de la région d'intérêt avec les amorces utilisées pour la détection du polymorphisme <i>IFN-γ</i> (+874 A/T).....	70
Figure 16: Figure représentative d'électrophorèse sur gel d'agarose 1,5 % des ADN génomiques.....	75
Figure 17(a,b) : Figure représentative d'électrophorèse sur gel d'agarose 2% des produits de PCR du gène <i>IL-18</i> à la position -137 G / C.....	77
Figure 18: Les fréquences génotypiques du polymorphisme d' <i>IL-18</i> à la position -137 chez les asthmatiques et les témoins.....	79
Figure 19 : Distribution des fréquences alléliques du polymorphisme -137 G/C du gène de l' <i>IL-18</i> chez les asthmatiques et les témoins.....	79
Figure 20 : Distribution des génotypes groupés du polymorphisme -137 G/C du gène de l' <i>IL-18</i> chez les asthmatiques et les témoins.....	80

Figure 21: Figure représentative d'électrophorèse sur gel d'agarose 2% des produits de PCR du gène <i>IL-18</i> à la position -607 C/A.....	85
Figure 22: Les fréquences des génotypes de <i>l'IL-18</i> à la position -607 chez les asthmatiques et les témoins.....	87
Figure 23 : Distribution des fréquences alléliques du polymorphisme -607 C/A du gène de <i>l'IL-18</i> chez les asthmatiques et les témoins.....	87
Figure 24: Distribution des génotypes groupés du polymorphisme -607 C/A du gène de <i>l'IL-18</i> chez les asthmatiques et les témoins.....	88
Figure 25: Figure représentative d'électrophorèse sur gel d'agarose 3% des produits de PCR du gène <i>IL-4</i> à la position -590 C / T.....	93
Figure 26: Les fréquences génotypiques du polymorphisme d' <i>IL-4</i> à la position -590 chez les asthmatiques et les témoins.....	95
Figure 27 : Distribution des fréquences alléliques du polymorphisme -590 C/T du gène de <i>l'IL-4</i> chez les asthmatiques et les témoins.....	95
Figure 28: Distribution des génotypes groupés du polymorphisme -590 C/T du gène de <i>l'IL-4</i> chez les asthmatiques et les témoins.....	96
Figure 29 (a,b) : Figure représentative d'électrophorèse sur gel d'agarose 2% des produits de PCR du gène <i>IFN-γ</i> à la position +874 A / T.....	101
Figure 30: Les fréquences génotypiques du polymorphisme d' <i>IFN-γ</i> à la position +874 chez les asthmatiques et les témoins.....	103
Figure 31 : Distribution des fréquences alléliques du polymorphisme +874 du gène d' <i>IFN-γ</i> chez les asthmatiques et les témoins.....	103
Figure 32: Distribution des génotypes groupés du polymorphisme +874 A/T du gène de <i>l'IFN-γ</i> chez les asthmatiques et les témoins.....	104

Liste des Tableaux

Tableau 1: quelques régions chromosomiques prouvées d'être liées à l'asthme dans les études de liaison.....	41
Tableau 2: les principaux gènes candidats probablement impliqués dans l'asthme.....	44
Tableau 3 : Les GWAs répliquées pour l'association de l'asthme au chromosome 17q21	48
Tableau 4 : Résumé des GWAs présentant les associations les plus significatives avec l'asthme.....	48
Tableau 05: Caractéristiques générales et cliniques de la population étudiée.....	74
Tableau 06: Distribution des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme (– 137 G/C) de <i>l'IL-18</i> dans les groupes d'asthmatiques et des témoins.....	78
Tableau 07 : Distribution alléliques et génotypiques du polymorphisme -137G/C de <i>l'IL-18</i> parmi les hommes et les femmes chez les asthmatiques	82
Tableau 08 : Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme <i>IL-18</i> (-137G/C) chez les cas selon la présence des antécédents familiaux.....	82
Tableau 09 : Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme <i>IL-18</i> (-137G/C) chez les cas selon la présence des antécédents personnels allergiques...	83
Tableau 10: Distribution des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme (– 607 C/A) de <i>l'IL-18</i> dans les groupes d'asthmatiques et des témoins.....	86
Tableau 11 : Distribution alléliques et génotypiques du polymorphisme -607 C/A de <i>l'IL-18</i> parmi les hommes et les femmes chez les asthmatiques et les témoins.....	90
Tableau 12: L'association entre les fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme <i>IL-18</i> (-607C/A) et les antécédents familiaux d'asthme.....	90
Tableau 13 : L'association entre les fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme <i>IL-18</i> (-607C/A) et les antécédents personnels allergiques.....	91
Tableau 14: Distribution des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme (– 590 C/T) de <i>l'IL-4</i> dans les groupes d'asthmatiques et des témoins.....	94
Tableau 15 : Distribution alléliques et génotypiques du polymorphisme -590 C/T de <i>l'IL-4</i> parmi les hommes et les femmes chez les asthmatiques et les témoins.....	98
Tableau 16: L'association entre les fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme <i>IL-4</i> (-590C/T) et les antécédents familiaux d'asthme.....	98
Tableau 17 : L'association entre les fréquences génotypiques et alléliques du	

polymorphisme <i>IL-4</i> (-590C/T) et les antécédents personnels allergiques.....	99
Tableau 18: Distribution des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme (+874A/T) de <i>IFN-γ</i> dans les groupes d'asthmatiques et des témoins.....	102
Tableau 19 : Distribution alléliques et génotypiques du polymorphisme +874 A/T de <i>IFN-γ</i> parmi les hommes et les femmes chez les asthmatiques et les témoins.....	106
Tableau 20: L'association entre les fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme +874 A/T du gène <i>IFN-γ</i> et les antécédents familiaux d'asthme.	106
Tableau 21: L'association entre les fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme <i>IFN-γ</i> (+874A/T) et les antécédents personnels allergiques.....	107
Tableau 22: Distribution allélique du polymorphisme <i>IL-18</i> (-137G/C) dans les différentes populations étudiées (cas/témoins) dans le monde.....	113
Tableau 23 : Distribution allélique du polymorphisme <i>IL-18</i> (-607C/A) dans les différentes populations étudiées dans le monde.....	117
Tableau 24 : Distribution allélique du polymorphisme <i>IL-14</i> (-590C/T) dans les différentes populations étudiées dans le monde.....	122
Tableau 25 : Distribution allélique du polymorphisme <i>IFN-γ</i> (+874A/T) dans les différentes populations étudiées dans le monde.....	128

Liste des Abréviations

ADRA1B : alpha-1B adrenergic receptor.

ADR-β2: Beta 2 adrenergic receptor.

AIR MAG: Asthma Insights and Reality Maghreb.

ASM: Airway Smooth Muscle.

C1orf53: chromosome 1 open reading frame 53.

C14orf180, chromosome 14 open reading frame 180.

CC16: Clara Cell secretory protein.

CCR5: C-C Chemokine receptor 5.

CD: Cluster of Differentiation.

CHRNA2: Cholinergic Receptor Nicotinic Alpha 2.

CMH : complexe majeur d'histocompatibilité

CO : monoxyde de carbone.

CO₂ = dioxyde de carbone.

CPA : Cellule présentatrice d'antigènes.

CRB1 : Crumbs Homologue 1.

CREB : C-AMP response element binding protein.

CTLA-4 : Cytotoxic T lymphocyte antigen-4.

DEM : Débit Expiratoire Maximal.

DNAJC1: DnaJ (Hsp40) homologue, subfamily C, member 1.

DENND1B: DENN/MADD domain containing 1B.

DPP : Inactive dipeptidyl peptidase.

ECRHS : European Community Respiratory Health Survey.

EDTA: Ethylène diamine tetra- acide acétique.

EGF : Epidermal Growth Factor.

ANTXR1: anthrax toxin receptor 1.

ERO1LB: ERO1-like beta.

FGF : Fibroblast Growth Factor.

FcεRI-β : the β chain of the high affinity receptor for IgE.

FCERII : Receptor II For The Fc Region Of Immunoglobulin E.

GATA2: GATA binding protein 2.

GM-CSF : Granulocyte macrophage colony stimulating factor.

GINA: Global Initiative for Asthma.

GSDMB: Gasdermin B.

GSTP1: Glutathione S-Transferase P1.

GWAs: Genome Wide Association Studies.

H4TF-1: Histone H4 gene transcription factor-1.

HLA: Human Leukocyte Antigen.

HLA-DQB1: Human Leukocyte Antigen class II, DQ beta 1.

HNMT: Histamine N-methyltransferase.

HRB: Hyperréactivité bronchique.

IFN: Interferon.

Ig: Immunoglobuline.

IGF : Insulin-Like Growth Factor.

IGIF: interferon- γ inducing factor.

IKZF : IKAROS family zinc finger.

IL: Interleukine.

IL18R1 : Interleukin 18 receptor 1.

IL1RL1: interleukin 1 receptorlike1.

IL2RB: interleukin 2 receptor, beta.

IRF-1: Interferon Regulatory Factor-1.

ISAAC : International Study of Asthma and Allergies in Childhood.

KD: KiloDalton.

LO: Lipoxygenase.

LT- α : Lymphotoxin- α

LTC4: Leucotriène C4.

M: Molaire.

MAGEE1: melanoma antigen family E.

MCG: mast Cell Growth Factor

MCP: Monocyte Chemotactic Protein.

NF-AT1: Nuclear Factor of Activated T Cells.

MIP: Macrophage inflammatory protein.

NaCl: Chlorure de sodium.

NAP: Neutrophil Activating Protein.

Negl : Nuclear factor that supress IL-4 transcription.

NF: Nuclear Factor.

NGF: Nerve Growth Factor

NHLBI : National Heart Lung and Blood Institute

NO : Oxyde nitrique

NO₂ : dioxyde d'azote.

NO_x : oxydes d'azote.

NOS-1 : nitric oxide synthétase 1.

NRE : Negatif regulatory element

NRG1 : neuregulin 1.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

ORMDL3: ORM1-like 3

PAF-AH: Platelet-activating factor acetylhydrolase

Pb : paire de base.

PCR-SSP : Polymerase chain reaction with sequence-specific primers.

PDE4D : Phosphodiesterase 4D.

PDGF : Platelet Derived Growth Factor.

PHF 11 : PHD Finger protein.

ppm: partie par million

PRE: Positive Regulatory Element.

PRKG1 : protein kinase, cGMP-dependent, type I.

PRNP: Prion protein.

PROC: protein C (inactivator of coagulation factors Va and VIIIa).

RANTES: Regulated on Activation Normal T-cell Expressed and Secreted.

RCBTB1: regulator of chromosome condensation (RCC1) and BTB (POZ) domain containing protein 1.

RGO : Reflux Gastro-oesophagien.

RNGTT: RNA guanylyltransferase and 5'-phosphatase.

SCF : Stem Cell Factor.

SETDB2P: Domaine SET Bifurique 2.

SMAD3: SMAD family member 3

SNP : Single Nucleotide Polymorphism.

SH2B3 : SH2B adaptor protein 3

SO₂ : Dioxyde de soufre.

STAT : Transducteur de signal et activateur de transcription.

TBE : Tris-Borate-EDTA

TE : Tris-EDTA.

TCR : récepteur des cellules T.

TGF-β : Transforming growth Factor-β.

Th1: T helper de type 1.

Th2 : T helper de type 2.

TLE4: Transducin Like Enhancer Of Split 4.

TNF : Facteur de Nécrose Tumorale.

VCAM-1 : Vascular cell adhesion molecule-1.

VEMS : Volume expiratoire maximal en une seconde.

VRS : Virus Respiratoire Syncytial.

ZNF618 : Zinc finger protein 618.

ZPBP2 : zona pellucida binding protein 2.

INTRODUCTION

GÉNÉRALE

Introduction

L'asthme, est une pathologie de plus en plus préoccupante dans les pays industrialisés (Yeatts *et al.*, 2006). C'est une maladie inflammatoire chronique des voies respiratoires. Elle entraîne chez les patients ayant une prédisposition, des épisodes récidivants d'essoufflement, d'oppression thoracique et de toux, accompagnés le plus souvent de sifflements particulièrement à l'effort, la nuit et éventuellement le matin. Ces symptômes sont généralement associés à une obstruction bronchique d'intensité variable, réversible spontanément ou sous l'effet de la thérapeutique. Toutes les tranches d'âge sont touchées, mais la maladie se déclare souvent pendant l'enfance. (GINA, 2011).

L'asthme constitue un problème majeur de santé publique, il s'agit d'une des maladies chroniques les plus fréquentes, Selon les données épidémiologiques fournis par l'organisation mondiale de la santé (OMS) en novembre 2013, 235 millions de personnes souffriraient d'asthme dans le monde, et leur nombre est en augmentation. Sa prévalence est en augmentation chez les enfants comme chez les adultes. D'ici à 2025, on estime à 100 millions le nombre de nouveaux asthmatiques dans le monde. La mortalité de l'asthme reste inquiétante avec plus de 250 000 décès par an dans le monde (GINA, 2011).

D'après l'étude AIRMAG (Asthma Insights and Reality in Maghreb) en 2008, la prévalence de l'asthme en Algérie est de 3,1% chez les adultes et de 4,1% chez les enfants, et elle est en constante augmentation (Nafti *et al.*, 2009). L'enquête TAHINA (Transition Health Impact in North Africa) en 2005 sur la population Algérienne, a révélé que les maladies respiratoires occupent le premier motif de consultations et la première place des causes de morbidité et que l'asthme occupe le troisième rang des maladies chroniques après l'HTA et le diabète.

L'asthme et les manifestations allergiques sont typiquement des affections complexes et hétérogènes. Leur origine multifactorielle reflète l'interaction de plusieurs régions génétiques et de facteurs d'environnement, protecteurs, déclenchant ou aggravants la maladie. Plus de 100 d'études d'association génétique ont rapporté plus de 500 locus lié à l'asthme tout au long du génome humain. De nombreuses études d'association ont trouvé une association entre certains gènes et l'asthme (Hakonarson *et al.*, 2001). Au moins cinq chromosomes dans le génome humain (chromosomes 5,6,11,12 et 13) contiennent des gènes prouvés d'être associés

à l'asthme, mais aussi y'a d'autres dans les chromosomes 2,7,14,19,17 et 21 qui ont une association avec cette maladie (Renaulds, 2001).

L'asthme est une maladie inflammatoire dans la physiopathologie est complexe et l'étiologie est mal connue. Un des progrès de ces dernières décennies est la découverte des cytokines qui jouent un rôle majeur dans le maintien et l'amplification de la réponse inflammatoire dans l'asthme. Les cytokines sont des glycoprotéines solubles agissant comme des médiateurs intercellulaires. Elles interviennent dans les mécanismes de l'inflammation et de l'immunité. Le type des cytokines dominant dans une association avec une maladie indique le type de réponse immunitaire généré par l'hôte. Les maladies atopiques sont associées avec la dominance des cytokines de type Th2 (IL-4, IL-5, IL-9, IL-13.) (Renaulds, 2001). Par contre la réponse de types Th1 (caractérisé par un taux élevé de IFN γ , TNF- α , IL-2, IL-12) est associée à une faible susceptibilité de provoquer l'asthme et d'autres atopies (Wild *et al.*, 2002). Les cytokines ont un rôle crucial dans la balance des réponses immunitaires de type 1 et 2. Ces cytokines sont associées avec les maladies atopiques comme l'asthme, et le taux élevé d'IgE (Imboden *et al.*, 2006). Les gènes des cytokines ont été montrés pour être très polymorphes (Keen, 2002). Plusieurs études ont rapporté des polymorphismes dans les gènes des cytokines qui semblent être associées à des niveaux altérés d'expression de cytokines ce qui augmentent la susceptibilité de plusieurs maladies dont l'asthme (Ross *et al.*, 2003). C'est dans l'optique d'une contribution modeste à ces études que nous avons envisagé ce présent travail.

De ce fait cette présente étude de type cas-témoin consistera à explorer une éventuelle association entre des polymorphismes de type SNP de certains gènes de cytokines : -137 G/C et -607C/A du gène IL-18 et -590C/T du gène IL-4 et +874 du gène IFN- γ avec l'asthme dans une population de l'ouest Algérien. Ainsi, que leur association avec trois facteurs de risques de l'asthme (sexe, antécédents familiaux d'asthme et antécédents personnels allergiques).

Ce travail est organisé en cinq parties :

La première partie de ce manuscrit est, une partie théorique s'articule autour de 4 chapitres. Le premier d'entre eux expose quelques généralités sur la physiopathologie et l'épidémiologie de l'asthme. Le second chapitre évoque les différents facteurs de risques environnementaux et prédisposants de cette maladie. Le troisième chapitre décrit le rôle des

cytokines dans la maladie asthmatique. Enfin, le dernier chapitre expose la génétique de l'asthme ainsi que différentes approches génétiques utilisées pour l'étude de cette maladie.

La deuxième partie c'est une partie expérimentale qui consiste à évaluer la distribution des fréquences alléliques, génotypiques des polymorphismes étudiés et d'estimer l'impact de ces derniers sur le risque de la survenue de l'asthme chez la population des cas. La partie suivante est consacrée aux résultats, une discussion des résultats obtenues et enfin, une dernière partie comprend une conclusion générale et des perspectives.

REVUE

BIBLIOGRAPHIQUE

1- DEFINITION ET GENERALITES

1-1-Définition de l'Asthme

C'est une maladie inflammatoire chronique des voies aériennes dont la définition reste symptomatique et descriptive. Les changements dans la définition de cette maladie au cours des dernières décennies, sont le résultat de l'évolution des connaissances, notamment physiopathologiques. En 1975, des experts de l'OMS ont donné la définition suivante:

«L'asthme, est une affection chronique caractérisée par un bronchospasme récidivant résultant de la tendance à répondre par la diminution de calibre des voies aériennes à des stimuli d'intensité ou de niveau n'entraînant pas une telle diminution chez des sujets normaux» (**Hargreave et al., 1982**). Plus récemment, en 1990, un groupe d'experts de la société de pneumologie de langue française, définit l'asthme comme «une dyspnée paroxystique, survenant souvent la nuit, réversible soit spontanément ou sous l'effet des traitements et causée par une obstruction bronchique secondaire à des mécanismes immunologiques ou autres. Une caractéristique du syndrome est l'hyperréactivité bronchique à une variété d'agonistes» (**Bignon et al, 1990**). Actuellement, l'asthme est défini comme «un désordre inflammatoire chronique des voies respiratoires dans lequel sont impliqués plusieurs types cellulaires et leurs médiateurs. L'inflammation chronique est associée à une hyperréactivité des voies respiratoires qui entraîne des épisodes récurrents de respiration sifflante, de dyspnée, de sensation d'oppression thoracique et/ou de toux particulièrement pendant la nuit ou au petit matin. Ces épisodes sont souvent associés à une obstruction extensive de degré variable, souvent réversible spontanément ou sous l'effet d'un traitement» (**GINA, 2010**).

L'aspect pathologique dominant de la maladie est l'inflammation des voies respiratoires associée de façon variable au changement de structure de ces dernières, responsable essentiellement des conséquences fonctionnelles observées dans l'asthme. Les principales caractéristiques physiologiques d'une branche enflammée, si on la compare à une branche normale, sont facilement identifiables: desquamation de l'épithélium bronchique, des vaisseaux sanguins dilatés, infiltration de la muqueuse par des cellules inflammatoires telles que les éosinophiles, les neutrophiles et les lymphocytes activés, œdème de la muqueuse, déposition de collagène au niveau de la membrane basale et épaissement de la membrane basale, hyperplasie des myofibroblastes, des fibroblastes et des cellules caliciformes dans

certains cas sévères, une hypertrophie des glandes à mucus et des fibres musculaires (**Boulet et al, 1997**) (**Figure 1**).

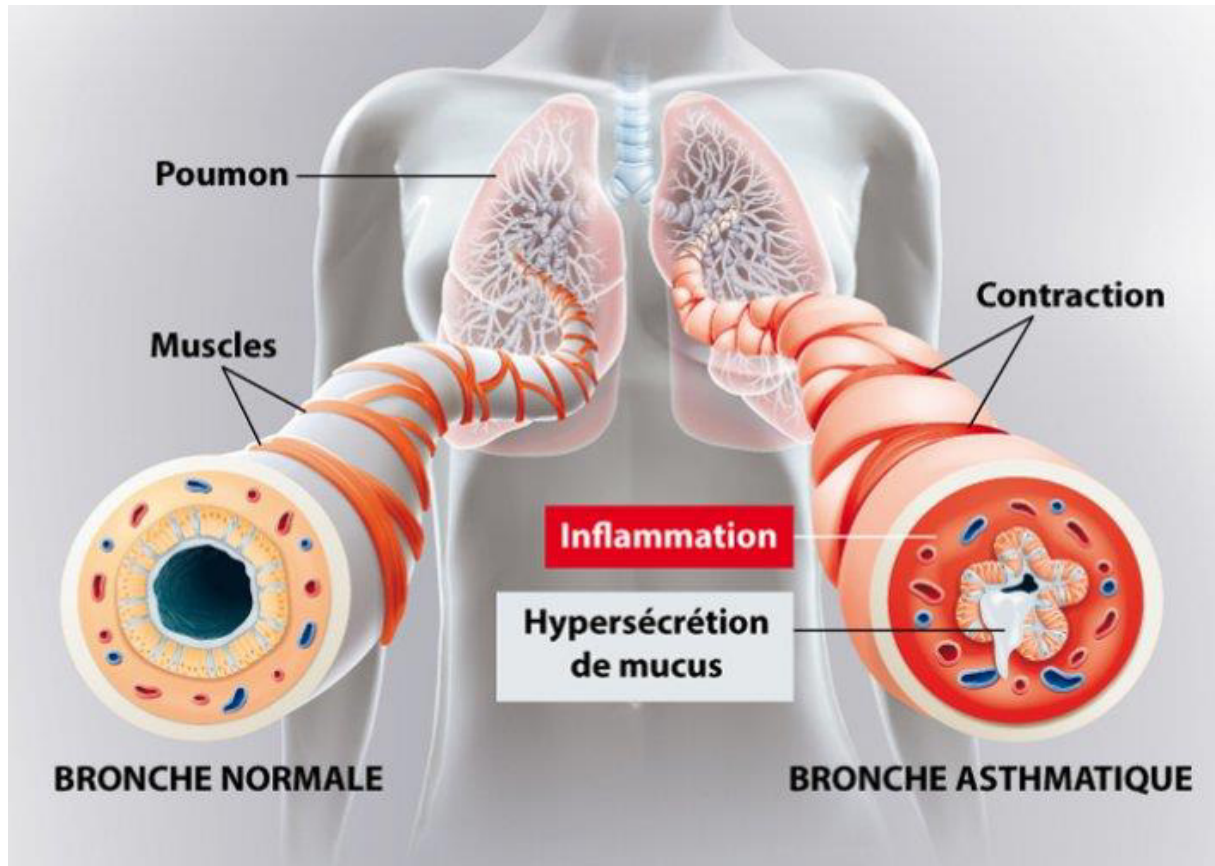


Figure 1: comparaison entre une branche normale et une enflammée

(http://ramsaygds.fr/sites/default/files/styles/article_header_desktop/public/pneumo-asthme.jpg?itok=L5cDD4G5 consulté le : 17/11/2018).

1-2- Impact socio-économique

1-2-1 Impact économique

L'asthme est l'une des maladies les plus coûteuses dans les pays développés. Par exemple aux Etats-Unis, le coût des affections des voies respiratoires était estimé à 6.2 milliards de dollars en 1990 contre un milliard de dollars en 1975. En Angleterre, l'asthme était responsable d'une perte de 1135 millions d'euros répartis en 1015 millions d'euros à cause de la diminution de la productivité et 120 millions d'euros directement liés au système de soins (To *et al.*, 2012). En Europe, pour les exacerbations d'asthme, les coûts variaient de 580 à 3809 euros selon que l'on se situait dans les pays de l'Est ou l'Ouest de l'Europe soins (Van Schayck *et al.*, 2000). Le coût pour la société peut se diviser en coûts directs, indirects et coûts intangibles, associés aux aspects psychosociaux de l'asthme. Les coûts directs comprennent les hospitalisations, les traitements en salles d'urgence, les consultations médicales, les frais de laboratoires, les médicaments et les autres thérapeutiques, représentent 35-60 % des dépenses. Les coûts indirects résultent des pertes financières non médicales dues à la maladie: absentéisme scolaire et professionnel, perte de productivité au travail, invalidité et décès (To *et al.*, 2012).

1-2-2 Impact social

La qualité de vie des enfants asthmatiques symptomatiques est altérée, qu'il s'agisse de l'activité scolaire, de la pratique du sport et des loisirs, des relations familiales. La mesure la plus précise de l'impact social de l'asthme chez l'enfant, est vraisemblablement l'absentéisme scolaire dont l'asthme est l'une des principales causes, entraînant jusqu'à 25% de l'absentéisme scolaire dans certains pays. Les enfants asthmatiques ont aussi des difficultés à s'adapter au milieu scolaire, à suivre l'enseignement et à communiquer. Chez l'adulte, le retentissement de l'asthme sur la qualité de vie et les performances socioprofessionnelles n'est pas moins important. Les jours d'absence au travail par semestre à cause de l'affection, du degré du handicap, sont directement proportionnels à la sévérité de l'asthme (Dockrell *et al.*, 2007).

1-3- Epidémiologie

1-3-1- Prévalence de l'asthme

1-3-1-1- Dans le monde

La prévalence d'une maladie correspond au pourcentage d'individus atteints de cette maladie au sein d'une population. L'asthme constitue dans le monde entier l'une des pathologies chroniques les plus fréquentes et sa fréquence varie considérablement selon les pays et il est difficile de déterminer avec précision le nombre d'asthmatiques dans le monde entier (**Figure 2**). Le GINA (Global Initiative for Asthma) et l'OMS estiment que l'asthme atteint environ 300 millions de personnes dans le monde et que sa fréquence augmente régulièrement depuis 40 ans (**Bourdin, 2006 ; Pearce *et al.*, 2007**).

La prévalence de l'asthme a été estimée à travers les années par différentes études épidémiologiques. Deux vastes études internationales multicentriques ont été mises en place dans les années 90 qui ont permis de situer la prévalence de l'asthme chez l'enfant et l'adulte avec analyse des tendances évolutives de la maladie. L'étude ISAAC (International Study of Asthma and Allergies in Childhood), débutée en 1991, représente une étude coopérative multicentrique étudiant l'épidémiologie de l'asthme à l'échelle mondiale et avec mobilisation et participation de 314 centres, 106 pays, avec près de deux millions d'enfants. L'objectif général de l'étude a été, d'impliquer un grand nombre de centres dans le monde entier afin de dresser une cartographie de la prévalence mondiale de la maladie d'asthme et de comparer les données d'un pays à l'autre (**Asher *et al.*, 1995**). Les prévalences les plus fortes, apparaissent dans les pays anglo-saxons, en Grande-Bretagne, Nouvelle Zélande, Australie, Irlande, Canada, Etats-Unis où la prévalence peut aller jusqu'à 20% voire plus (**Chapin *et al.*, 1998**). En France, les résultats de cette enquête indiquent une prévalence de l'asthme comprise entre 7 et 15% (**Raherison *et al.*, 1997**). Selon la même étude, la prévalence de l'asthme dans les pays du Maghreb est de 4,15 au Maroc, 15,4 en Tunisie et 8,7 en Algérie (**ISAAC, 1998**).

L'étude ECRHS (European Community Respiratory Health Survey), il s'agit d'une étude multicentrique qui a été réalisée dans 48 centres répartis dans 22 pays. Cette étude concernait 18 000 adultes âgés entre 20 et 40 ans. Selon cette enquête, les prévalences de l'asthme étaient particulièrement élevées dans les pays anglophones et plus basses dans les pays méditerranéens et en Europe de l'Est. Par ailleurs, le niveau de prévalence décroissait selon un gradient Nord-sud et, surtout, Ouest-est (**ECRHS, 1996**).

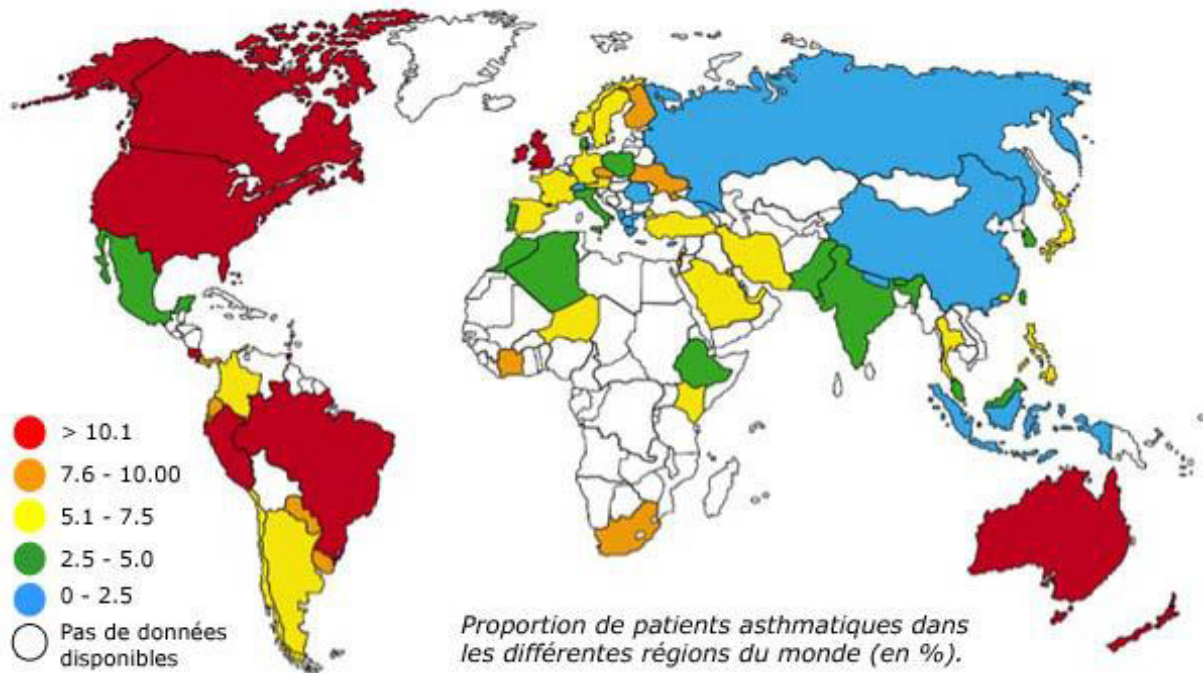


Figure 2 : Proportion des patients asthmatiques dans les différentes régions du monde (GINA, 2006).

1-3-1-2- En Algérie

La première enquête sur l'épidémiologie de l'asthme en Algérie, a été menée en 1985, concernant une population âgée de 12 à 70 ans, a retrouvé une prévalence de l'asthme de 0,44 % au Sahara (**Guermaz *et al.*, 1985**). Les autres enquêtes effectuées en Algérie entre 1986 et 1992, (**Belhocine *et al.*, 1991**; **Moumeni *et al.*, 1995**), situent cette prévalence entre 1,91 % et 3,4 % en fonction des populations étudiées. L'enquête TAHINA menée en 2005, a montré que les maladies respiratoires occupent la 1^{ère} place des causes de morbidité (25,23%) (**Figure 3**), et la 1^{ère} cause des motifs de consultations et que l'asthme occupe le 3^{ème} rang de maladies chroniques après l'HTA et le diabète (**Figure 4**).

En 2008, la prévalence de l'asthme en Algérie, a été évaluée au cours de l'étude AIRMAG, il est de 3,4% chez les adultes et 4,1% chez les enfants et le niveau de contrôle de la maladie est de 24% chez les patients adultes et de 31,6% chez les enfants (Nafti *et al.*, 2009).

Fig.23 : Pathologie chronique dans le ménage selon la cause

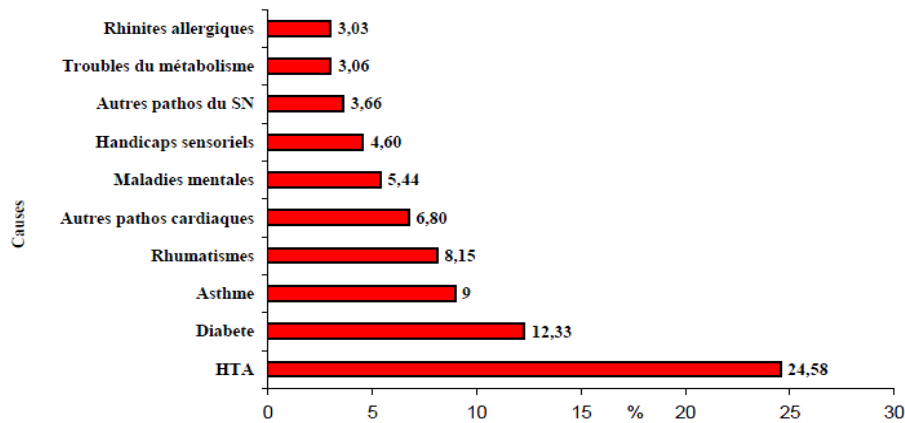


Figure 3: Classement des maladies chroniques en Algérie (TAHINA, 2005).

Fig.6: Morbidité ressentie selon la cause (globale)

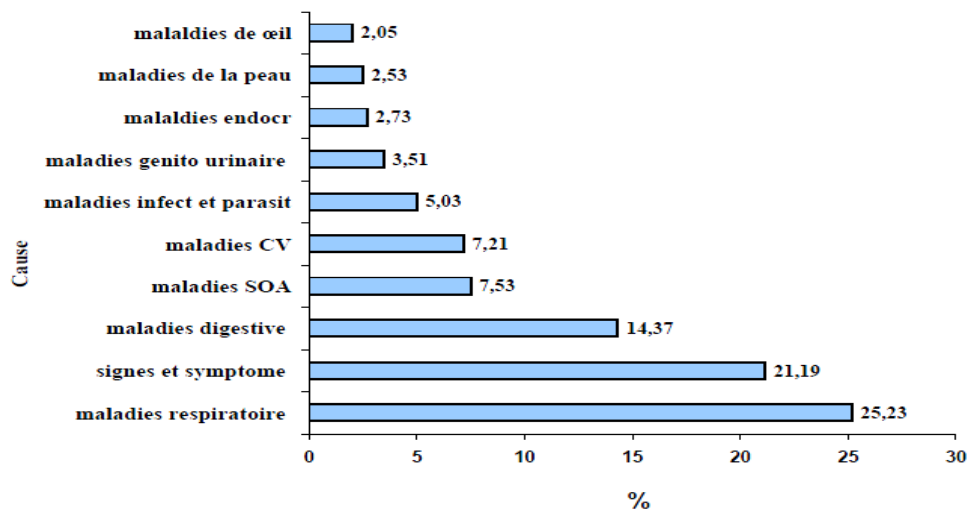


Figure 4: Le taux de morbidité ressentie en Algérie selon la cause (TAHINA, 2005).

1-3-2- Mortalité

L'asthme dans les cas les plus sévères, peut être fatal pour l'individu. Dans le monde, on estime à 250 000 par an le nombre de décès dus à l'asthme. Les données internationales sur la mortalité associée à l'asthme, sont limitées en raison du peu de pays participants et sont rarement disponibles pour différentes populations à l'intérieur d'un même pays (**GINA, 2011**). Les observations montrent toutefois une hausse qui tend à se stabiliser dans les pays industrialisés. Les taux de mortalité selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), variaient de 1,6 décès pour 100 000 personnes au Canada à 36,7 décès pour 100 000 personnes en Chine (**Pearce et al, 2007**). L'Allemagne présente 9 décès pour 100 000 habitants suivie par un ordre décroissant de la France (6,5 décès) et de l'Angleterre (3,2 décès). Les Pays-Bas, les Etats-Unis et Hong-Kong, présentent un taux inférieur à 2% (**Adel et al., 1998**). Les études montrent que le taux de mortalité bas dans ces derniers pays en cause de la prévention, l'évaluation et le traitement sont plus adéquats et diminuent la plupart des décès liés à cette maladie (**Beasley, 2002**). Trois facteurs affectent ces statistiques: les déclarations faussement négatives ou positives, le taux vrai de mortalité par asthme et le changement périodique au niveau de la classification et la codification de l'asthme (**Sears, 1991**).

Bien que la prévalence de l'asthme ait augmenté depuis les années 60 d'au moins 50 % par décennie quel que soit le pays, il est à noter que la mortalité et la morbidité, malgré la hausse importante qu'elles ont connue, tendent à diminuer dans les pays où l'on applique des recommandations thérapeutiques établies à partir de consensus d'experts (**GINA, 2011**).

En Algérie, l'asthme représente 3,3% des causes de décès parmi les maladies respiratoires, il entraîne 1 000 décès par an, vient en troisième position après l'hypertension artérielle et le diabète (**TAHINA, 2005**)

1-4 Physiopathologie de l'asthme

L'asthme est une maladie inflammatoire du système respiratoire qui cause le rétrécissement des voies respiratoires, hypersécrétion de mucus et une hyperréactivité du muscle lisse des parois des bronchioles aux différents stimulants (**Foley, 2002**). L'inflammation des bronches serait à la base des symptômes associés à l'asthme. Elle met en jeu l'ensemble des cellules structurales et immunitaires de l'arbre bronchique en particulier les cellules épithéliales, les fibroblastes, les mastocytes, les éosinophiles et les lymphocytes (**Bousquet et al., 2000**). Les cellules immunitaires sont recrutées de la circulation sanguine

vers le foyer d'inflammation par des cytokines, des chimiokines et des molécules d'adhérence sécrétées par le tissu touché. Ces médiateurs activent les cellules inflammatoires et diminuent leur apoptose, ce qui fait qu'elles persistent au foyer d'inflammation et libèrent de nombreux médiateurs (leucotriènes, histamine, facteurs nécrosant des tumeurs) et des cytokines pro-inflammatoires comme les interleukines IL-4 et IL-13 par exemple (**Bousquet *et al.*, 2000**).

La majorité des données documentées, relatives à la pathogénèse de l'asthme, se sont concentrées sur l'asthme allergique puisqu'il est reconnu que l'exposition à des allergènes communs, peut provoquer chez les sujets sensibilisés, l'apparition d'un asthme bronchique symptomatique. La réaction allergique est considérée comme une manifestation exagérée ou inappropriée d'un mécanisme de défense de l'organisme contre les agressions extérieures (**Dubé et Boulet, 1996**). Cette réponse des voies aériennes à un allergène inhalé, comporte deux phases:

- La phase précoce caractérisée par la survenue rapide d'une broncho-constriction qui est maximale 15 à 20 minutes après l'inhalation de l'allergène la première étape dans cette phase est l'entrée de l'antigène dans les cellules immunitaires telles que les cellules présentatrices d'antigènes (CPAs) et les cellules dendritiques, elles prennent les protéines étrangères qui servent comme des antigènes puis les hydrolysent en petits polypeptides et les présentent à leurs surfaces par l'intermédiaire de CMH de classe II (**Lilly, 2005**) qui vont être reconnues par le TCR (récepteurs des cellules T) des cellules T CD4⁺ auxiliaires (**Marone, 1998**). L'expression locale de cytokines peut avoir des effets profonds sur la réponse des lymphocytes T à la présentation des antigènes dans un processus dénommé déviation immunitaire. Dans la présence de l'IL-12, ces cellules produisent IFN- γ et IL-2 ce qui donne le phénotype Th1. Sous l'influence de l'IL-4, IL-5 et IL-10, ces cellules se différencient et prennent le phénotype Th2 qui semble être impliqué pour l'expression du phénotype de l'asthme. C'est la capacité d'IgE à se lier spécifiquement aux allergènes et aux récepteurs sur les cellules effectrices de la réponse allergique, y compris les basophiles, mastocytes et les éosinophiles qui permet la libération des médiateurs qui provoquent des symptômes d'asthme (**Marone, 1998**). La dégranulation des mastocytes, conséquence de la présence d'IgE, entraîne le relargage d'histamine, de leucotriènes et de cytokines. Ces molécules sont responsables de la perméabilité vasculaire, de la contraction des muscles lisses et de la production de mucus (**Holgate et Polosa, 2008**).

- La phase tardive débute 4 à 6 après l'inhalation antigénique, dans cette phase, les cytokines produites par les mastocytes, permettent le recrutement des autres cellules inflammatoires: les éosinophiles et les lymphocytes Th2. Les éosinophiles sécrètent des

médiateurs pro-inflammatoires, plus particulièrement, des leucotriènes, des protéines basiques (protéines cationiques, peroxydase, protéine basique majeure et neurotoxine) et d'IL-3, d'IL-5 et d'IL-13 responsables de l'inflammation chronique (Holgate et Polosa, 2008). La figure 05 résume la cascade inflammatoire survenant dans l'asthme.

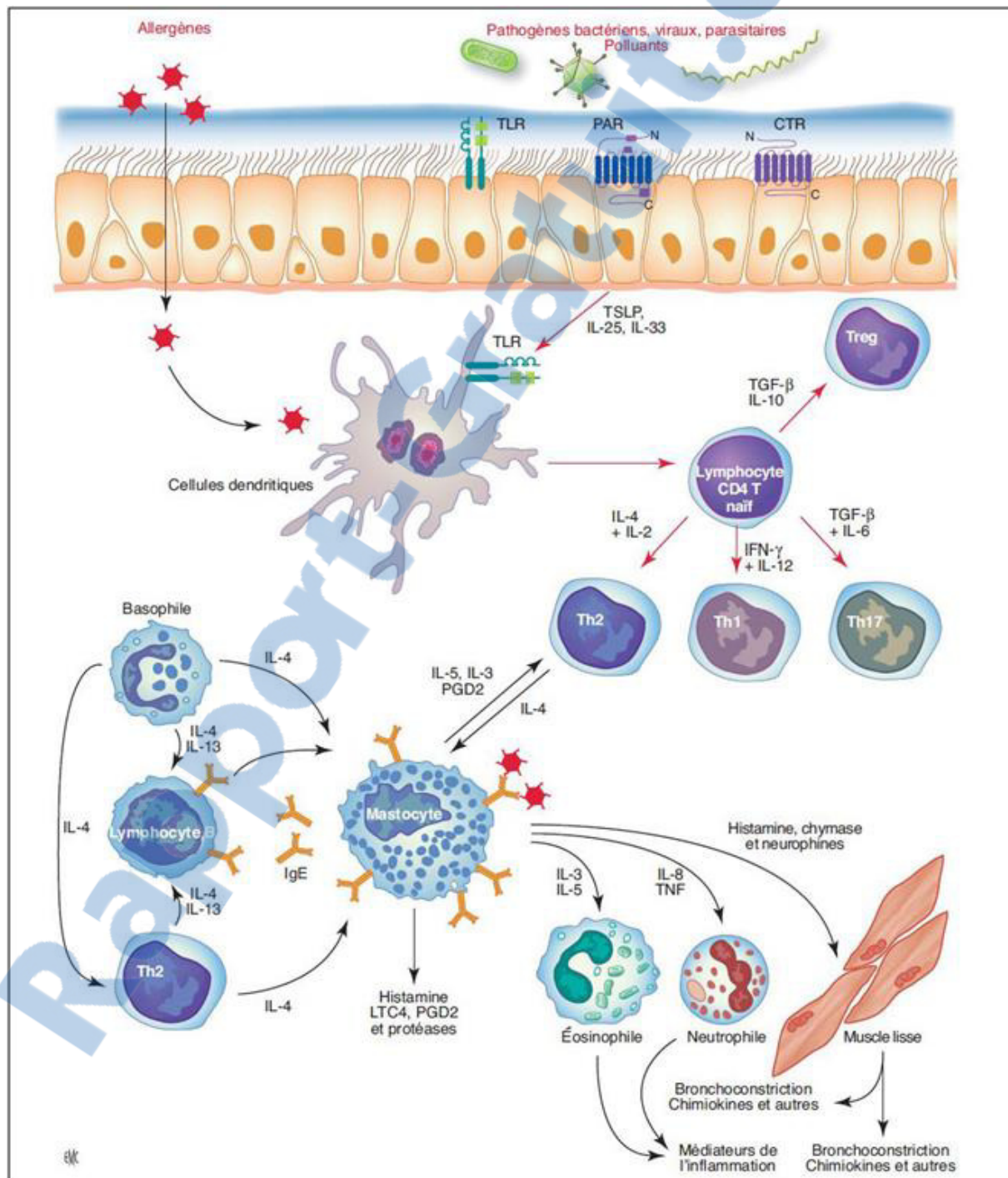


Figure 05: Cascade inflammatoire dans la maladie d'asthme (Létuvé et Taillé, 2013)

2-FACTEURS DE RISQUES DE L'ASTHME

L'asthme est une pathologie complexe, clairement multifactorielle. Elle implique l'interaction de plusieurs facteurs de risque (**Maddox et Schwartz, 2002**) comme les facteurs internes (liés à l'hôte) qui prédisposent les individus ou les protègent du développement de l'asthme et les facteurs externes (environnementaux) qui influencent la susceptibilité à l'asthme chez les individus prédisposés, précipitent ses exacerbations et/ou causent la persistance des symptômes (**GINA, 2003**).

2-1 Facteurs environnementaux

Il est souvent difficile de distinguer le rôle exact de ces facteurs dans l'histoire de la maladie. Un même facteur de risque environnemental peut en effet, jouer le rôle d'agent causal avant le développement de la maladie, puis d'agent déclencheur de crises ou de persistance des symptômes lorsque la maladie est développée (**Wenzel, 2003**).

2-1-1 Les Allergènes

Les allergènes sont des antigènes particuliers susceptibles de déclencher des réponses immunes médiées par les IgE et, de ce fait, d'être responsables des symptômes cliniques des sujets allergiques (**Demoly et al., 2005**). Elles peuvent être différenciées suivant leur mode de pénétration : inhalation, ingestion et contact. L'exposition à un allergène est un facteur de risque important du développement d'une sensibilisation atopique à cet allergène spécifique (Von Mutius, 2000), et l'exposition à des allergènes chez des individus ayant déjà développé une sensibilisation à ces allergènes, est un facteur de risque de l'aggravation de l'asthme et/ou de la persistance des symptômes (**Pearce et al., 1999**).

2-1-1-1 Les pneumallergènes

Les pneumallergènes ou (aéro-allergènes), sont subdivisés en fonction de leur localisation préférentielle, soit en allergènes de l'intérieur des maisons « indoor allergens », soit en allergènes de l'extérieur des maisons « outdoor allergens ». Ils regroupent les acariens, le pollen, les moisissures, les animaux domestiques et les blattes. Cependant, des allergènes tels que les moisissures ou pollen, peuvent se trouver aussi bien à l'intérieur qu'à l'extérieur.

2-1-1-1-1 Les allergènes de l'intérieur des maisons (allergènes d'habitats)

De nos jours, la quantité des allergènes au niveau de l'habitat a fortement augmenté surtout dans les pays industrialisés à cause de l'augmentation de l'humidité relative, du confinement des animaux familiers, de la meilleure isolation de l'habitat liée aux économies d'énergie (avec des moquettes ou tapis par exemple), du système de chauffage. Ceci, renforce la captation et la concentration des polluants et favorise la prolifération de toute une série d'organismes comme les acariens, cafards, autres insectes, champignons, bactéries.

- **Les acariens**

Les acariens sont des arthropodes microscopiques qui appartiennent à la famille de Pyroglyphidae se nourrissent de squames humaines. L'humidité et la température chaude favorisent leur développement. Le site de leur prolifération est essentiellement la literie (matelas, oreillers, couvertures et coussins). Plusieurs études réalisées dans différents pays, ont montré que les acariens associés à la poussière, étaient les allergènes d'intérieur les plus couramment associés à l'asthme. Cependant, une exposition précoce à ce type d'allergène constitue un facteur de risque du développement de la sensibilisation à l'allergène mais pas nécessairement au développement de l'asthme (Lau *et al.*, 2000). Ils peuvent provoquer des manifestations cutanées (eczéma). La protéine allergisante se trouve dans leurs éjections. Une concentration d'allergènes d'acariens au-dessus de 0,5µg/g de poussière, semble être un facteur de risque significatif pour le développement d'une allergie aux acariens. Mais en ce qui concerne l'asthme, un niveau seuil similaire n'a pas été clairement défini (Dreborg, 1998).

Parmi les acariens les plus connus, il y a le *Dermatophagoides pteronyssinus* et le *Dermatophagoides farinae* (reconnus par plus de 80% des sujets allergiques aux acariens) (Dutau, 2006).

- **Les allergènes des animaux domestiques**

Les animaux domestiques à poils et à plumes, mais essentiellement le chat, émettent également des allergènes dans les sécrétions comme la salive, les excréments (urine), les desquamations (Carayol *et al.*, 2000).

Les allergènes de chats par exemple (constitués de protéines contenues dans les poils, la salive, les sécrétions sébacées, l'urine), sont des puissants sensibilisants des voies respiratoires. Ces allergènes sont transportés par des particules de 3 à 4 microns de diamètre,

devenant ainsi parfaitement aériens. Ils sont responsables de la survenue rapide de symptômes respiratoires chez une personne allergique qui pénètre dans un endroit où il y a un chat. Néanmoins, des endroits sans chats, peuvent contenir une quantité suffisante d'allergènes pour provoquer des symptômes chez les personnes particulièrement sensibles: les vêtements d'individus possédant un chat ou un autre animal domestique, constituent un moyen de transport passif des allergènes (**Partti-Pellinen et al., 2000**).

L'exposition précoce aux allergènes de chats semble diminuer le risque de développer l'asthme chez un enfant (**Platts-Mills et al., 2001**). Cependant, ces allergènes peuvent également constituer un facteur de risque important de l'aggravation de l'asthme et d'urgence respiratoire.

Il faut souligner la part croissante liée à d'autres animaux domestiques qui sont le lapin et le hamster. Les phanères du cheval peuvent également être en cause (**Perrin, 1998**).

- **Les moisissures**

Le rôle de moisissures en tant que pneumallergènes est connu depuis longtemps (**Zaegel et al., 1990**). Elles sont de minuscules champignons unicellulaires et filamenteux. Pour proliférer, elles ont besoin de nourriture, d'humidité et d'une température optimale qui peut varier d'une espèce à l'autre. Elles se reproduisent par des spores, ces dernières, sont très irritantes pour les voies aériennes supérieures. Lorsqu'elles sont inhalées, elles peuvent provoquer des irritations des yeux, du nez, de la gorge et entraîner des manifestations allergiques: toux, respiration sifflante, larmoiements etc. Les moisissures peuvent aussi aggraver l'asthme et augmenter le risque d'asthme à l'âge adulte. Elles sont également associées à une fréquence plus élevée d'infections respiratoires et à une altération de la fonction pulmonaire (**Brunekreef et al., 1989**).

Selon l'étude européenne ECHRS II (European Community Respiratory Health Survey), le risque de développer un asthme est augmenté de manière significative chez les personnes exposées à des problèmes d'humidité dans leur habitat (**Zureik et al., 2002**). Une autre étude a confirmé le risque accru de présenter un asthme chez les enfants exposés à des moisissures dans leur maison, et plus particulièrement chez ceux vivants en milieu rural (**Halonen et al., 1997**).

La chaleur et l'humidité relative élevées (au moins 75% d'humidité relative), propres aux habitations peu ventilées, le manque de lumière, favorisent la croissance des moisissures. Ils se développent bien dans les systèmes de réfrigération et d'humidification de l'air et les

systèmes de chauffage. Les allergènes les plus connus sont *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium ssp.*, *Cladosporium ssp.* et *Candida ssp* (Black *et al.*, 2000).

- **Les blattes**

Parce qu'aujourd'hui elles se trouvent partout et sont hautement allergisantes, les blattes sont maintenant reconnues comme une importante source d'allergènes affectant la qualité de l'air intérieur (Rosenstreich *et al.*, 1997). Ils se trouvent dans les vieux appartements, dans les immeubles neufs au niveau des gaines de protection ou des vides ordures; l'humidité favorise leur développement. Le statut socio-économique semble être une variable importante comme déterminant du risque de sensibilisation aux allergènes des blattes, particulièrement chez les enfants (Lévesque *et al.*, 2003). Les habitants des quartiers pauvres des villes semblent en effet plus affectés par les problèmes respiratoires reliés à la présence des blattes (Sperber *et al.*, 1993; Rosenstreich *et al.*, 1997).

2-1-1-2 Les allergènes de l'extérieur des maisons

Les allergènes les plus communs et qui peuvent conduire à l'asthme chez les personnes prédisposées, sont les pollens et les spores des moisissures. Parmi les moisissures d'extérieur, l'*Alternaria alternata*, est un facteur de risque établi de l'asthme dans différentes populations. Cette moisissure a également été associée au risque de décès dû à l'asthme aux Etats-Unis (O'Hollaren *et al.*, 1991).

- **Les pollens**

Cellules sexuées mâles du règne végétal, sont très souvent en cause dans les allergies de type immédiat. Selon leur mode de transport, on distingue les pollens anémophiles et entomophiles. Les premiers de forme très aérodynamique et transportés par le vent, sont les plus dangereux car, ils sont émis en grande quantité, déplacés sur de longues distances depuis leur émission, et apportés par le vent au contact des muqueuses respiratoires. (Demoly *et al.*, 2005). Ce type d'allergène est responsable de l'apparition de l'asthme printanier, les pollens varient avec la géographie, la température et le climat. Pour une même région, la concentration de tels ou tels pollens, varie d'une année à une autre, aussi bien pour le début de la saison pollinique que pour la fin (Sabah, 1994).

Les allergènes de pollen associés à l'asthme, proviennent d'arbres tels que les oliviers, les cyprès, les noisetiers, de plantes graminées, d'herbes mauvaises...

Il semble que les plantations trop uniformes et massives ainsi que l'introduction d'espèces diffusant des pollens très allergéniques, comme les bouleaux, aient augmenté les risques d'allergie pollinique. Les experts de l'OMS sont convaincus que le prolongement de la saison pollinique (en moyenne, sa durée a augmenté de 10 à 11 jours au cours des trente dernières années dans de nombreuses zones d'Europe), suite aux changements climatiques, semble également affecter la prévalence de l'asthme et des allergies chez les enfants. Cependant, comme pour la plupart des autres allergènes, l'exposition au pollen est un facteur de risque à l'exacerbation de l'asthme et au développement de rhume des foins, mais n'est pas un facteur de risque significatif du développement de l'asthme (**Charpin *et al.*, 1993**).

2-1-1-2 Les allergènes alimentaires et médicamenteux

Les allergènes alimentaires et médicamenteux, peuvent déclencher des symptômes d'asthme suite à une ingestion, un contact ou une inhalation. L'asthme par allergie alimentaire et/ou médicamenteuse, est peu fréquent, par contre cette allergie peut être un facteur aggravant de l'asthme (**Sampson, 1996**).

L'allergie alimentaire est plus fréquente chez l'enfant que chez l'adulte, et concerne 8,5% des enfants d'âge préscolaire. L'allergie alimentaire chez le jeune enfant, de même que la simple sensibilisation alimentaire, constituent un facteur de risque majeur pour le développement ultérieur de la rhinite et /ou de l'asthme (**Zeiger, 1995**). La sensibilisation aux allergènes alimentaires apparaît en premier, suivie par une sensibilisation aux allergènes inhalés, qui est un facteur favorisant le développement ultérieur de l'asthme. L'asthme et les allergies alimentaires, sont étroitement liés, surtout chez les enfants. La maladie asthmatique est l'un des principaux facteurs de risque d'anaphylaxie sévère et de mortalité d'une allergie alimentaire. Inversement, l'allergie alimentaire représente un important facteur de risque de l'asthme aigu grave, capable de mettre la vie, surtout celle des jeunes enfants et adolescents en danger (**Sampson, 1996**).

L'aspirine, tout comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens, est un inhibiteur de la cyclo-oxygénase et peut révéler ou aggraver un déséquilibre du métabolisme de l'acide arachidonique. L'hypersensibilité à l'aspirine, affecte 5 à 10 % des asthmes de l'adulte, avec une nette prédominance féminine et des antécédents familiaux peu fréquents (**Szczeklik *et al.*, 2000**) D'autres médicaments doivent être connus pour leur effet broncho-constricteur, il s'agit principalement des bêtabloquants, qui sont contre indiqués chez l'asthmatique. Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine sont plus souvent responsables d'une toux et

plus rarement à l'origine d'un bronchospasme ou d'un asthme (**Bouland et Jonckheer, 2008**).

Les colorants et conservateurs alimentaires et médicamenteux comme par exemple les sulfites qui sont des agents antioxydants, sont asthmogènes. Moins de 4 % des asthmatiques sont sensibles aux sulfites. Cependant, la prévalence augmente chez les patients cortico-dépendants. L'ingestion ou l'inhalation de ces produits peut causer des crises sévères. Les autres colorants et conservateurs alimentaires ou médicamenteux, dont la tartrazine, sont beaucoup moins en cause dans l'asthme (**Stevenson et al., 1986**).

2-1-2 Tabac

La fumée de tabac, source omniprésente d'irritants à l'intérieur des bâtiments, produit un mélange complexe de gaz, de vapeurs et de particules. Plus de 4.500 composants ont été identifiés, parmi lesquels on peut citer les particules respirables, des hydrocarbures polycycliques, benzène, CO, CO₂, NO₂, NO_x, nicotine, acroléine, (**NHLBI, 2002**).

Le tabagisme (actif ou passif), a clairement été impliqué dans la genèse et dans la sévérité des maladies allergiques respiratoires et de l'asthme.

2-1-2-1 Tabagisme actif

Le fait de fumer est associé à une atteinte fonctionnelle des poumons chez les asthmatiques, à une augmentation de la sévérité de l'asthme, à une diminution de la réponse aux traitements par corticoïdes et à une moindre probabilité de réussir à contrôler l'asthme (**Arshad, 2005 ; Gusbin et al., 2006**).

Le risque d'apparition d'asthme est significativement supérieur chez les fumeurs et les ex-fumeurs et augmente avec une relation dose-réponse du tabagisme. L'application en Angleterre en 2007 des lois anti-tabac, a entraîné une diminution de 5% des admissions en urgence pour asthme dans la population de 16 ans et plus (**Charpentier, 2016**). En 2008, une étude a montré dans une cohorte d'atopiques avec rhinite devenus asthmatiques, le rôle déterminant du tabac dans la sévérité et le mauvais contrôle de l'asthme avec une relation dose-réponse (**Polsa, 2008**). Le tabagisme actif est clairement associé à une morbidité et mortalité plus élevées que le tabagisme passif (**Siroux et al., 2000**). C'est un facteur de risque de consultation aux urgences et d'hospitalisation pour asthme. Plus de la moitié des asthmatiques hospitalisés pour asthme, sont tabagiques avec une relation entre tabac et sévérité de l'asthme, moindre qualité de vie et moindre santé mentale (**Charpentier, 2016**). Ces patients ont

généralement recours à un traitement plus lourd reposant sur des combinaisons médicamenteuses et des doses accrues et le recours à la ventilation assistée est plus fréquent chez ces asthmatiques fumeurs (**Gusbin *et al.*, 2006**).

2-1-2-2 Tabagisme passif

La fumée produite par des fumeurs environnants, ce que l'on appelle «fumée latérale», est plus toxique que la fumée inhalée par le fumeur; elle est particulièrement irritante pour la muqueuse respiratoire (**NHLBI, 2002**).

L'OMS estime que la moitié des enfants dans le monde est exposée au tabagisme passif. Le tabagisme passif maternel in utero et pendant l'enfance, augmente la fréquence de l'asthme, est un important facteur déclenchant de l'asthme de l'enfant et de mauvais contrôle de la maladie: risque supérieur si la mère fume par rapport au père, risque plus élevé si les 2 parents fument (**Charpentier, 2016**).

Le tabagisme passif a des conséquences particulièrement lourdes sur la santé respiratoire des enfants. Il favorise les infections des voies aériennes supérieures et inférieures, modifie la croissance et l'évolution naturelle de la fonction respiratoire, facilite l'apparition et l'aggravation d'un asthme, il induit ou exacerbe une hyperréactivité bronchique (**Difranza et Lew, 1997**). Le tabagisme passif représente l'agent irritant domestique le plus important mais aussi le plus évitable (**Dubus *et al.*, 1997**).

L'exposition au tabac in utero, entraîne un déclin de la fonction pulmonaire et une hyperréactivité bronchique et perturbe le développement et la maturation du système immunitaire. Les enfants exposés in utero mais non exposés au tabagisme passif après la naissance, sont à risque d'asthme et/ou de sifflements bronchiques accru avec une relation dose-réponse. L'exposition maternelle à la nicotine a des effets néfastes sur le développement pulmonaire. Le tabagisme maternel favorise une sensibilisation aux allergènes plus précoce en synergie avec les prédispositions génétiques et le terrain atopique maternel (**Charpentier, 2016**).

Chez les enfants asthmatiques, l'exposition au tabagisme passif augmente la morbidité, le nombre de consultations médicales et la consommation en médicaments. Le nombre d'exacerbations de l'asthme est corrélé à l'importance de l'exposition tabagique (**Evans *et al.*, 1987**).

2-1-3 Pollution atmosphérique:

Elle est définie comme une modification défavorable du milieu naturel qui apparaît en totalité ou en partie comme un sous-produit de l'action humaine, à travers d'effets directs ou indirects altérant les critères de répartition des flux d'énergie, des niveaux de radiations, de la constituante physicochimique du milieu naturel et de l'abondance des espèces vivantes.

Un polluant atmosphérique, c'est toute substance introduite directement ou indirectement par l'homme dans l'air ambiant, susceptible d'avoir des effets nocifs sur la santé ou sur l'environnement dans son ensemble. Ils peuvent agir comme des facteurs irritants qui provoquent des crises d'asthme en particulier chez des asthmatiques sévères (**Desqueyroux et al., 2002**).

Il existe deux grandes classes de polluants: les polluants primaires (principalement : l'anhydride carbonique (CO₂), le dioxyde de soufre (SO₂), les oxydes d'azote (NOX) et le plomb) qui sont émis des sources anthropiques et les polluants secondaires (l'exemple le plus courant est l'ozone) qui proviennent de la transformation chimique des polluants primaires dans l'atmosphère (**Degobert, 1992**).

Le rôle de la pollution sur la genèse de l'asthme était contesté par de nombreux auteurs. En effet, les études épidémiologiques montrent que les marqueurs de morbidité de l'asthme (consultations, hospitalisations, prise de médicaments de secours, fonction respiratoire, marqueurs d'inflammation), sont en relation avec les pics de pollution (**Just, 2011**). L'anhydride carbonique (CO₂) par exemple conduit à l'apparition de l'asthme lorsque sa concentration est de l'ordre de 1000 ppm (0.1%) (**Degobert, 1992**). L'exposition au dioxyde de soufre (SO₂) est associé avec les symptômes d'asthme surtout le sifflement d'asthme (**Chen et al., 1998 ; Zhang et al., 2002**). Aussi, le NO₂ qu'on retrouve principalement dans les zones urbaines liées au trafic automobile, est lié au risque d'allergies et aux symptômes respiratoires (**Studnicka et al., 1997 ; Pattenden et al., 2006**).

2-1-4 Infections respiratoires

Les infections ont une relation complexe avec l'asthme. Elles ont été associées, selon les études, aussi bien à l'augmentation qu'à la diminution du risque de développement de l'asthme. Le fait que certaines infections, particulièrement celles acquises au cours de l'enfance, peuvent prévenir l'apparition de l'atopie, est hautement controversé (Hypothèse de l'hygiène).

2-1-4-1 Infections respiratoires virales

L'existence de 200 sérotypes viraux différents, pouvant affecter les voies respiratoires, et la fréquence élevée de l'infection virale chez l'enfant, plaident en faveur d'une participation des virus dans l'exacerbation de l'asthme (**Adel *et al.*, 1998**).

L'association entre infection respiratoire virale et asthme, provient d'un déséquilibre préexistant dans le système immunitaire (déficit de la réponse de type Th1 et hausse de l'immunité de type Th2) (**NHLBI, 2002**).

Les virus les plus fréquemment mis en cause, sont les picornavirus, dont essentiellement les rhinovirus, responsables des deux tiers des épisodes d'aggravation respiratoire objectivés par une baisse significative du débit de pointe. Mais on peut citer aussi le coronavirus, l'influenza, le parainfluenza, le virus respiratoire syncytial (VRS) et l'adénovirus (**NHLBI, 2002**).

Les infections virales à manifestation respiratoire, sont particulièrement fréquentes chez l'enfant en bas âge. La plupart des études épidémiologiques soulignent l'association entre la symptomatologie sifflante secondaire à une agression virale durant la petite enfance et le risque ultérieur de développement d'un asthme (**Brouard *et al.*, 2013**). Des études récentes ont retrouvé que plus de 80% des épisodes de sibilance étaient associés à des infections respiratoires virales (**Johnson *et al.*, 1995**). Chez plus de 60% de ces enfants, le virus respiratoire syncytial (VRS), a été détecté (**Johnson *et al.*, 1996**). Le lien étroit entre la bronchiolite induite par des virus et le développement de l'asthme a été mis en évidence dans plusieurs études (**Murray *et al.*, 1992**). Certaines études indiquent que la bronchiolite à VRS à un âge précoce, conduit à une hyperréactivité bronchique (HRB) qui persiste plus de 10 ans (**Pullan et Hey, 1991**). La synthèse des différentes études indique que les infections respiratoires virales chez les jeunes enfants, peuvent causer des symptômes asthmatiques transitoires ou bien déclencheraient un développement précoce d'un asthme latent (chez des sujets génétiquement prédisposés à l'atopie) (**Brouard *et al.*, 2013**).

Chez l'adulte, la survenue d'une infection respiratoire virale, semble responsable de 37% des hospitalisations pour asthme, surtout en période hivernale et au décours d'infections à Influenza A ou à Rhinovirus (**Teichtahl *et al.*, 1997**).

2-1-4-2 Infections respiratoires bactériennes:

Les infections bactériennes chroniques chez l'enfant, semblent jouer un rôle important dans le développement de l'asthme dans la vie adulte (**NHLBI, 2002**). Les données

disponibles concernent surtout l'association entre d'une part, infection bactérienne chronique des voies respiratoires et asthme sévère (**Gencay et al., 2001**), d'autre part, entre infection bactérienne et exacerbations de l'asthme (**Allegra, et al., 1994**).

Deux organismes se distinguent comme probables facteurs contribuant à la pathogénie de l'asthme : *Mycoplasma pneumoniae* et *chlamydia pneumoniae* (**Kraft et al., 1999**). Des études confortent l'hypothèse que ces deux germes sont présents au niveau des voies aériennes des asthmatiques chroniques de façon plus fréquente que dans la population générale. Les surinfections par *hémophilus* et *streptococcus pneumoniae*, compliquent parfois les crises d'asthme, mais ne les déclenchent pas (**Freymuth et al., 1999**).

2-1-4-3 Hypothèse de l'hygiène:

L'amélioration de l'hygiène et la limitation de la circulation de certaines infections dans la population sont associées à l'augmentation de la prévalence de l'atopie et des maladies allergiques dans les pays occidentaux (**Matricardi et al., 2000 ; GINA, 2016**).

Selon l'hypothèse de l'hygiène, certaines infections durant l'enfance, peuvent prévenir le développement de l'atopie, tandis qu'au contraire, l'amélioration de l'hygiène et le style de vie occidental, peuvent faciliter le développement de l'atopie (**Matricardi et al., 2000**). Des études ont montré qu'un grand nombre de grands frères/sœurs ou un mode de garde collectif, favorisant les infections, pouvaient diminuer le risque d'asthme (**Schaub et al., 2006**). Grandir dans un environnement microbien diversifié, comme dans des fermes ou en présence d'animaux domestiques, est associé à un risque plus faible de maladies allergiques dont l'asthme (**Schaub et al., 2006**).

2-1-5 L'exposition professionnelle à des produits chimiques ou biologiques:

Plus de 400 agents sont connus pour être impliqués dans le développement de l'asthme professionnel (**Brisman et al., 2001**), c'est-à-dire à un asthme causé par l'exposition à un agent rencontré dans l'environnement de travail et sont classés en: (i) agents de haut poids moléculaire (surtout des protéines animales ou végétales agissant à travers un mécanisme IgE dépendant) et (ii) agents de bas poids moléculaire (composés organiques et inorganiques généralement non associés à un mécanisme IgE dépendant), ou sont des substances hautement irritantes (sous forme de fumées, vapeurs ou gaz) (**Gautrin et al., 2001**). Les allergènes de moisissures sont également incriminés dans ce type d'asthme (**Ameille et al., 2007**). Ce

nombre est en constante augmentation du fait de la mise sur le marché, chaque année, d'agents potentiellement actifs.

Les agents le plus fréquemment incriminés, sont les isocyanates, le latex, produits chimiques inorganiques (par exemple les sels de platine connus tels qu'immunogènes), protéines d'origine animale ou végétale (farines, poussière de bois...) et les produits chimiques organiques (antibiotiques, désinfectants...). Plusieurs métiers sont concernés (plus de 140 professions): boulangers, éleveurs, peintres, industrie des matières plastiques, industrie pharmaceutique, professions médicales, coiffeurs, menuisiers, soudeurs, travailleurs sur bois (**Acouetey, 2012**).

Les sensibilisants professionnels, peuvent entraîner une altération de la réactivité bronchique, une bronchoconstriction directe du muscle lisse et une stimulation de la production des IgE (**Acouetey, 2012**).

2-1-6 Facteurs socio-économiques:

Les facteurs liés au mode de vie et au niveau socio-économique, paraissent être impliqués dans l'expression des manifestations de l'asthme. Au sein d'une même société, la prévalence de l'asthme peut varier selon les modes de vie, elle est plus élevée chez les enfants vivant en milieu rural, surtout s'ils vivent à la campagne durant les deux premières années de vie (**Nilson et al., 1999 ; Hulin et Annesi-Maesano, 2010**). La prévalence de l'asthme varie également suivant le niveau socio-économique. L'asthme serait plus fréquent dans les populations de classe sociale élevée comme l'ont montré les études anglaises et suisses avec des prévalences respectives de 13 et 9% dans la classe la plus élevée contre 8 et 5% dans la plus faible (**Wuthrich, 1996**). La différence de classe sociale fait intervenir de multiples facteurs environnementaux pouvant être impliqués plus directement dans le déterminisme de l'asthme. En plus des différents modes de vie (chauffage, types de literie, tapis, moquette...), d'autres éléments peuvent expliquer cette prédominance: une consommation médicale excessive et une utilisation de produits d'hygiène plus élevée, enfin, l'âge maternel plus élevé. D'autre part, le taux de mortalité par asthme est augmenté chez les malades jeunes économiquement défavorisés (**Weiss et Wagener, 1990**). Pour cette catégorie de patients, l'asthme peut, d'une part, représenter une charge économique, quelquefois difficile et même impossible à assumer.

Les malades qui appartiennent à des groupes défavorisés, affichent un plus grand nombre de symptômes ressentis et utilisent beaucoup moins de traitements de la crise et de traitements de fond (**Adel et al., 1998**).

2-1-7 L'air froid:

L'air froid, surtout l'air froid et sec, peut causer les symptômes d'asthme chez certaines personnes. Il est démontré que l'inhalation d'un air froid réduit la fonction pulmonaire chez les patients asthmatiques et favorise une broncho-constriction (**Nolard et Detandt, 2004**). Il s'agit cependant, d'un effet à court terme. La prévalence de l'asthme n'est d'ailleurs pas plus importante là où le climat est plus froid (**Gold et Kemp, 2005**).

2-2 Facteurs liés à l'hôte:

Certains facteurs liés à l'hôte, peuvent prédisposer au développement de l'asthme. Cela n'implique pas une apparition systématique de l'asthme. Ces facteurs révèlent en fait, une vulnérabilité à celui-ci, vulnérabilité qui se traduira ou non par l'apparition de la maladie selon les individus et le contexte dans lequel ils évoluent.

2-2-1 Prédisposition génétique:

Plusieurs études familiales ont montré que l'asthme est une maladie héréditaire, il est ainsi fréquent de retrouver dans la famille d'un asthmatique des ascendants (parents), des collatéraux ou des descendants (enfants) souffrant de la même maladie (**Sibbald et al., 1980**). Depuis longtemps, la comparaison de la prévalence de l'asthme chez les personnes ayant un lien de parenté avec des personnes atteintes (13%) et chez les personnes ayant un lien de parenté avec des personnes non atteintes (4%), a permis de montrer qu'il existe une concentration familiale de l'asthme (**Bonnie et al., 1980**).

Des études portant sur des jumeaux, ont démontré que le taux de concordance de l'asthme est substantiellement plus élevé chez les vrais jumeaux que chez les faux jumeaux, suggérant ainsi une forte contribution génétique. Dans les études de population sur des jumeaux, l'effet estimé des facteurs génétiques, peut varier de 35 à 70% (**Holloway et al., 1999 ; Wiesch et al., 1999**).

Il semble que l'hérédité de l'asthme ne suit pas les schémas mendéliens classiques. On se retrouve dans la même situation que les autres maladies dites multifactorielles comme le diabète, l'hypertension artérielle et l'ostéoporose (**Emery, 1986**). Le composant héréditaire

dans l'asthme n'est pas simple. Les données actuelles montrent que plusieurs gènes sont impliqués dans la pathogénèse de l'asthme et qui pourraient être différents dans différents groupes ethniques. La diversité et le poids respectif de ces différents facteurs, expliquent les multiples phénotypes. Il est fort probable, que c'est l'association de plusieurs gènes à effets modérés qui importe et que de multiples associations existent, expliquant également l'hétérogénéité clinique de l'asthme. Les études des familles et les analyses des associations cas-témoin, ont identifié un nombre de régions chromosomiques qui sont associées à la susceptibilité de l'asthme. Outre les gènes qui prédisposent à la susceptibilité de la maladie, il y a également les gènes qui sont associés à la réponse à différents traitements comme les glucocorticostéroïdes, les b2-agonistes, les antagonistes des leukotriènes... (**Wiesch et al., 1999**).

2-2-2 Atopie:

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 (**Magnan et Vervloet, 2000**). Elle est caractérisée par l'activation des lymphocytes T qui induisent une production anormalement élevée d'anticorps IgE et l'activation des éosinophiles. Cette sensibilisation lorsqu'elle survient, peut rester asymptomatique ou créer les conditions de survenue d'une affection atopique: la dermatite atopique, la rhinite allergique et l'asthme 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 (**Magnan et Vervloet, 2000**).

L'atopie semble un important facteur de risque qui prédispose les individus à développer l'asthme. Les preuves fournies par quelques études, semblent indiquer que 50% des cas d'asthme dans la population générale, sont attribuables à l'atopie (**Pearce et al., 1999**). Chez les enfants par contre, cette proportion est beaucoup plus importante: 90 à 95% des cas d'asthme chez l'enfant sont liés à l'atopie. Seulement 25 à 30% des enfants atopiques sont asthmatiques (**Bousquet et al., 2001**).

Chez les nourrissons, la présence simultanée d'atopie et des premiers symptômes d'allergies comme par exemple l'eczéma infantile et les allergies alimentaires, est un signe de risque d'apparition ultérieure de l'asthme. Effectivement, les nourrissons qui présentent encore des

sifflements respiratoires durant l'enfance, semblent de préférence souffrir d'un asthme lié à l'atopie (**Bousquet *et al.*, 2001**).

Chez les enfants susceptibles, l'atopie semble prédisposer les voies aériennes à la sensibilisation par des pneumallergènes, et donc à présenter des épisodes récurrents de respiration bruyante (**Martinez, 2000**).

L'association entre la sensibilisation aux allergènes et l'asthme est âge-dépendante. En effet, la plupart des enfants qui se sont sensibilisés aux allergènes environnementaux pendant les trois premières années de vie, développe l'asthme à l'âge adulte (**Martinez, 2000**).

2-2-3 L'âge et le sexe:

Le jeune âge, constitue un facteur de risque : le nourrisson est vraisemblablement plus à risque par son immaturité physiologique, qu'elle soit anatomique (étroitesse des voies aériennes rendant le syndrome obstructif plus important) ou immunologique (immaturité des défenses de l'appareil respiratoire) (**Gissleret *al.*, 1999**).

La prévalence de l'asthme à différentes périodes de la vie varie selon le sexe. De 7 jours après la naissance et jusqu'à 7 ans, les garçons ont une incidence cumulée de l'asthme de 64% plus élevée que les filles (**Gissleret *al.*, 1999**). Une étude multicentrique (**de Marco *et al.*, 2000**), a étudié la différence dans l'incidence de l'asthme selon l'âge et le sexe. Le risque d'asthme est plus élevé chez les garçons durant l'enfance. La différence entre les sexes disparaît après l'âge de 10 ans. Après la période de la puberté, le risque d'asthme devient plus élevé chez les femmes (de 2 à 5 fois plus élevé chez les femmes par rapport aux hommes dans les différents pays d'études). Cette différence persiste au cours de la vie adulte. Les raisons de ces différences ne sont pas très claires mais elles pourraient être liées à la dimension des voies respiratoires, plus petites chez les garçons à la naissance mais plus larges à l'âge adulte par rapport à celles des filles. (**Gissleret *al.*, 1999**), ainsi que des facteurs hormonaux intervenant au cours de la puberté, semblent jouer un rôle important dans la variation du risque d'asthme selon l'âge chez les hommes et les femmes (**de Marco *et al.*, 2000**).

2-2-4 Reflux gastro-œsophagien:

La prévalence du reflux gastro-œsophagien (RGO) pathologique, varie selon les études, de 45 à 78% chez les asthmatiques alors qu'elle est estimée entre 8 et 18% dans la population générale (**Didier, 2004**).

D'autres études trouvent une association de RGO dans 75% de la population asthmatique et reconnaissent le RGO comme facteur déclenchant et aggravant (**Dalnegro, 2003**). Parmi les mécanismes possibles reliant le RGO à l'asthme, on retrouve une broncho-constriction réflexe induite soit par un mécanisme aspiratif soit par un mécanisme réflexe vagal. Le traitement du RGO améliore les symptômes de l'asthme chez environ 70% des patients. Selon une étude réalisée en 2004, le RGO constitue un facteur de risque de l'asthme et des symptômes respiratoires. Cependant, la relation de cause à effet entre ces deux pathologies, n'a pas encore été établie (**Gunnbjornsdottir et al., 2004**). Selon cette même étude, il a été démontré que la prévalence du RGO est plus importante chez les patients asthmatiques que chez les sujets sans asthme et qu'un traitement anti reflux peut réduire les symptômes de l'asthme (**Gunnbjornsdottir et al., 2004**).

Le National Institutes of Health (NIH), a recommandé d'essayer le traitement du RGO chez les patients présentant un asthme mal contrôlé, même en absence classique des symptômes du RGO (**Risclin, 2010**). Le reflux gastro-œsophagien semble capable d'aggraver certains asthmes mais sa correction n'améliore pas l'asthme (**Leggett et al., 2005**).

2-2-5 L'obésité:

Même si l'asthme pourrait favoriser le gain de poids par la prise de corticostéroïdes oraux chez certains ou réduire la capacité à effectuer de l'exercice, les données disponibles pointent plutôt en faveur d'un rôle de l'obésité dans le développement de l'asthme (**Boulet et Lessard, 2007**). Certaines études ont montré une corrélation entre un Indice de Masse Corporelle (Body Mass Index) élevé et un risque plus important de développer l'asthme (**Camargo et al., 1999; Huang et al., 1999 ; Ford, 2005**). Plus récemment, l'association entre surpoids et asthme incident, a été quantifiée par une Meta analyse réunissant les données des études de cohorte: le risque d'asthme incident était augmenté chez les hommes comme chez les femmes en surpoids, avec un effet dose-réponse, le risque d'asthme incident étant multiplié par 1,4 chez les personnes en surpoids sans obésité et par 1,9 chez les personnes obèses. De plus, chez les personnes obèses et asthmatiques, la perte de poids améliorerait la fonction pulmonaire (essentiellement la variabilité du débit expiratoire maximal (DEM), les symptômes, la morbidité et le statut de santé. Ceci suggère que l'obésité pourrait contribuer à l'aggravation des symptômes respiratoires et de la qualité de vie chez les asthmatiques (**Stenius-Aarniala et al., 2000**).

Plusieurs hypothèses ont été émises pour expliquer comment l'obésité pouvait mener à l'asthme, parmi elles, l'obésité est associée à un processus inflammatoire systémique pour lequel certains changements hormonaux, telles l'augmentation de la leptine (pro-inflammatoire) et la réduction de l'adiponectine (anti-inflammatoire), pourraient jouer un rôle dans l'inflammation des voies respiratoires liée à l'asthme. L'obésité pourrait également encourager le développement de l'asthme ou influencer son expression clinique en augmentant la prévalence de certaines maladies telles le reflux gastro-œsophagien ou le syndrome d'apnées-hypopnées du sommeil (**Boulet et Lessard, 2007**).

2-2-6 Facteurs hormonaux:

Le poumon exprime un grand nombre de récepteurs hormonaux au cours de la différenciation pulmonaire, comme à l'état mature. Il est capable également de synthétiser un certain nombre d'hormones, notamment issues du métabolisme lipidique. Le rôle de ces hormones sur la physiologie respiratoire, reste encore très hypothétique (**Martinat *et al.*, 2011**).

Le rôle des hormones sexuelles sur l'apparition, la gravité et le contrôle de l'asthme, a été le plus exploré. Si les hommes et les femmes présentent des différences en matière d'asthme, ce serait vraisemblablement du fait des hormones sexuelles, les androgènes (hormones mâles) et les œstrogènes (hormones femelles), et de leurs effets sur les poumons. Mais le mécanisme n'est pas parfaitement élucidé. Les différentes phases du cycle menstruel peuvent être associées à une aggravation des symptômes chez une partie des sujets asthmatiques. A noter qu'une proportion comparable de sujets est améliorée, sans aucune explication précise de ce phénomène. L'asthme prémenstruel est ressenti subjectivement par 30 à 40 % des femmes asthmatiques. Un traitement hormonal, destiné à bloquer la chute des œstrogènes, pourrait être utile dans cette situation (**Martinat *et al.*, 2011**).

La grossesse peut avoir un effet variable sur le contrôle de l'asthme, laissant suggérer que cet effet est lié à un mécanisme plus complexe que les seules variations des hormones sexuelles, impliquant également les modifications de l'immunité et de l'inflammation (**Nocent-Ejnaini, 2016**). Lors de la ménopause, on observe là encore, une aggravation des symptômes et une réduction de la fonction respiratoire (**Martinat *et al.*, 2011**).

2-2-7 L'exercice physique:

L'exercice physique favorise la respiration par la bouche, augmente la ventilation et facilite donc l'inhalation des polluants et des allergènes, ce qui peut favoriser le déclenchement d'une crise d'asthme. Par ailleurs, l'activité physique intense, est également responsable de l'asthme d'effort. Il s'agit en fait, d'un bronchospasme et non d'un asthme réel. (**Puddu et al., 2003**). Une augmentation transitoire de la résistance des voies respiratoires entraîne des symptômes d'asthme dans les 5 à 10 minutes qui suivent le début de l'activité physique. Ceux-ci disparaissent en général une heure à une heure trente après la fin de l'exercice. (**Puddu et al., 2003**).

2-2-8 Facteurs psychologiques:

Les troubles psychologiques sont relativement fréquents dans l'asthme de l'adulte ou de l'enfant. Cependant, leur fréquence n'est pas majorée par rapport aux autres affections chroniques et il y a un consensus général pour affirmer que les facteurs psychologiques ne représentent pas un facteur déterminant la survenue d'un asthme. En revanche, ils modulent souvent le cours de l'asthme. (**Demoly et al., 2005**). Les grandes émotions (peur, colère, rires et pleurs), pourraient favoriser le déclenchement de symptômes chez les asthmatiques par hyperventilation et hypocapnie (**GINA, 2006**). En cas de stress, la perception des symptômes par le malade pourrait également être aggravée (**Puddu et al., 2003**).

3 CYTOKINES ET L'ASTHME

3- 1 Définition et propriétés générales des cytokines

Les cytokines sont des messagers qui régulent et orchestrent le développement et la nature de la réponse immunitaire (**Hulkkonen , 2002**). Ce sont des polypeptides solubles de faible poids moléculaire qui ne sont pas exprimées de façon constitutive, mais produites sous effet d'un stimulus par la majorité des cellules inflammatoires et non inflammatoires (**Le Thi Thu et al., 2014**). Elles ont une fonction de transmetteur pour moduler la réponse inflammatoire et immunitaire (innée et spécifique). De plus elles agissent sur les cellules cibles afin de causer un large éventail de fonctions cellulaires, y compris l'activation, la prolifération, le chimiotactisme, immuno-modulation, libération d'autres cytokines ou de médiateurs, la croissance et la différenciation cellulaire et l'apoptose (**Chung et Barnes, 1999**). Quelle que soit leur origine, les cytokines ont quatre caractéristiques fondamentales (**Le Thi Thu et al., 2014**):

Redondance: capacité d'une cytokine à entraîner un effet spécifique sur plusieurs types cellulaires

Pléiotropie: une même cytokine peut avoir plusieurs effets à une même cellule

Multi-orientations: une seule cytokine peut activer plusieurs cellules.

Activité en cascade: la plupart des cytokines entraînent des réactions en cascade en induisant la production d'une autre cytokine par les cellules cibles.

Il existe d'autres propriétés communes aux cytokines: faible poids moléculaire (10 – 25 kD), peu d'homologie de séquence entre elles (maximum 30% d'homologie), et réaction synergique.

Les cytokines se lient à des récepteurs membranaires spécifiques de leurs cellules cibles; elles déclenchent des voies de transduction du signal qui modifient l'expression des gènes de leurs cellules cibles. La sensibilité d'une cellule cible à une cytokine particulière, est déterminée par la présence de récepteurs membranaires spécifiques. En général, les cytokines ont une grande affinité pour leurs récepteurs, caractéristique qui les rend actives à de très faibles concentrations (de 10^{-10} à 10^{-13} mol/l). Ce sont des molécules qui agissent localement; elles

ont une action qui pourrait ressembler à celle d'un médiateur, c'est-à-dire qu'elles agissent soit de façon *autocrine* (une cellule secrète une cytokine qui agit sur la même cellule), soit *paracrine* (sur une autre cellule mais à une très faible distance). Beaucoup plus rarement, elles peuvent avoir une action *endocrine* (qui emploie la circulation générale) comme l'IL-6 et le TNF par exemple (**Bachoual et Bozkowski, 2005**)

3-2 Classes de cytokines et d'asthme

Il n'est pas simple de classer les nombreuses cytokines qui sont potentiellement impliquées dans l'asthme; en raison de leur nature et les propriétés pléiotropeiques qui se chevauchent. Cependant, en ce qui concerne les anomalies spécifiques de l'asthme et à notre compréhension actuelle de la pathogénie de l'asthme, ils peuvent être regroupés ou classés en lymphokines, des cytokines pro-inflammatoires, les cytokines anti-inflammatoires (inhibitrices), facteurs de croissance et chémokines (**Chung et Barnes, 1999**).

3-2-1 Lymphokines

Lymphokines ou cytokines dérivés de lymphocytes T auxiliaires de type 1 et 2, elles comprennent essentiellement les interleukines. Elles sont produites par les lymphocytes T, mais il est maintenant reconnu que de nombreux autres types de cellules peuvent libérer ces cytokines (**Mahajan et Mehta, 2006**), ils jouent un rôle important dans l'immuno-régulation de la réponse immunitaire, de nombreuses études ont indiqué que dans cette classe de cytokines de type Th2, IL4 et IL5 ont reçu un intérêt considérable à ce jour. Cette catégorie comprend d'autres cytokines tels que IL-2, IL-3, IL-7, IL-9, IL-15, IL-16, IL-17 (**Kips, 2001**).

3-2-2 Cytokines pro-inflammatoires

Un autre groupe de cytokines qui doit être pris en considération sont les cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-1, TNF- α , IL8, GM-CSF et le SCF. Ils peuvent être importants dans la gravité des maladies et la résistance à la thérapie pro-inflammatoire dans l'asthme. De même, le liquide de lavage broncho-alvéolaire de sujets qui nécessitent une ventilation en raison de l'état asthmatique, contiennent des niveaux accrus de cytokines pro-inflammatoires dont le TNF- α (**Kips, 2001**), les cytokines pro-inflammatoires stimulent le recrutement, la différenciation en effecteurs de l'inflammation tels que les monocytes,

macrophages, lymphocytes et leur prolifération à travers la régulation positive de l'adhérence moléculaire sur les cellules endothéliales vasculaires et l'induction de la synthèse d'autres cytokines et chimiokines (**Hirata et al., 1998**).

3-2-3 Cytokines anti-inflammatoires

Lors de l'évaluation du rôle fonctionnel des cytokines dans l'asthme, il est important de garder à l'esprit qu'elles agissent au sein d'un réseau de cytokines interagissant entre elles. L'inflammation des voies respiratoires pourrait par conséquent, être induite non seulement par l'expression accrue de cytokines de type Th2, mais aussi par une diminution de l'expression des cytokines antagonistes (cytokines anti-inflammatoires). La définition fonctionnelle d'une cytokine anti-inflammatoire est la capacité de la cytokine à inhiber la synthèse de l'IL-1, facteur de nécrose tumorale (TNF) et d'autres cytokines pro-inflammatoires. Cette classe de cytokines renferme principalement : IL-10, IL-12, IL-18 et IFN- λ (**Kips, 2001**).

3-2-4 Facteurs de croissance

Les facteurs de croissance sont impliqués dans la prolifération et la différenciation des cellules musculaires lisses provenant de divers tissus, y compris le système vasculaire et les voies respiratoires. Ils sont des contributeurs potentiels à une augmentation de la masse musculaire lisse des voies aériennes (ASM), que l'on trouve chez les patients souffrant d'asthme persistant sévère, en stimulant la prolifération des muscles lisses des voies aériennes. Les différents facteurs de croissance impliqués dans la physiopathologie de l'asthme sont : facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF), facteur de croissance transformant- β (TGF- β) , facteur de croissance des nerfs (NGF), facteur de croissance des fibroblaste (FGF), facteur de croissance épidermique (EGF) et le facteur de croissance 1 ressemblant à l'insuline (IGF) (**Kelley et al., 1991 ; Chanez et al., 1995 ; Ohno et al., 1995**).

3-2-5 Chémokines

Les chemokines sont un groupe de protéines de 8-15kD. Elles sont capables d'orchestrer la migration et l'activation des leucocytes, et participent aux épisodes inflammatoires en permettant le recrutement, l'activation et l'accumulation des cellules immunitaires dans les tissus enflammés. Elles ont été divisées en quatre groupes: CXC, CC, C

et CX3C selon les cystéines conservées (**Luster, 1998**). Les chemokines CXC, y compris l'IL-8, NAP-1, NAP-2 et MIP-2, ciblent les neutrophiles, les lymphocytes (**Homey et Zlotnik, 1999**). Les chemokines CC, y compris MCP-1, RANTES et éotaxine ciblent de nombreuses cellules inflammatoires, y compris les macrophages, les éosinophiles, les basophiles, les lymphocytes et les cellules dendritiques (**Yung-Chang, 2006**). Les chemokines CC peuvent être détectées dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire. Des niveaux accrus de MCP-1, RANTES, Macrophage inhibitory protein (MIP-1) et éotaxine ont été signalés chez des patients asthmatiques, et l'activité chimiotactique des éosinophiles du liquide de lavage broncho-alvéolaire des asthmatiques ont été bloqués par des anticorps dirigés contre RANTES et MCP-3 (**Jose et al., 1994**). L'augmentation du volume de l'expression ARNm de RANTES et MCP-3 a été rapportée dans la sous-muqueuse des voies aériennes des patients atteints d'asthme allergique et non allergique (**Mahjan et Mehta, 2006**).

3-3 Réponses Th1/Th2

Il existe deux types de réponse immunitaire, appelés respectivement Th1 et Th2 (**Romagnani, 1997**). Les lymphocytes T *helper* de type I (Th1) produisent de l'IFN- γ , de l'IL-2, de l'IL-3 et du TNF- β . Ces cytokines favorisent la production des isotypes IgG1 et IgG3 par les cellules B, activent les cellules phagocytaires et les cellules T cytotoxiques. L'immunité cellulaire se trouve donc augmentée par la présence de cellules Th1. Par opposition, les lymphocytes de type Th2, plus nombreuses chez les asthmatiques par rapport aux sujets sains, produisent de l'IL-4, de l'IL-5, de l'IL-10 et de l'IL-13, et sont impliqués dans les réponses allergiques en induisant une forte production d'IgG4 et d'IgE par les cellules B et favorisent ainsi l'immunité humorale, de même que la différenciation et la croissance des mastocytes et des éosinophiles (**Mosmann et Coffman, 1989**) (Figure 6). Ce caractère dichotomique s'est par la suite étendu aux cytokines selon le type de cellule Th qui les sécrétaient (**O'Garra et Murphy, 1994**). Par la suite, d'autres cytokines non lymphocytaires, ont également fait l'objet de cette classification, en fonction de leur induction d'un phénotype Th1 ou Th2 (**Pulendran et al., 1999**). Le phénotype Th1 étant impliqué dans la résolution d'infections bactériennes ou virales, ces dernières ont été qualifiées de maladies de type Th1. A l'inverse, les maladies parasitaires, l'atopie et l'asthme, sont des maladies de type Th2.

De façon générale, les cellules Th1 produisent l'interféron- γ (IFN- γ), IL-12, IL-23, IL-2, la lymphotoxine, le tumor necrosis factor (TNF) et IL-15 et sont impliquées dans la réponse

immune de type cellulaire. Les cellules Th2 produisent, entre autres, IL-4, l'IL-5, IL-10 et IL-13 et sont impliquées dans la réponse immune de type humorale (**O'Garra et Murphy, 1994**).

La polarisation Th1 ou Th2 de la réponse immunitaire se fait sous l'influence de facteurs environnementaux et génétiques agissant au niveau de la présentation de l'antigène (**Romagnani, 1997 ; Elias et al., 2003**). Parmi les facteurs environnementaux considérés, la nature et la concentration de l'immunogène, sa voie d'entrée et le type de l'adjuvant, jouent des rôles importants. Les facteurs génétiques, en revanche, sont moins bien connus. L'environnement et les facteurs génétiques influencent la différenciation Th1 ou Th2 à travers l'action de différentes cytokines (**Bachoual et Boczkowski, 2005**). La présence précoce d'IL-4 est le plus grand stimulus pour la différenciation Th2, alors que l'IL-12 et les IFN favorisent l'orientation Th1 (figure 06). L'IL-6 produite par les cellules présentatrices d'antigènes, est également capable d'orienter la différenciation des cellules naïves Th en cellules Th2, en induisant la production de l'IL-4 par les lymphocytes T CD4+ (**Rincon et al., 1997**). D'autres études suggèrent que les prostaglandines aussi, favorisent la différenciation en Th2 en inhibant la production d'IL-12 par les cellules dendritiques et la production d'IFN- γ par les cellules T (**Kalinski et al., 1997**). Le mécanisme moléculaire par lequel l'IL-4 et l'IL-12 favorisent le développement des cellules T naïves en Th1 ou Th2, est actuellement bien établi. La liaison de ces cytokines à leurs récepteurs, entraîne la phosphorylation de protéines appelées «transducteurs du signal et activateurs de la transcription» (STAT) (**Takeda et Akira, 2000**). Il a été démontré que le STAT-4 est spécifiquement activé par l'IL-12 et que la délétion du gène STAT-4 entraîne l'inhibition de la réponse de type Th1 (**Jacobson et al., 1995 ; Kaplan et al., 1998**). Par ailleurs, le STAT-6 est activé par l'IL-4 (Hou et al., 1994), et les souris déficientes pour le gène STAT-6 n'ont pas de réponse de type Th2 (**takeda et al., 1997**).

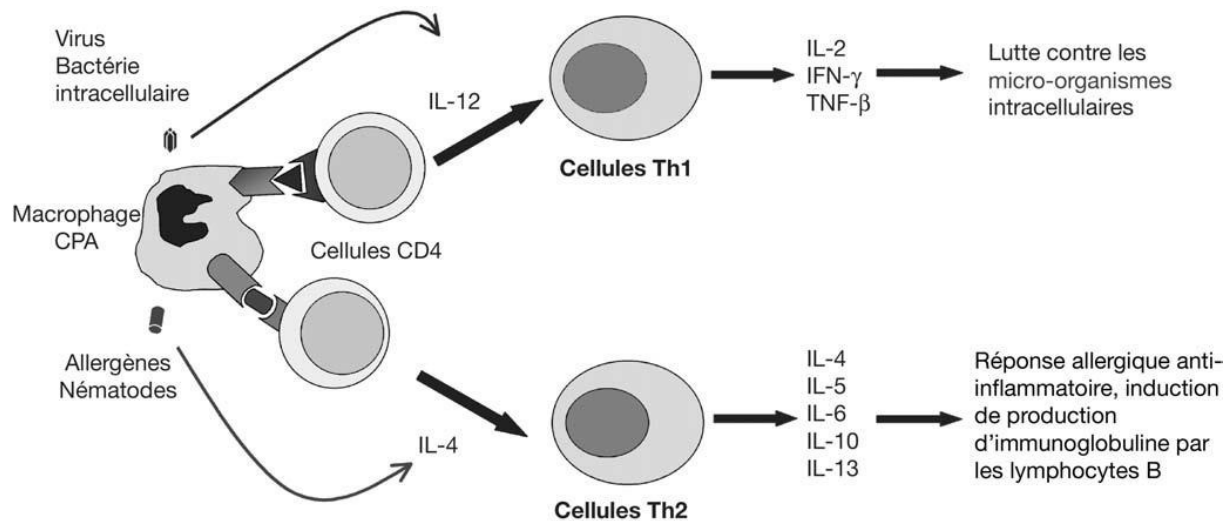


Figure 6: La polarisation Th1 ou Th2 de la réponse immunitaire (**Bachoual et Boczkowski, 2005**)

3-4- Le déséquilibre des cytokines et l'expression de l'asthme:

Il est important de comprendre que les cytokines font toujours partie d'un réseau complexe. Chaque cytokine a de nombreuses fonctions qui se chevauchent; chaque fonction étant potentiellement médiée par plus d'une cytokine (**Chung et Barnes, 1999**). Ce réseau complexe de cytokines interagit de façon dynamique pour réguler les réponses immunitaires et d'autres voies biologiques. Il est, par conséquent, pas surprenant que la variation du niveau de cytokines a été mise en corrélation avec la susceptibilité et le développement des maladies (**Ollier, 2004**). La relation entre le déséquilibre des cytokines et les expressions de l'asthme, a été d'un intérêt et une importance considérable. Les réponses de type Th2, sont associées à la production de cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 et IL-13. À leur tour, ces cytokines stimulent la production d'IgE et induisent une éosinophilie tissulaire et hyperréactivité des voies aériennes, qui sont caractéristiques de l'asthme. En revanche, les réponses de type TH1 sont caractérisées par une production accrue d'IL-2 et d'IFN-γ qui ont un effet protecteur contre l'asthme (**Lemanske, 2002**). (**El-Mezayen et Matsumoto, 2004; Malerba et Pignatti, 2005**). D'après ces observations, déficiente production d'IFN-γ prédispose vers le développement des maladies allergiques et l'asthme. On peut imaginer une correction du déséquilibre entre Th1 et Th2 serait soit associé ou contribuer à la résolution de la maladie (**Busse et Rosenwasser, 2003**).

4- GENETIQUE DE L'ASTHME

4-1 Etudes familiales

Les études familiales sont utilisées pour déterminer s'il y a concentration familiale d'une maladie (étude de prévalence familiale), et pour déterminer le mode de transmission de la maladie (études de ségrégation familiale)

4-1-1 Etudes de prévalence familiale

Ces études permettent de montrer s'il existe une concentration familiale par La comparaison de la prévalence d'une maladie chez les apparentés d'individus atteints et chez les apparentés d'individus non atteints. Ce genre d'étude peut déterminer une composante génétique de la maladie mais également l'effet d'un environnement commun puisque les membres d'une même famille sont généralement exposés aux mêmes facteurs environnementaux (**Dizier et Lockhart, 1991**).

Les études de prévalence familiale ont permis de montrer une concentration familiale de l'asthme, avec une prévalence de 13 % chez les apparentés d'asthmatiques et une prévalence de 4 % chez les apparentés de non asthmatiques (**Schwartz, 1952**).

4-1-2 Etudes de ségrégation familiale

Les études d'analyse de ségrégation familiale permettent de préciser le déterminisme génétique de la maladie. Une telle analyse permet habituellement d'identifier le modèle génétique le plus simple expliquant le mieux la répartition du trait observée dans un échantillon de familles (**Morton et Maclean, 1974**). Cette méthode permet en particulier, de rechercher l'effet d'un gène majeur et/ou d'une composante polygénique (effet individuel minime de plusieurs gènes) et d'estimer la fréquence du gène majeur et son mode de transmission, récessif ou dominant (**Dizier et Lockhart, 1991**).

Les premières études de ségrégation remontent au début du siècle précédent. En 1916, Cooke et Van der Veer, ont réalisé une étude familiale à partir de 504 familles. Ils sont arrivés à la conclusion que la transmission de la sensibilisation à l'asthme se faisait selon un mode autosomique dominant (**Demoly et al, 1996**). C'est seulement à partir des années 1950, que la théorie monogénique a été mise de côté au profit d'une théorie polygénique. Ainsi, en 1954, Tips fut parmi les premiers à suggérer que non pas un seul mais plusieurs gènes étaient responsables de l'asthme (**Demoly et al, 1996**).

Ces études d'analyse de ségrégation familiale ont donné des résultats très discordants (**Leigh et Marley, 1967 ; Snyder et al., 1967**) et le déterminisme génétique de l'asthme n'est toujours pas clairement défini, vraisemblablement en raison de sa complexité. Cette complexité vient de l'absence de correspondance entre le phénotype et le génotype soit parce que le génotype résulte en différents phénotypes (par chance, par l'environnement ou par l'interaction avec d'autres gènes), soit différents génotypes résultent en un seul phénotype (**Lander et Schork, 1994**). Il est souvent impossible de trouver un gène qui montre une parfaite coségrégation avec un trait complexe. Plusieurs raisons expliquent ce problème, comme la pénétrance incomplète du gène (un individu porteur ne développera pas la maladie), les phénocopies (un individu qui n'est pas porteur mais présente la maladie), l'hétérogénéité génétique (plusieurs mutations sur des gènes différents peuvent résulter au même phénotype) ou la transmission polygénique (plusieurs gènes doivent être transmis simultanément pour voir l'apparition de la maladie) (**Lander et Schork, 1994 ; Hoffjan et Ober, 2002**).

4-2 Etude de jumeaux

Les études de jumeaux sont très efficaces dans les projets qui visent à mesurer la composante génétique d'une maladie. La comparaison du taux de concordance pour la maladie entre des couples de jumeaux monozygotes et des couples de jumeaux dizygotes, est très informative pour rechercher l'effet d'une composante génétique dans la famille. En effet, les couples de jumeaux monozygotes sont génétiquement identiques tandis que des couples de jumeaux dizygotes se ressemblent génétiquement comme des frères ou sœurs, c'est-à-dire qu'il y a en moyenne 50 % de ressemblance pour le génome entier. On peut supposer que la ressemblance pour l'exposition à l'environnement est la même entre les jumeaux monozygotes et entre les jumeaux dizygotes. Un taux de concordance pour la maladie plus élevé chez les couples de jumeaux monozygotes que chez les couples de jumeaux dizygotes, permet donc de conclure à l'effet de facteurs génétiques. Cependant, lorsqu'on observe la même différence chez un couple de jumeaux dizygotes, la génétique et l'environnement peuvent tous deux en être responsables. Par ailleurs, si le trait étudié ne dépend que de facteurs génétiques, on attend un taux de concordance de 100 % chez les jumeaux monozygotes. Un taux de concordance inférieur à 100% permet alors de conclure à l'effet de facteurs environnementaux surajoutés. Une étude effectuée en Finlande au début des années 1970 auprès de 7000 couples de jumeaux, a démontré que la concordance clinique de l'asthme chez les jumeaux monozygotes (19%) était supérieure à celle des jumeaux dizygotes (4,8%) (**Edfors-Lubs,**

1971). Cette forte concordance chez les jumeaux monozygotes met en relief l'influence de la génétique sur le phénotype associé à l'asthme. Plusieurs autres études de jumeaux ont été réalisées depuis cette époque et un grand nombre d'entre-elles ont permis de confirmer que cette maladie dépendait à la fois de la génétique et de l'environnement (**Hopper et al, 1990 ; Duffy et al, 1998**).

4-3 Etudes de liaison (Linkage)

Les études de liaison ou *linkage*, ont comme objectif d'analyser la ségrégation à la méiose d'allèles situés à des loci différents sur le génome à l'intérieur de familles porteuses de la maladie dans le but de mettre en évidence le locus morbide inconnu qui ségrégue avec un marqueur connu (**Demoly et al, 1996**). Les données familiales sont utilisées afin de suivre la transmission des gènes entre les générations. La distance génétique entre deux loci est mesurée en centimorgans qui est le pourcentage de recombinaison entre deux allèles. Plus les allèles recombinent souvent, plus ils sont éloignés l'un de l'autre sur le génome (**Sandford et al, 1996**). L'analyse de liaison a été et est toujours extrêmement utile dans l'identification des gènes responsables des maladies à transmission mendélienne classique (monogénique) (**Rommens et al, 1989**). Toutefois, l'application des analyses de liaison aux maladies complexes comme l'asthme, n'est pas aussi efficace, car, les traits complexes sont influencés par de nombreux paramètres comme l'hétérogénéité génétique, les phénocopies, la pénétrance incomplète, les interactions gène-gène et gène-environnement (**Lander et Schork, 1994; Palmer et Cookson, 2000**). Le principal avantage lié à l'utilisation de l'analyse de liaison dans l'asthme est la découverte de régions chromosomiques contenant des gènes et des voies biologiques encore non soupçonnés dans sa physiopathologie. Par conséquent, ces gènes, dus à leur localisation dans une région chromosomique liée à l'asthme, deviennent des «gènes candidats» pour les études d'association subséquentes (**Ober et Hoffjan, 2006**).

À ce jour, plusieurs criblages génomiques (ou *full genome-scan*) pour l'asthme et les phénotypes reliés à l'asthme (atopie, taux élevés d'IgE ou hyperréactivité bronchique (HRB)) ont été publiés chez l'humain et les modèles d'animaux. Ces publications rapportent une liaison positive entre l'asthme et plusieurs régions chromosomiques différentes, lesquelles varient en fonction des études et des populations étudiées (**tableau 01**). De ces régions chromosomiques, quelques-unes ont été répliquées dans plus d'une étude et les plus rapportées se situent dans les chromosomes 5, 6, 11, 12, 13, et 16. Ces régions contiennent des gènes impliqués dans les processus de régulation immunologique, inflammatoire et de

remodelage qui ont potentiellement un rôle dans la pathogénèse de l'asthme (**Hakonarson et Halapi, 2002**).

Le chromosome 5 représente une des régions chromosomiques les plus étudiées pour l'asthme et l'atopie et les évidences d'une liaison génétique entre les marqueurs dans cette région et l'asthme ont été rapportés par plusieurs études (**Marsh et al., 1994 ; Meyers et al., 1994**). Cette région chromosomique contient plusieurs gènes qui sont importants dans la régulation des IgE et dans le développement ou la progression de l'inflammation qui a lieu dans l'asthme et l'allergie. Parmi ces gènes, sont retrouvés ceux de plusieurs cytokines inflammatoires (IL-3, IL-4, IL-5, IL-9 et IL-13), du récepteur β 2-adrénérique (ADR β 2), de la synthétase du leucotriène C4 (LTC4) (**Bleecker et al., 1997**), du facteur stimulant des colonies de granulocytes/macrophages (GM-CSF) et du marqueur de cellules CD 14 (**Cookson et Moffatt, 2000**).

Le chromosome 6 montre aussi une liaison avec l'asthme et ses phénotypes (**Daniels et al., 1996**) et contient plusieurs loci impliqués dans la régulation immunitaire, il contient le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) qui est fortement lié au phénotype de l'asthme dans la plupart des études et peut être considéré comme le majeur locus influençant les maladies allergiques (**Carroll, 2005**). Le CMH exprime plusieurs molécules impliquées dans l'immunité innée et adaptative. Les molécules du CMH de classe II, ont le pouvoir de reconnaître des allergènes spécifiques. Alors que les gènes qui expriment le CMH de classe I, sont suggérés d'avoir un important effet dans les réponses atopiques (**Cookson, 2002**). Ce chromosome contient aussi le facteur nécrosant des tumeurs alpha (TNF α) (**Moffatt et Cookson, 1997**).

Le chromosome 11q est la première région génétique prouvée d'être liée à l'asthme et l'allergie (**Moffatt et Cookson, 1998**), il a été décrit comme une région génétique liée à l'atopie pour la première fois en 1989 par Cookson et ses collègues (**Cookson et al., 1992**). Ce chromosome contient plusieurs gènes candidats à l'asthme (Carroll, 2005), le gène Fc ϵ RI- β , a été le premier gène de susceptibilité identifié, associé au taux élevés d'IgE totales, l'asthme ou rhinite allergique voire la dermatite atopique. Ce gène code la chaîne β du récepteur de forte affinité pour l'IgE exprimée par les mastocytes et les basophiles (**Nashiyama et al., 2004**). D'autres gènes ont aussi été liés dans cette région comme le CCI6 (**Laing et al., 2000**), le GSTP1 et l'IL-18 (**Fryer et al., 2000a**).

Le chromosome 12q a été lié à l'asthme initialement par les travaux de Barnes (1999), et a été confirmé par la suite par de nombreuses études d'association et par d'autres criblages génomiques (**Barnes et al., 1999**). Ce chromosome contient plusieurs gènes susceptibles de

développer l'atopie et l'asthme comme le gène de la nitric oxide synthetase 1 (NOS1) (**Grasemann et al., 2000**), le gène de l'interféron γ (IFN γ) (**Nakao et al., 2001**), mast cell growth factor (MCG) et insulin-like growth factor-1 (IGF-1) (**Holloway et al., 1999 ; Immervoll et al., 2001**).

Le chromosome 13 contient le premier locus prouvé d'être génétiquement lié aux taux sériques d'IgE totales (**Cookson, 2002**). Il a été lié à l'asthme et à l'atopie dans au moins trois criblages génomiques distincts (**Daniels et al., 1996 ; Kimura et al., 1999**). Cette région est aussi liée génétiquement aux concentrations sériques d'autres immunoglobulines, particulièrement IgA (**Cookson, 2002**) et il contient de nombreux gènes qui peuvent contribuer au phénomène de l'asthme tels que les protéines PHF 11 (un facteur de transcription dont le gène est situé en 13q14 et associé à l'asthme sévère et aux IgE totales), le domaine SET bifurqué 2 (SETDB2P), est un régulateur (activateur, répresseur ou les deux) de la condensation des gènes du chromosome (RCBTB1) (**Malerba et Pignatti, 2005**), le RANTES et le récepteur de l'endothéline de type B ou le STAT5 (**Deloukas et al., 1998**).

Le chromosome 16 a été lié à l'atopie (**Deichmann et al., 1998 ; Ober et al., 1999**). Le gène du récepteur de l'IL-4 est localisé sur ce chromosome et certains de ses variants ont été associés à l'atopie (**Deichmann et al., 1998**). La liaison à la région 16p12 est d'un grand intérêt non seulement parce qu'elle renferme le gène IL4RA, mais aussi parce qu'elle contient une série d'autres gènes dont les protéines sont possiblement impliquées dans l'inflammation allergique, comme la phospholipase A2, le CD 19, le CD43 ou le CD1 la (**Borish, 1999**).

Plusieurs autres régions (chromosomes 1, 2, 7, 14, 17, 19, 20 et 21), contiennent également des gènes candidats pouvant être associés à l'asthme (**Sandford et Paré, 2000**).

Ces études montrent que les régions chromosomiques liées à l'asthme ou l'atopie, contiennent des gènes de fonctions biologiques importantes dans le développement de la maladie. Bien que cette description des principales régions chromosomiques liées à l'asthme, ne soit pas exhaustive, ces analyses de liaison permettent de noter une contribution des gènes impliqués dans la présentation des antigènes, dans l'activation des cellules T et dans d'autres processus immunologiques impliqués dans la pathogénèse de l'asthme (**Hakonarson et Halapi, 2002**).

Tableau 1: quelques régions chromosomiques prouvées d'être liées à l'asthme dans les études de liaison.

Région chromosomique	Phénotype	Population	Référence
5q23-33	IgE Totaux	Hollandaise, Caucasienne (UK)	Mayers <i>et al.</i> , 1994 ; Doull <i>et al.</i> , 1996.
	IgE totaux, IgE spécifiques, eosinophilie	Australienne	Palmer <i>et al.</i> , 1998
	IgE spécifiques	Africaine Américaine	Hizawa <i>et al.</i> , 1998
	Asthme/ Atopie	Japonaise	Noguchi <i>et al.</i> , 1997; Yokouchi <i>et al.</i> ,
	Eosinophilie	Caucasienne (US)	Martinez <i>et al.</i> , 1998
	Hypersensibilité bronchique	Hollandaise	Ober <i>et al.</i> , 1998
6p21-23	Asthme Allergique	Colombienne	Caraballo <i>et al.</i> , 1990
	IgE spécifiques	Caucasienne (US)	Hizawa <i>et al.</i> , 1998 ;
	Asthme, IgE	Allemande, Suédoise	Wjst <i>et al.</i> , 1999
	Eosinophilie	Caucasienne (Australienne)	Daniels <i>et al.</i> , 1996
11q13	IgE	Caucasienne (UK)	Cookson <i>et al.</i> , 1989 ; Young <i>et al.</i> , 1992
	IgE spécifiques	Caucasienne (Australienne), Africaine Américaine	Palmer <i>et al.</i> , 1998 ; Hizawa <i>et al.</i> , 1998
	Hypersensibilité bronchique	Caucasienne (UK)	Doull <i>et al.</i> , 1996.
	Asthme allergique	Caucasienne	Collee <i>et al.</i> , 1993
	Asthme	Allemande, Suédoise	Wjst et Wichmann, 1995
12q14-24	Asthme allergique	Afro-caribéenne	Barnes <i>et al.</i> , 1999
	IgE Totaux	Allemande	Nickel <i>et al.</i> , 1997
	Eosinophilie	Française	Dizier <i>et al.</i> , 2000
	IgE spécifiques	Caucasienne (UK)	; Hizawa <i>et al.</i> , 1998
13q11-32	Eosinophilie	Française	Dizier <i>et al.</i> , 2000
	Asthme	Japonaise	Yokouchi <i>et al.</i> , 2000
	IgE élevés	Américaine	Hershey <i>et al.</i> , 1997
16p12-p11	IgE totaux	Britannique	Heinzmann <i>et al.</i> , 2000b
	Asthme	Caucasienne	Fryer <i>et al.</i> , 2000a

4-4 Etudes d'association

Les études d'association sont utilisées afin d'évaluer l'importance d'un gène dans l'apparition d'une maladie (**Sandford et al, 1996**). Elles cherchent le lien entre la présence du gène et le phénotype. Elles sont basées sur deux types d'approche: le clonage positionnel ou les gènes candidats (**Palmer et Cookson, 2001**).

Le clonage positionnel tente d'isoler des gènes (ou des loci) de susceptibilité à l'asthme à l'intérieur des régions chromosomiques déjà identifiées par les analyses de liaison (**Moffatt et Cookson, 1998**). Cette approche consiste à identifier un gène d'intérêt à partir de la seule connaissance de sa localisation chromosomique. Cette stratégie est utilisée lorsqu'il n'existe aucun défaut biochimique spécifique ou aucun gène candidat évident. Elle comprend une localisation primaire, faite généralement par une analyse de liaison classique, puis une cartographie fine de la région d'intérêt afin de réduire l'intervalle critique contenant le gène, enfin l'étape ultime est l'identification du gène d'intérêt. Ce gène doit être identifié par la présence de mutations chez les individus porteurs du phénotype étudié et par une absence de mutation chez les individus non porteurs. Cette étape représente un défi majeur car, il est essentiel, une fois qu'une variation de séquence a été détectée, de pouvoir distinguer un simple polymorphisme d'une mutation causale du caractère étudié. Cette approche est souvent associée à une cartographie comparée et de gènes candidats (**Eggen, 2000**).

L'approche des gènes candidats est basée sur l'étude des variations présentes à l'intérieur de gènes candidats (**Hoffjan et Ober, 2002**). Les gènes candidats sont sélectionnés pour leur rôle biologique potentiellement important dans la physiopathologie relative à la maladie ou pour leur expression dans les tissus (**Sandford et al, 1996; Hoffjan et Ober, 2002**). Pour qu'un gène soit un bon candidat dans les études d'associations d'asthme, un certain nombre de critères doivent être pris en considération, tout d'abord, la protéine produite par le gène candidat, doit influencer la pathophysiologie de la maladie. Deuxièmement, le gène doit contenir soit dans sa séquence codante ou régulatrice des variations qui causent des différences fonctionnelles dans la quantité ou la structure de la protéine. Troisièmement, ces variantes structurelles doivent être liées à la maladie dans les études d'association. Enfin, le gène candidat soit localisé dans une région chromosomique prouvée d'être liée à l'asthme dans les études de liaisons (**Hall, 1999**). Une fois que le gène est sélectionné, le ou les polymorphismes d'un seul nucléotide (SNPs), qui serviront de marqueur génétique, sont choisis (**Gray et al., 2000**). Un résumé des principaux polymorphismes dans les gènes candidats qui ont été étudiés présentés dans le tableau 2. Les études d'association utilisent les

allèles des différents SNPs et vérifient le déséquilibre de transmission qu'ils provoquent dans le développement d'une maladie (**Gray et al, 2000**). Ainsi, une association statistiquement significative entre un variant d'un gène candidat et le phénotype d'une maladie sera le résultat d'une de ces trois explications: 1) l'allèle a des conséquences fonctionnelles et affecte l'expression du phénotype; 2) l'allèle est en déséquilibre de liaison avec un autre locus lequel affecte l'expression du phénotype et 3), l'association est un faux-positif qui résulte d'une erreur de type I (erreur de génotypage, de phénotypage ou d'échantillonnage) (**Silverman et Palmer, 2000 ; Hoffjan et al, 2003**).

Parfois, les associations positives peuvent ne pas être démontrées soit parce que les répliquats ont été effectués dans d'autres populations, soit parce que le modèle de la maladie est trop complexe (maladie multifactorielle). En effet, il est plus probable que la susceptibilité d'un variant particulier ait un effet mineur sur le phénotype et que l'amplitude de son effet soit influencée par des gènes situés sur d'autres loci ou par des facteurs environnementaux. En fait, ou dans un environnement particulier (**Hoffjan et al., 2003**). C'est pourquoi les études visant à identifier les interactions entre facteurs génétiques et environnementaux, prennent de plus en plus d'importance et qu'il s'avère de plus en plus pressant de découvrir des modèles mathématiques afin de trouver des explications aux résultats observés depuis maintenant plusieurs années dans les analyses de liaison et d'association (**Hoffjan et al., 2003**).

Tableau 2: les principaux gènes candidats probablement impliqués dans l'asthme

Gènes candidats	Localisations	Populations	Références
<i>CD28</i>	2q33-33	Caucasienne	Heinzmann <i>et al.</i> , 2000a
<i>CTLA-4</i>	2q33-34	Caucasienne	Heinzmann <i>et al.</i> , 2000a
<i>CCR5</i>	3p21	Caucasienne	Hall <i>et al.</i> , 1999
		Australienne	Mitchell <i>et al.</i> , 2000
<i>IL-4</i>	5q31-34	Japonaise	Noguchi <i>et al.</i> , 1998
		Américaine	Rosenwasser., 1995
		Australienne	Walley <i>et al.</i> , 1996
		Caucasienne	Burchard <i>et al.</i> , 1999
<i>IL-5</i>	5q31-34	Australienne	Pereira <i>et al.</i> , 1998
<i>IL-13</i>	5q31-34	Hollandaise	van der Pouw Kraan <i>et al.</i> , 1999
		Américaine/Allemande	Graves <i>et al.</i> , 2000
		Allemande	Liu <i>et al.</i> , 2000
<i>B₂-AR</i>	5q31-34	Caucasienne	Drysdale <i>et al.</i> , 2000
		Africaine Américaine	Drysdale <i>et al.</i> , 2000
<i>IRf-1</i>	5q31-34	Japonaise	Noguchi <i>et al.</i> , 2000
<i>CD14</i>	5q31-34	Caucasienne	Baldini <i>et al.</i> , 1999
		Britannique	Gao <i>et al.</i> , 1999
<i>LTC4 synthétase</i>	5q35	Caucasienne	Sanak <i>et al.</i> , 2000
		Américaine	Van Sambeek <i>et al.</i> , 2000
<i>HLA-II</i>	6p21	Multiple	Moffatt et Cookson, 1996
<i>TNF</i>	6p21	Caucasienne	Li <i>et al.</i> , 1999
<i>LT-α</i>	6p21	Britannique	Moffatt et Cookson, 1997
		Australienne	Albuquerque <i>et al.</i> , 1998
<i>PAF-AH</i>	6p21-12	Allemande/Britannique	Kruse <i>et al.</i> , 2000
<i>5-LO</i>	10	Non spécifiée	Drazen <i>et al.</i> , 1999
<i>CC16</i>	11q12-13	Australienne	Laing <i>et al.</i> , 1998
		Japonaise/Britannique	Gao <i>et al.</i> , 1998
<i>FcϵR1-β</i>	11q12-13	Britannique	Shirakawa <i>et al.</i> , 1994
		Japonaise	Shirakawa <i>et al.</i> , 1996
<i>GSTP1</i>	11q12-	Caucasienne	Fryer <i>et al.</i> , 2000b
<i>IL-18</i>	11q22	Caucasienne	Heinzmann <i>et al.</i> , 2004
		Chinoise	Lee <i>et al.</i> , 2006a
<i>STAT6</i>	12q13	Japonaise	Gao <i>et al.</i> , 2000

<i>IFNγ</i>	12q14	Australienne	Hayden <i>et al.</i>, 1997
<i>NO-synthétase 1</i>	12q24	Mixe	Wechsler <i>et al.</i>, 2000
<i>TCR</i>	14p11	Caucasienne	Moffatt <i>et al.</i>, 1997
<i>IL-4Rα</i>	16p12-p11	Américaine	Hershey <i>et al.</i>, 1997
		Italienne	Patuzzo <i>et al.</i>, 2000
		Japonaise	Oiso <i>et al.</i>, 2000
<i>RANTES</i>	17q11-q12	Caucasienne	Hall <i>et al.</i>, 1999
<i>IL-1 3Rα1</i>	Xq	Britannique	Heinzmann <i>et al.</i>., 2000b

4-5 Etudes d'association du génome entier «Genome Wide Association Studies»

Les Etudes d'association du génome entier ou GWAs «Genome wide association studies», constituent une nouvelle approche d'étude des maladies multifactorielles, basée sur l'analyse de (plusieurs centaines voire des milliers) variants génétiques de type SNP (Single Nucleotide Polymorphism) simultanément chez plusieurs individus afin de déterminer leur association avec le phénotype étudié (**Vercelli, 2008**). Le principal avantage de ces études est la possibilité de découvrir des nouveaux locus associés aux traits étudiés non identifiés auparavant (**Vercelli, 2008**). Dans cette approche, les fréquences génotypiques de chaque SNP, sont comparées entre les cas et les témoins, toutefois, un tel nombre de comparaisons nécessite l'utilisation d'une correction statistique extrêmement grande. Cela veut dire qu'une valeur de $P < 0.05$ entre le SNP et un phénotype testé ne suffit pas pour être considérée comme significative. Celle-ci doit avoir une valeur inférieure au seuil Bonferroni. Par exemple, dans une étude GWA examinant 500 000 SNP, la valeur de p doit être inférieure à 1×10^{-7} ($0.05/500\,000$). Par conséquent, de très grandes tailles d'échantillons (plusieurs centaines voire des milliers d'individus), sont nécessaires dans ce type d'études (**Akhabir et Sandford, 2011**).

La première grande étude GWA pour l'asthme, a été réalisée en 2007 par Moffatt et ses collaborateurs (**Moffatt et al., 2007**). 31 700 SNP ont été testés chez 994 asthmatiques et 1243 témoins. Dans cette étude, une forte association a été trouvée entre les SNP situés dans la région chromosomique 17q21 et l'asthme de l'enfant, cette région inclut 3 gènes (ORMDL3, GSDMB et ZPBP2) qui n'ont jamais été sélectionnés comme gènes candidats à l'asthme auparavant. La même étude a montré que les SNPs associés à l'asthme, sont associés au niveau d'expression du gène ORMDL3. Ces résultats suggèrent que les SNP régulant l'expression d'ORMDL3, sont des déterminants de susceptibilité à l'asthme de l'enfant. Cette étude a été répliquée dans de nombreuses populations de différentes origines ethniques (tableau 3) et l'ensemble de ces études ont confirmé l'association entre les SNP de cette région et l'asthme, ce qui a rendu le 17q21 un vrai locus de susceptibilité à l'asthme (**Akhabir et Sandford, 2011**).

La seconde étude GWA, a été publiée en 2009 (**Himes et al., 2009**), qui a identifié deux autres locus liés à l'asthme; 8q21 et 5q12 en examinant 500 000 SNP chez 359 patients d'asthme 846 témoins. Le polymorphisme du chromosome 8q21, était dans le gène CHRNA2 (gènePDE4D (phospho-diesterase spécifique cAMP 4D), récemment, les inhibiteurs de la PDE4D ont été développés pour le traitement d'asthme (**Kodimuthali et al., 2008 ; Gross et**

al., 2010). Dans la même année, Hancock et ses collaborateurs (**Hancock et al., 2009**), ont étudié l'asthme de l'enfant chez 495 patients d'asthme ainsi que leurs parents, dans cette étude des SNP sur le chromosome 9q21 en amont du TLE4 (transducin-like enhancer of split 4), ont montré des valeurs de *P* significatives. Une GWAS réalisée par Mathias et ses collègues, a été publiée en 2010 (**Mathias et al., 2010**), elle a été menée dans deux populations de descendance africaine avec une taille de l'échantillon total de 1864 individus. Cette étude a permis d'identifier 3 locus associés à l'asthme DPP10, ADRA1B et PRNP. Le gène DPP10 localisé sur le chromosome 2q14, code pour l'inactif dipeptidyl peptidase 10 et bien que cette protéine ne possède pas d'activité protéase, elle est impliquée dans la régulation des canaux de potassium. Certaines études de clonage positionnel ont montré l'association de DPP10 à la pathogenèse de l'asthme (**Allen et al., 2003**), Cette association a été répliquée dans d'autres populations (**Gao et al., 2010; Wu et al., 2010**). ADRA1 β codes pour le récepteur adrénergique $\alpha 1\beta$, qui est exprimé dans les poumons et il a été démontré qu'il induit une prolifération des cellules musculaires lisses. (**Hu et al., 1996**). Le gène PRNP situé sur le chromosome 20p code pour la protéine prion; la fonction de cette protéine n'est pas bien caractérisée. Récemment, elle a été liée à l'Inflammation par régulation de la phagocytose (**de Almeida et al., 2005**) et l'apoptose (**Sunyach et al., 2005**) et il a été démontré qu'elle était abondante dans les lavages alvéolaires des asthmatiques par rapport aux témoins (**Madore et al., 2010**). Le tableau 4 et la figure 7, résument les résultats significatifs des principaux GWAs pour l'asthme et ses phénotypes.

Tableau 3 : Les GWAs répliquées pour l'association de l'asthme au chromosome 17q21

Phénotypes	Groupes ethniques	Gènes	Références
Asthme de l'enfant	Européen	<i>GSDMB</i>	Moffatt et al., 2007
Asthme	Européen	<i>Inter-génique</i>	Sleiman et al., 2008
Asthme	Européen	<i>GSDMB</i>	Tavendale et al., 2008
Asthme de l'enfant	Européen	<i>IKZF3</i>	Bouzigon et al., 2008
Asthme	Portoricain	<i>ORMDL3</i>	Galanter et al., 2008
Asthme	Africain Américain	<i>ORMDL3</i>	Galanter et al., 2008
Asthme	Mexicain	<i>ORMDL3</i>	Galanter et al., 2008
Asthme de l'enfant	Japonais	<i>GSDMB</i>	Hirota et al., 2008
Asthme de l'enfant	Européen	<i>Inter-génique</i>	Rogers et al., 2009
Asthme de l'enfant	Mexicain	<i>ORMDL3</i>	Wu et al., 2009
Asthme de l'enfant	Européen	<i>GSDMB</i>	Bisgaard et al., 2009
Asthme de l'enfant	Chinois	<i>GSDMB</i>	Leung et al., 2009
Asthme	Européen	<i>GSDMB</i>	Flory et al., 2009
Asthme	Africain Américain	<i>Inter-génique</i>	Flory et al., 2009
Asthme de l'enfant	Européen	<i>GSDMB</i>	Halapi et al., 2010
Asthme de l'enfant	Coréen	<i>GSDMB</i>	Halapi et al., 2010
Asthme	Européen	<i>GSDMB</i>	Madore et al., 2008
Asthme de l'enfant	Européen	<i>GSDMB</i>	Moffatt et al., 2010

Tableau 4 : Résumé des GWAs présentant les associations les plus significatives avec l'asthme.

Phénotypes	SNPs	Chromosomes	Gènes	Références
Asthme de l'enfant	rs2786098	1	<i>CRB1</i>	Sleiman et al., 2010
Asthme de l'enfant	rs12134409	1	<i>CRB1</i>	Sleiman et al., 2010
Asthme de l'enfant	rs2111931	1	<i>DENND1B</i>	Sleiman et al., 2010
Asthme de l'enfant	rs1747815	1	<i>DENND1B</i>	Sleiman et al., 2010
Asthme de l'enfant	rs1775456	1	<i>DENND1B</i>	Sleiman et al., 2010
Asthme de l'enfant	rs1924518	1	<i>DENND1B</i>	Sleiman et al., 2010
Asthme de l'enfant	rs1775444	1	<i>DENND1B</i>	Sleiman et al., 2010
Asthme de l'enfant	rs12026183	1	<i>C1orf53</i>	Sleiman et al., 2010
Asthme de l'enfant	rs10924993	1	<i>ERO1LB</i>	Moffatt et al., 2007

Asthme de l'enfant	rs6716266	2	<i>ANTXR1</i>	Moffatt <i>et al.</i> , 2007
Eosinophilie	rs1420101	2	<i>IL1RL1</i>	Gudbjartsson <i>et al.</i> , 2009
Asthme	rs3771166	2	<i>IL18R1</i>	Moffatt <i>et al.</i> , 2010
Asthme de l'enfant	rs8179521	2	<i>PROC</i>	Moffatt <i>et al.</i> , 2007
Asthme de l'enfant	rs3791244	2	<i>HNMT</i>	Moffatt <i>et al.</i> , 2007
Eosinophilie	rs12619285	2	<i>IKZF2</i>	Gudbjartsson <i>et al.</i> , 2009
Eosinophilie	rs4857855	3	<i>GATA2</i>	Gudbjartsson <i>et al.</i> , 2009
Eosinophilie	rs4143832	5	<i>IL5</i>	Gudbjartsson <i>et al.</i> , 2009
Asthme	rs9273349	6	<i>HLA-DQB1</i>	Moffatt <i>et al.</i> , 2010
Asthme	rs13209883	6	<i>RNGTT</i>	Mathias <i>et al.</i> , 2010
Asthme de l'enfant	rs4512342	8	<i>NRG1</i>	Moffatt <i>et al.</i> , 2007
Asthme	rs1342326	9	<i>IL33</i>	Moffatt <i>et al.</i> , 2010
Asthme	rs10981955	9	<i>ZNF618</i>	Mathias <i>et al.</i> , 2010
Asthme de l'enfant	rs2666781	10	<i>DNAJC1</i>	Moffatt <i>et al.</i> , 2007
Asthme	rs16913596	10	<i>PRKG1</i>	Mathias <i>et al.</i> , 2010
Eosinophilie	rs3184504	12	<i>SH2B3</i>	Gudbjartsson <i>et al.</i> , 2009
Asthme	rs4264325	14	<i>C14orf180</i>	Mathias <i>et al.</i> , 2010
Asthme	rs744910	15	<i>SMAD3</i>	Moffatt <i>et al.</i> , 2010
Asthme de l'enfant	rs907092	17	<i>IKZF3</i>	Moffatt <i>et al.</i> , 2007
Asthme de l'enfant	rs9303277	17	<i>IKZF3</i>	Moffatt <i>et al.</i> , 2007
Asthme de l'enfant	rs11557467	17	<i>ZPBP2</i>	Moffatt <i>et al.</i> , 2007
Asthme de l'enfant	rs8067378	17	<i>GSDMB</i>	Moffatt <i>et al.</i> , 2007
Asthme de l'enfant	rs2305480	17	<i>GSDMB</i>	Moffatt <i>et al.</i> , 2010
Asthme de l'enfant	rs2305480	17	<i>GSDMB</i>	Moffatt <i>et al.</i> , 2007
Asthme de l'enfant	rs2290400	17	<i>GSDMB</i>	Moffatt <i>et al.</i> , 2007
Asthme de l'enfant	rs7216389	17	<i>GSDMB</i>	Moffatt <i>et al.</i> , 2007
Asthme de l'enfant	rs4795405	17	<i>ORMDL3</i>	Moffatt <i>et al.</i> , 2007
Asthme de l'enfant	rs2037986	21	<i>C21orf94</i>	Moffatt <i>et al.</i> , 2007
Asthme	rs2284033	22	<i>IL2RB</i>	Moffatt <i>et al.</i> , 2010
Asthme de l'enfant	rs2311978	X	<i>MAGEE1</i>	Moffatt <i>et al.</i> , 2007

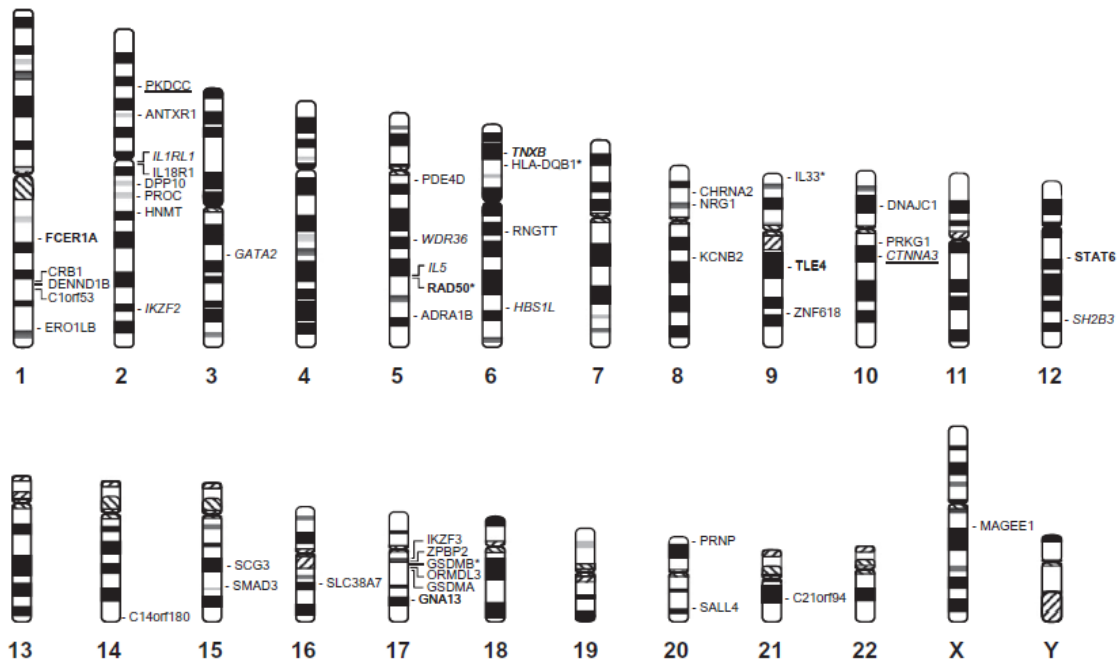


Figure 7: Les principaux locus probablement associés avec l'asthme identifiés par les études d'association du génome entier GWAs

4-6 Etudes d'interaction

Les études d'interaction entre les facteurs environnementaux et génétiques dans le développement de l'asthme, prennent de plus en plus d'importance depuis la dernière décennie (Wong *et al.*, 2004), mais elles sont confrontées à la puissance statistique des cohortes étudiées (Luan *et al.*, 2001). L'asthme est une maladie résultante de l'interaction des facteurs génétiques et environnementaux dans son développement, chaque gène possédant sa propre tendance à être exprimé, certains ayant un effet protecteur, d'autres contribuant au développement de la maladie (Hakonarson et Halapi, 2002). Or, à ce jour, la recherche dans le développement de modèles mathématiques considérant l'effet cumulatif de ces deux facteurs de risque est en exploration. En 1999, Barnes et ses collaborateurs ont conclu, dans leurs travaux sur les interactions gène-gène et gène-environnement dans l'analyse génétique moléculaire de l'asthme et de l'atopie, que les interactions des différents gènes sont sans aucun doute un préalable pour l'expression d'une maladie atopique telle l'asthme (Barnes, 1999). En d'autres termes, un polymorphisme dans un seul gène ne peut résulter à l'apparition des phénotypes de l'asthme ou de l'atopie. C'est l'interaction des gènes qui déterminera l'expression de la maladie. En conclusion, les gènes et l'environnement sont nécessaires mais pris isolément, sont insuffisants pour induire l'expression de la maladie (Barnes, 1999).

Étudier les interactions entre les gènes, représente un défi. Il est donc très important de sélectionner des gènes candidats dont le rôle physiologique est connu afin de trouver leur association, mais surtout afin de déterminer quelle est leur relation avec le développement de la maladie.

4-7 Gènes candidats à l'étude

4-7-1 Gène d'interleukine-18

L'interleukine-18 initialement appelée interferon- γ inducing factor (IGIF), fut secondairement nommée IL-18 en 1996 après la publication de sa séquence par l'équipe d'Uschio *et al* (1996). Elle est codée par un gène situé sur le bras long du chromosome 11, en position 22.2-22.3, dans le locus du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II (Nolan *et al.*, 1998), dans une région qui a été liée à l'asthme et l'atopie dans plusieurs études de liaison (Blumenthal *et al.*, 2003 ; Liang *et al.*, 2005) il est composé de 6 exons et son expression est régulée par deux promoteurs distincts en amont de l'exon 1 (promoteur 1) et de l'exon 2 (promoteur 2) (Bioniotto *et al.*, 2005 ; Sebelova , 2007). C'est une cytokine pro-

inflammatoire qui est produite par un grand nombre de cellules telles que les monocytes, les macrophages, des cellules de Langerhans, et les cellules dendritiques (Cardoso *et al.*, 2004 ; Novak *et al.*, 2005). L'IL-18 est synthétisé comme un précurseur inactif ou dépourvu d'activité biologique (pro-IL18), qui est un polypeptide de 24 kDa, et il est clivé par la caspase-1 (interleukin-1 beta converting enzyme ou ICE) à fin d'obtenir la forme active de 18 kDa qui présente une séquence peptidique de 192 acides aminés.

L'IL-18 est un membre de la famille IL-1 qui induit l'expression de l'IFN- γ , il oriente la différenciation des lymphocytes T vers un phénotype de réponse immunitaire de type T-helper 1 et il inhibe la synthèse d'IgE en agissant en synergie avec l'IL-12. IL-18 est essentielle pour la défense de l'hôte contre les bactéries, les champignons, les protozoaires et les virus grâce à l'induction de l'hôte à fin de produire d'IFN- γ . D'autre part, l'IL-18 pourrait également initier des réponses Th2 avec production d'IgE par la stimulation des mastocytes et les basophiles en synthétisant l'IL-4 et IL-13 dans certaines conditions (Heinzmann *et al.*, 2004 ; Kim *et al.*, 2007) (Figure 8).

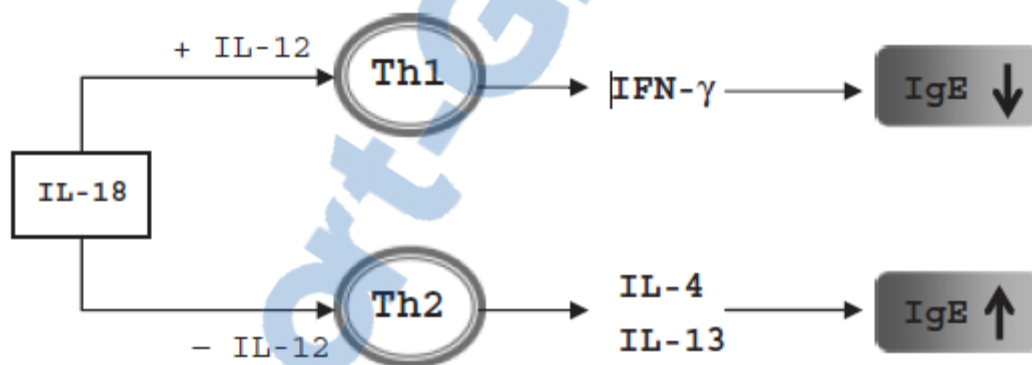


Figure 8 : Régulation de IgE par IL-18 (kim *et al.*, 2007).

IL-18 pourrait avoir un rôle important dans le développement de maladies inflammatoires comme l'asthme, l'implication de cette cytokine dans les maladies atopiques, a été étayée par des observations cliniques et épidémiologiques de l'augmentation des concentrations circulantes d'IL-18 dans le sérum de patients pendant la phase aiguë de l'asthme (Giedraitis *et al.*, 2001; Imboden *et al.*, 2006a). L'IL-18 augmente aussi la synthèse d'éotaxine dans des macrophages et des cellules épithéliales bronchiques, et induit le recrutement d'éosinophiles dans les voies aériennes (Wild *et al.*, 2000). Cependant, son rôle dans l'inflammation allergique, semble complexe, cette complexité est retrouvée dans des études utilisant l'administration exogène d'IL-18 chez des souris immunisées et provoquées avec un allergène. Dans certaines de ces études, l'administration d'IL-18 juste après

l'immunisation ou juste avant la provocation allergénique, exacerbe l'infiltration éosinophilique dans les voies aériennes (**Kumano *et al.*, 1999**). Alors que dans d'autres elle inhibe ce phénomène. Clairement, d'autres études sont nécessaires pour mieux comprendre les effets de l'IL-18 dans l'inflammation des voies aériennes (**Bachoual et Boczkowski, 2005**).

De nombreux polymorphismes dans le gène de l'IL-18 ont été associés à un risque accru à l'atopie et l'asthme (**Imboden *et al.*, 2006a**). Malheureusement, peu d'études ont été menées sur l'association entre les SNP dans le gène d'IL-18 et d'autres maladies allergiques (**Sebelova *et al.*, 2007**). Les polymorphismes du promoteur du gène de la cytokine IL-18, ont été associés à des niveaux variables de la production ARNm d'IL-18 et la production IFN- γ (**Stassen *et al.*, 2003 ; Liang *et al.*, 2005 ; Imboden *et al.*, 2006a**).

La recherche de variations nucléotidiques dans la région promotrice du gène capable d'affecter la synthèse de l'IL-18 et la production d'IFN- γ , a abouti à la découverte de plusieurs nouveaux polymorphismes. Parmi ces derniers, deux polymorphismes ont été décrits comme ayant un effet sur la quantité de d'IL-18 produite, leur conférant donc un rôle important dans la régulation de la réponse inflammatoire (**Hurme *et al.*, 1998**).

Le premier SNP (rs 187238) (-137G / C), lequel résulte du changement de base (cytosine par thymine), ce SNP est situé au nucléotide -137 dans le site de liaison d'un facteur de transcription appelé le facteur nucléaire H4TF-1. Le deuxième polymorphisme (rs 1946518) (-607C/A), c'est une substitution d'une cytosine par une adénine, il se trouve en position -607 dans le site de liaison pour facteur de transcription CREB (C-AMP Response Element binding protein). Ces deux SNPs ont une influence sur le niveau d'IL-18 produit *in vitro* par les monocytes périphériques (**Arimitsu *et al.*, 2006**) ; ils causent une répression dramatique de l'expression du promoteur du gène d'IL-18 (**Giedraitis *et al.*, 2001 ; Wen *et al.*, 2014**). Les allèles résultantes de ces polymorphismes ont été montré pour être associés à l'asthme dans de nombreuses populations (**Liang *et al.*, 2005 ; Arimitsu, 2006 ; Pawlik *et al.*, 2007 ; Lachheb *et al.*, 2007 ; Chen *et al.*, 2008 ; Wu *et al.*, 2012 ; Birbian *et al.*, 2013**).

4-7-2 Gène d'Interleukine-4:

Le gène *IL4* est localisé sur le chromosome 5q31-33, région chromosomique liée aux IgE sériques totaux rapportée dans deux populations différentes (**Mayers *et al.*, 1994 ; Palmer *et al.*, 1998 ; Hizawa *et al.*, 1998**). La région 5q31 a également été associée à l'HRB (**Postma *et al.*, 1995; Doull *et al.*, 1996 ; Ober *et al.*, 1998**), à l'éosinophilie (**Martinez *et al.*, 1998**) et à d'autres conditions reliées à l'asthme ou l'atopie (**Martinez *et al.*, 1998 ; Palmer *et al.*, 1998**). Le gène *IL4* code pour l'interleukine-4 (IL-4), une glycoprotéine de 153 acides aminés. Son poids moléculaire est 17.5 kDa. Il s'agit d'une cytokine pleiotropique produite essentiellement par les lymphocytes T (Th2), mais aussi par les polynucléaires basophiles et les mastocytes (**Nakayama *et al.*, 2000**). Elle agit sur des récepteurs de forte affinité qui sont exprimés sur de nombreux types de cellules, d'où un très large spectre d'actions (**Cavaillon, 1993**).

Cette cytokine peut être décrite comme la cytokine principale impliquée dans la pathogénèse des réactions allergiques, elle joue un rôle crucial dans le développement de l'asthme au travers de plusieurs mécanismes: D'abord elle contribue à la production d'IgE par les lymphocytes B (LB) conduisant à la dégranulation des mastocytes (**Pawankar *et al.*, 1997**). Par ailleurs, l'IL-4 stimule l'expression de chimiokines (comme l'éotaxine), de cytokines inflammatoires et de molécules de surface comme le récepteur IL-4R, le récepteur de haute affinité aux IgE (FcεRIβ) dans les mastocytes et les basophiles (**Pawankar *et al.*, 1997**), le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II dans les lymphocytes B ou les récepteurs de faible affinité (FCERII OU CD23) dans les lymphocytes B et les cellules phagocytaires mononucléées (**Defiance *et al.*, 1987**). Cette habilité de l'IL-4 à promouvoir l'expression de différentes molécules, contribue à l'inflammation et au remodelage du tissu pulmonaire dans l'asthme chronique (**Doucet *et al.*, 1998; Kabesch *et al.*, 2003**). L'IL-4 est aussi connue pour induire l'expression des molécules d'adhésion VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1) à la surface de l'endothélium, permettant ainsi l'extravasation des éosinophiles (**Moser *et al.*, 1992 ; Schleimer *et al.*, 1992**). Conjointement avec l'IL-13, elle agit sur les cellules des fibroblastes dans les voies respiratoires épithéliales, ce qui augmente la prolifération des muscles lisses (**Begge *et al.*, 2003**). Des effets supplémentaires qui paraissent d'une importance particulière pour l'asthme comprennent la stimulation des cellules produisant du mucus, ce qui implique également l'IL-4 dans la pathogénèse de remodelage des voies aériennes (**Doucet *et al.*, 1998; Dabbagh *et al.*, 1999**). L'inhalation de IL-4 recombinante humaine, a été montrée pour induire éosinophilie des voies aériennes et à

provoquer un certain degré d'hyperréactivité bronchique chez les asthmatiques atopiques (**Shi et al., 1998**). En outre, les études de biopsies bronchiques ont confirmé une expression accrue de IL-4 à la fois les taux d'ARNm et de protéines dans la muqueuse des voies aériennes de atopique et même les asthmatiques non atopiques par rapport aux témoins non asthmatiques (**Kips, 2001**). Enfin, un des rôles primordial de l'IL-4, est de promouvoir la différenciation des lymphocytes T naïfs en lymphocytes Th2 sécrétant de l'IL-4, IL-5 et IL-13 et contrôle négativement la différenciation en lymphocytes Th1 (**Paul, 1991; Steinke et Borish, 2001**). En absence d'IL-4, la différenciation des lymphocytes Th2 est inhibée ainsi que la sécrétion d'IL-4 et d'IL-5 (**Seder et al., 1992**).

Plusieurs études d'association ont été effectuées entre l'asthme et ses phénotypes et les différents SNPs connus du gène de l'IL-4. Le SNP IL4 (-590C/T) (rs2243250) est le plus connu et il consiste en changement d'une cytosine (C) par une thymine (T) à la position -590 du promoteur. Il est situé en amont de tous les éléments de contrôle du gène d'interleukine-4 (figure 10). cette substitution conduit à la transition d'un site de liaison faible pour le facteur de transcription NF-AT1 (GGAGAA) vers un site de liaison plus fort (GGAAAA), ce que influence l'expression du gène *IL-4* (**Nguyen et al., 2004**). Ce polymorphisme a été associé à l'asthme dans une cohorte cas-témoins composée d'un groupe de sujets asthmatiques (n = 306) et de sujets témoins provenant de la population générale japonaise (n = 215) (**Noguchi et al., 1998**). D'après ces travaux, l'allèle muté (IL4-590T) serait responsable d'une augmentation de l'expression du gène IL4 *in vitro* (**Noguchi et al., 1998**). Différentes études dans d'autres populations caucasiennes (Australie, Canada, Etats-Unis), ont également montré que l'allèle IL4 -589T est associé à la respiration sifflante (**Walley et Cookson, 1996**), à l'asthme, à l'atopie (**Zhu et al., 2000**) et à de faibles valeurs de VEMS (Volume expiratoire maximal en une seconde) chez des sujets asthmatiques (**Burchard et al, 1999**). Ces données et plusieurs autres, suggèrent que le polymorphisme IL4 (-590C/T) influencerait la sévérité de l'asthme (**Rosenwasser et al, 1995; Suzuki et al., 2000; Beghe et al, 2003**). En 2012, Huang et ses collaborateurs ont prouvé l'association de l'allèle T de ce polymorphisme avec l'asthme de l'enfant et l'élévation des IgE totaux dans une population chinoise (**Huang et al., 2012**).

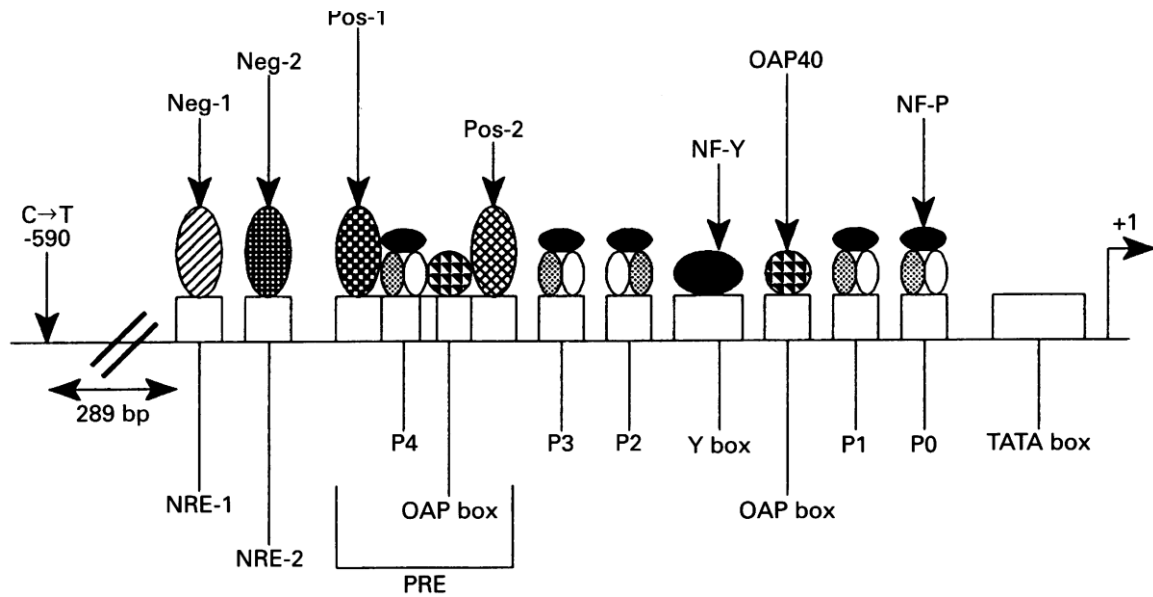


Figure 9 : Représentation schématique d'éléments de contrôle connus dans le promoteur de l'IL-4 par rapport au polymorphisme -590 C/T (Walley et cookson, 1996)

NRE-1 = élément régulateur négatif 1, NRE-2 = élément régulateur négatif 2, Neg1 = facteur nucléaire qui supprime la transcription d'IL-4, Neg2 = deuxième facteur nucléaire qui supprime la transcription d'IL-4, PRE = élément régulateur positif, NF-P = facteur nucléaire P, NF-Y = facteur nucléaire Y, Y Box = séquence de reconnaissance de NF-Y, P0, P1, P2, P3, P4 = séquences de reconnaissance de NF-P, OAP40= protéine associée à Oct-i, OAP box = séquence de reconnaissance d'OAP40, TATA = signal d'initiation de la transcription.

4-7-3 Gène d'Interféron- γ :

L'interféron- γ est le seul interféron de type II. Il s'agit d'une glycoprotéine de 17 à 25 kDa (Devos *et al.*, 1982 ; Sareneva *et al.*, 1995). Il est synthétisé par plusieurs cellules immunitaires telles que les lymphocytes de type Th1, les cellules NK et les cellules naturelles tueuses T (NKT). Il est également produit par les cellules présentatrices de l'antigène telles que les macrophages, les cellules dendritiques (CD4+, CD8+) et les lymphocytes B (Sad et Mosmann, 1995 ; van Boxel-Dezaire et Stark, 2007). L'IFN- γ est produit durant la réponse immunitaire innée sous l'influence et la régulation de plusieurs effecteurs tels que l'IL-12, IL-18 et IFN- α/β qui stimulent les cellules dendritiques et les cellules T favorisant la réponse immunitaire Th1 et atténuant la réponse Th2 (Frucht *et al.*, 2001 ; Munder *et al.*, 2001). Les rôles d'IFN- γ sont variés : Il induit l'expression des antigènes HLA de classe I surtout sur les cellules qui ont un faible niveau d'expression constitutionnel et les molécules de classe II notamment sur des cellules ne l'exprimant pas de manière constitutive (lymphocytes T) ; Il oriente la différenciation des monocytes en macrophages ; Seul ou en association avec le TNF- α , il joue un rôle essentiel dans la destruction des pathogènes intra-cellulaires au sein des macrophages, en régulant la transcription de gènes responsable de la production du monoxyde d'azot . ; Il joue aussi un rôle dans la commutation des gènes de chaînes lourdes, en favorisant la production des isotypes IgG2a et IgG3, et en inhibant celle des IgE ; Il est antagoniste des cellules Th2, en inhibant leurs clones *in vitro* (Lopez-Maderuelo *et al.*, 2003).

Dans le cadre de l'inflammation allergique de l'asthme, l'interféron- γ joue un rôle protecteur, car il module négativement la réaction allergique Th2 (Bachoual et Boczkowski, 2005) ; l'administration d'IFN- γ inhibe l'éosinophilie et le recrutement de lymphocytes CD4+ dans les bronches et l'hyperréactivité des voies aériennes chez des souris immunisées et provoquées avec un allergène (Hofstra *et al.*, 1998). Un effet similaire est observé avec la diminution d'expression de l'IFN- γ dans les cellules épithéliales des voies aériennes chez les patients asthmatiques (Le Thi Thu *et al.*, 2014) . ainsi, la souris délétée pour le gène de l'IFN- γ présente une augmentation de l'inflammation éosinophilique et de la concentration de cytokines Th2 dans le Liquide broncho-alvéolaire (Lwamoto *et al.*, 1993). L'IFN- γ a également été utilisé avec un certain succès dans le traitement de l'allergie (Cavaillon, 1994). Le gène d'IFN- γ est de 5.4 kb situé en 12q24. Il comprend quatre exons et trois introns (Gray et Goeddel, 1982 ; Naylor *et al.*, 1983). Comme la plupart des cytokines, la région codante du gène IFN- γ s'est avérée conservée (invariante) (Hayden *et al.*, 1997). Cependant, certains polymorphismes conduisant à différentes maladies incluant l'asthme, sont répertoriés

sur la région non codante du gène de l'IFN- γ (Cavet *et al.*, 2001). Le SNP le mieux étudié au niveau de ce gène se situe au niveau de l'intron 1 en +874, c'est une substitution d'une adénine par une thymine (rs2430561). Concernant les conséquences fonctionnelles de ce variant, des études réalisées *in vitro* ont montrés une augmentation de l'INF- γ en présence de l'allèle T par la création d'un site de liaison au facteur nucléaire-KB (NF-KB), ce dernier se lie préférentiellement à l'allèle T et il est corrélé à une forte production d'interféron γ (Pravica *et al.*, 2000 ; Rossouw *et al.*, 2003 ; Safonova *et al.*, 2011 ; Dwivedi *et al.*, 2013). Certaines études ont rapportés une association entre ce polymorphisme avec les phénotypes de l'asthme (Li *et al.*, 2007 ; Hussein *et al.*, 2009 ; Bermudez *et al.*, 2012 ; Abd-ElShafy *et al.*, 2014 ; Huang *et al.*, 2014 ; Yao *et al.*, 2015).

POPULATION

D'ÉTUDE

ET

MÉTHODES

1- Population d'étude

L'étude, que nous avons entreprise, est de type cas-témoins et a concerné 358 individus non apparentés qui résident à Oran. Leur recrutement s'est fait entre les années 2011-2014.

1-1 Groupe des cas

Le groupe des cas est composé de 176 patients (70 hommes et 106 femmes) souffrant d'asthme allergique. Les sujets asthmatiques sont des individus qui souffrent de l'oppression thoracique, une respiration sifflante, l'essoufflement et qui visitent l'hôpital régulièrement pour des séances de nébulisation avec des symptômes typiques de l'asthme.

Le recrutement a eu lieu au service de pneumologie du centre hospitalo-universitaire d'Oran, (CHUO). Au moment de recrutement, les patients étaient âgés entre 18 et 75 ans. L'ensemble des données a été recueilli au sein du service et auprès des médecins traitants.

1-2 Groupe des témoins

Le groupe des témoins comprend 182 volontaires (113 hommes et 69 femmes) âgés entre 21 et 65 ans. Les individus témoins, sont des sujets qui ne souffrent d'aucune maladie au moment de recrutement.

Le recrutement de ce groupe a été fait au sein du centre de transfusion sanguine de l'hôpital universitaire d'Oran (CHUO).

Les sujets, dont le sang a été prélevé, ont été soumis à un questionnaire retraçant les informations personnelles et familiales d'exposition aux différents facteurs de risque de la maladie (**Annexe 2**). Chaque questionnaire était accompagné d'un formulaire de consentement éclairé, signé par toutes les personnes participantes à cette étude (**Annexe 3**).

2- Méthodes

2-1 Collections des échantillons

4 à 5 ml de sang total ont été prélevés par les infirmières spécialisées, dans des tubes contenant l'EDTA (Ethylène Diamine Tétra α Acétique) à 0.5 molaire (M). Tous les échantillons ont été étiquetés soigneusement portant la numérotation d'enregistrement. Les malades ont été désignés par la mention «A» et les témoins par la mention «T», suivis d'un numéro correspondant. Toutes les précautions visant le respect de l'anonymat et la

confidentialité des informations ont été rigoureusement respectées. Les échantillons sanguins ont été conservés à -20°C jusqu'à l'extraction de l'ADN.

2-2 Extraction de l'ADN génomique

L'Extraction d'ADN génomique a été effectuée à partir du sang total selon la technique NaCl "Salting out", qui est une technique rapide, simple à réaliser, peu coûteuse et sans risque de contamination ou d'intoxication par des produits dangereux (**Loncle *et al.*, 1993**).

Développée par Miller et ses collaborateurs (**Miller *et al.*, 1988**).

La technique "Salting out" consiste en une élimination des protéines cellulaires par déshydratation et précipitation avec une solution saturée de chlorure de sodium NaCl. Le protocole de l'extraction par cette technique comporte 4 étapes principales:

1- Lyse des globules rouges et lavage des cellules

Le sang est initialement et vigoureusement mélangé à une solution hypotonique (TE 10/10) (**Annexe 4**) pour faire éclater les globules rouges, puis une incubation dans la glace pendant 30 minutes et une centrifugation à 3000 trs/min pendant 15 minutes. Le surnageant est éliminé et le culot est resuspendu dans 14 ml de TE 10/10 suivi d'une centrifugation à 3000 trs/min pendant 15 minutes. Trois à quatre lavages successifs sont effectués jusqu'à l'obtention d'un culot blanchâtre.

2- Lyse des globules blancs et protéolyses

Le culot cellulaire contenant les leucocytes est traité par 5ml de solution de lyse des globules blancs (**Annexe 4**) et 20µl de protéinase K, à 20mg/ml, qui digère les protéines cellulaires. Après homogénéisation, le mélange est incubé au bain-marie à 37°C pendant toute la nuit.

3- Précipitation des protéines par NaCl

Un volume de 2ml de NaCl 5M (**Annexe 4**) sont ajoutés à faire précipiter les protéines. Une agitation vigoureuse et une centrifugation pendant 10 minutes à 4000 trs/min, sont nécessaires pour obtenir un surnageant contenant probablement de l'ADN.

4- Précipitation de l'ADN par l'éthanol absolu

La précipitation de l'ADN est effectuée par l'addition de 2 volumes d'éthanol absolu à -20°C, ceci, en le précipitant par des retournements lents. C'est ainsi qu'une méduse va apparaître sous forme d'une masse filamenteuse blanchâtre.

La méduse aussi formée est récupérée et lavée dans un bain d'éthanol à 70%. Elle est séchée pendant quelques minutes à 37°C puis réhydratée et solubilisée dans 200 µl de TE 10/1 (**Annexe 4**) et conservée à 4°C.

2-3 Vérification de qualité et quantité d'ADN

2-3-1 Dosage d'ADN par spectrophotométrie

Le dosage d'ADN par spectrophotométrie constitue une méthode de choix non dénaturante et assez précise de quantification et de contrôle de pureté de l'ADN extrait (**Loncle et al., 1993**), deux lectures de densité optique ont été effectuées après une dilution de l'ADN extrait, une à $\lambda = 260$ nm qui correspond à la longueur d'onde d'absorption maximale des acides nucléiques, et une autre à 280 nm qui correspond à la longueur d'onde d'absorption maximale des protéines qui absorbe également à 260 nm.

Dans le but d'estimer la pureté de l'ADN extrait, le rapport $R = DO_{260} / DO_{280}$ doit être calculé. Un ADN de bonne qualité, dépourvu de contaminations doit présenter un rapport compris entre 1,8 et 2. Si R est inférieur à 1,8, indique contamination de la solution par les protéines. Une valeur supérieure à 2, indique une probable contamination par des ARN.

La concentration des ADN extraits peut être estimée par la formule suivante:

$$C = DO_{260nm} \times 50 \times F$$

50: Unité de densité optique à 260 nm de l'ADN double brin.

F : Le facteur de dilution.

2-3-2 Electrophorèse sur gel d'agarose

La qualité des ADNs extraits, est vérifiée par une électrophorèse sur gel d'agarose à 0,8% (**Annexe 4**). Le gel est coloré par le bromure d'éthidium (BET) lors de la préparation. L'électrophorèse est réalisée à 100V pendant 30 min. les ADNs sont visualisés aux rayons ultra violet (UV). Des bandes intactes non fragmentées, indiquent que l'ADN extrait, est de bonne qualité.

2-4 Génotypage des polymorphismes

La détection de l'ensemble des polymorphismes analysés dans notre travail, a été réalisée par la PCR-SSP (Polymerase Chain Reaction with Sequence Specific Primers), qui repose sur le principe de PCR, dont l'amplification est basée sur la sélection de couples d'amorces choisis dans les régions polymorphes.

2-4-1 Principe de la PCR

La PCR (*Polymerase Chain Reaction*), fut inventée par K. Mullis en 1983 et brevetée en 1985 (Mullis *et al*, 1986). Il s'agit d'une répllication in vitro de séquences spécifiques d'ADN. Cette technique consiste à utiliser de manière répétée, l'activité polymérasique d'une ADN polymérase thermorésistante (Taq polymérase), extraite d'une bactérie thermophile «*Thermus aquaticus*», par un procédé d'extension de deux amorces spécifiques encadrant la séquence à amplifier. La taille des oligonucléotides utilisés comme amorces, est généralement comprise entre 18 et 25 bases. La PCR permet de générer à des dizaines de milliards d'exemplaires un fragment d'ADN particulier (la séquence d'intérêt, ADN d'intérêt ou ADN cible) à partir d'un extrait d'ADN (ADN matriciel).

La PCR repose sur un processus cyclique de 3 périodes (**Figure 10**).

1. Dénaturation de la matrice

La première période s'effectue à une température de 94°C, dite température de dénaturation. À cette température, l'ADN matriciel qui sert de matrice, est dénaturé: les liaisons hydrogènes ne peuvent pas se maintenir à une température supérieure à 80°C et les ADN double-brin, se dénaturent en ADN simple-brin (ADNs monocaténaires).

2. L'hybridation des amorces

La deuxième période s'effectue à une température généralement comprise entre 40 et 70°C, dite température d'hybridation des amorces. La diminution de la température permet aux liaisons hydrogènes de se reformer et donc aux brins complémentaires de s'hybrider. Les amorces, courtes séquences monocaténaires complémentaires de régions qui flanquent l'ADN à amplifier, s'hybrident plus facilement que les longs brins d'ADN matriciel. Plus la température d'hybridation est élevée, plus l'hybridation est sélective, plus elle est spécifique.

3. L'élongation

À 72°C (dite la température d'élongation), l'enzyme se lie aux ADN monocaténaux amorcés et catalyse la réplication en utilisant les désoxy-ribonucléosides triphosphates présents dans le mélange réactionnel. Les régions de l'ADN matriciel en aval des amorces sont ainsi sélectivement synthétisées.

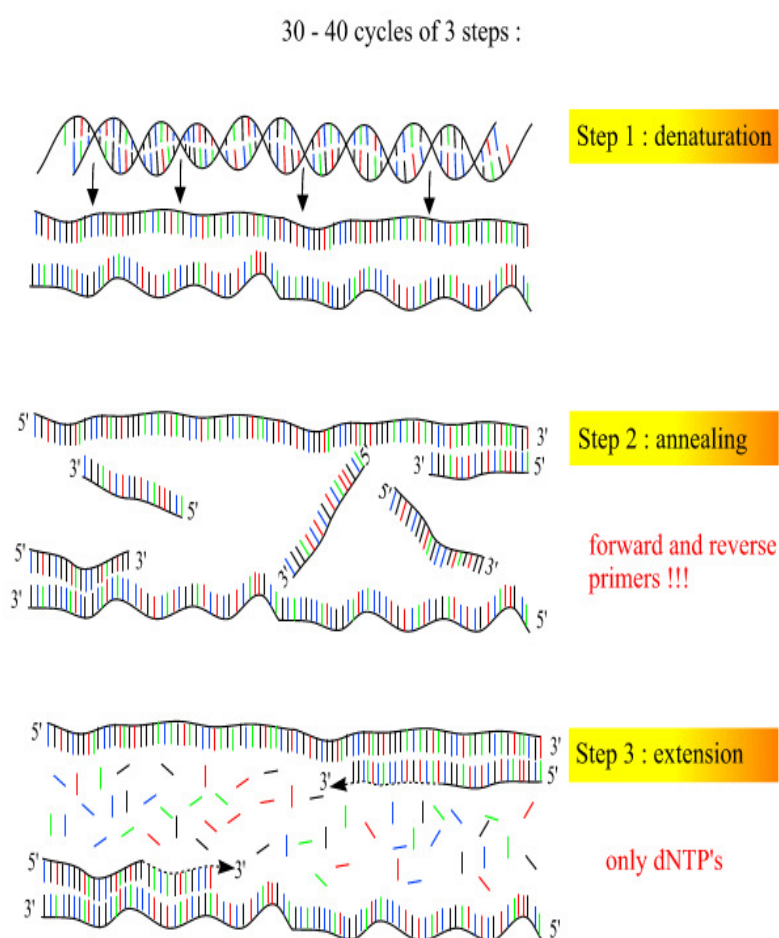


Figure 10 : Principe de la PCR.

<http://allserv.rug.ac.be/~avierstr/principles/pcr.html> consulté le 15/05/2017

2-5-2 Principe de la PCR-SSP

La réaction de polymérisation en Chain en utilisant des amorces spécifiques (PCR-SSP), est une méthode de détection simple et rapide (Bagheri *et al.*, 2006). Cette technique utilise

des amorces spécifiques avec des différences à l'extrémité 3' et identifie la présence des variantes alléliques par une simple amplification par PCR (Jarssen *et al.*, 2004).

Cette technique repose sur le principe suivant: seules les amorces possédant des séquences 3' terminales totalement appariées aux séquences cibles, permettent l'amplification de la zone d'intérêt. Les amorces partiellement appariées, ne conduisent pas à la formation de produits d'amplification positifs. Un jeu d'amorces contrôle complémentaire d'une région génomique conservée et ubiquitaire, est présent dans chaque réaction, Il sert de contrôle interne et est un indicateur de l'intégrité de la réaction PCR. Le génotypage par SSP requiert généralement de multiples réactions qui, lorsqu'elles seront analysées ensemble, permettront d'indiquer le génotype de l'échantillon. La visualisation des produits amplifiés, peut être réalisée en utilisant les systèmes d'électrophorèse sur gel d'agarose qui séparent les fragments amplifiés en fonction de leur taille (**Figure 11**).

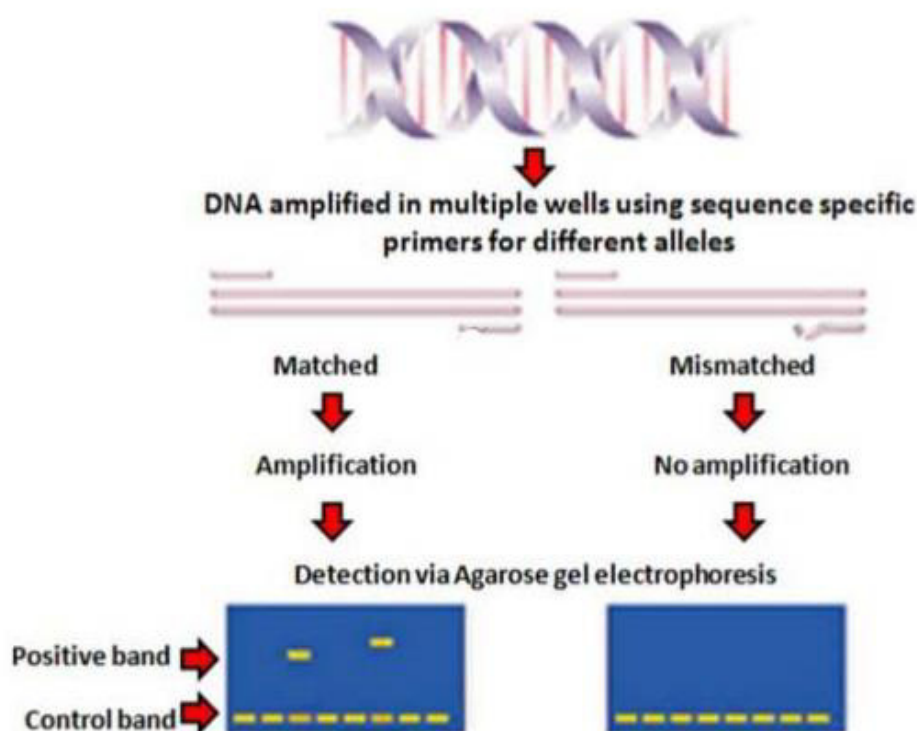


Figure 11: Le principe de la PCR-SSP

<http://www.topdiag.com/top:0.27tipizare.hla-ssp.html> consulté le 20/05/2017.

2-4-3 Détection du polymorphisme *IL-18* (-137G/C)

Le génotypage du polymorphisme *IL-18* (-137G/C), a été effectué en utilisant la réaction de polymérisation en chaîne en utilisant des amorces spécifiques (PCR-SSP).

La PCR a été performée en utilisant une amorce anti sens commune 5'-AGG AGG GCA AAA AGC ACT GG-3' et deux amorces sens 5'-CCC CAA CTT TTA CGG AAG AAA AG-3' et 5'-CCC CAA CTT TTA CGG AAG AAA AAC-3'. Le produit d'amplification est de taille de 261pb. une amorce sens contrôle 5'-CCA ATA GGA CTG ATT ATT CCG CA-3' a été utilisé pour donner un produit de 446pb qui couvre le site du polymorphisme et sert comme un contrôle positif (Baraska *et al.*, 2006) (Figure 12).



Figure 12: Séquence de la région d'intérêt avec les amorces utilisées pour la détection du polymorphisme *IL-18* (-137 G/C).

-  Amorce sens contrôle.
-  Amorce anti-sens commune.
-  Amorces spécifiques pour l'allèle G et C.
-  Site du SNP.

La réaction de PCR a été effectuée dans un volume final de 25µl, contenant 200 ng d'ADN, 0,25 µM de l'amorce sens contrôle 0.5 µM d'amorce reverse commune, et 0,25µM de l'amorce spécifique G ou l'amorce spécifique C, dNTP à 0,2mM, 1U de la Taq polymérase (Green Gotaq, Promega, Etats-Unis), 2,5 µl du tampon 10X, 2,5mM Mg Cl₂, et ainsi d'un volume d'eau distillée.

Les réactions de PCR ont été performées dans un thermocycleur (Eppendorf, Allemagne) selon le programme suivant:

Phase 01 :

- pré-dénaturation à 95°C pendant 2 minutes

Phase 02 : comprend 5 cycles

- Dénaturation à 95°C pendant 20 secondes
- Hybridation à 68°C pendant 1 minute.

Phase 03 : comprend 25 cycles.

- Dénaturation à 95°C pendant 40 secondes
- Hybridation à 62°C pendant 40 secondes.
- Elongation à 72°C pendant 40 secondes.

Phase 04 :

- Elongation finale à 72°C pendant 5 minutes.

Après l'amplification, 8µl de chaque produit de PCR sont analysés sur un gel d'agarose à 2% et soumis à une migration électrophorétique à 100 Volt (V) pendant 30 minutes en présence de BET (0.5µg/ml). Un marqueur de taille (100 pb, Sigma, Allemagne), a été utilisé pour permettre la détermination de la taille des fragments d'ADN amplifiés. Les résultats ont été visualisés sous UV grâce à la fluorescence du BET incorporé dans le gel.

2-4-4 Détection du polymorphisme *IL-18* (-607C/A)

Le génotypage du polymorphisme *IL-18* (-607C/A), a aussi été effectué en utilisant la PCR-SSP, en utilisant une amorce anti sens commune 5'-TAA CCT CAT TCA GGA CTT CC—3' et deux amorces sens 5'-GTT GCA GAA AGT GTA AAA ATT ATT AC-3' et 5'-GTT GCA GAA AGT GTA AAA ATT ATT AA-3'. Le produit d'amplification attendu est de taille de 196 bp. Une amorce sens contrôle 5'-CTT TGC TAT CAT TCC AGG AA-3' a été utilisé pour donner un produit de 301pb qui sert comme un contrôle interne (**Idé et al., 2004**). (**Figure 13**)

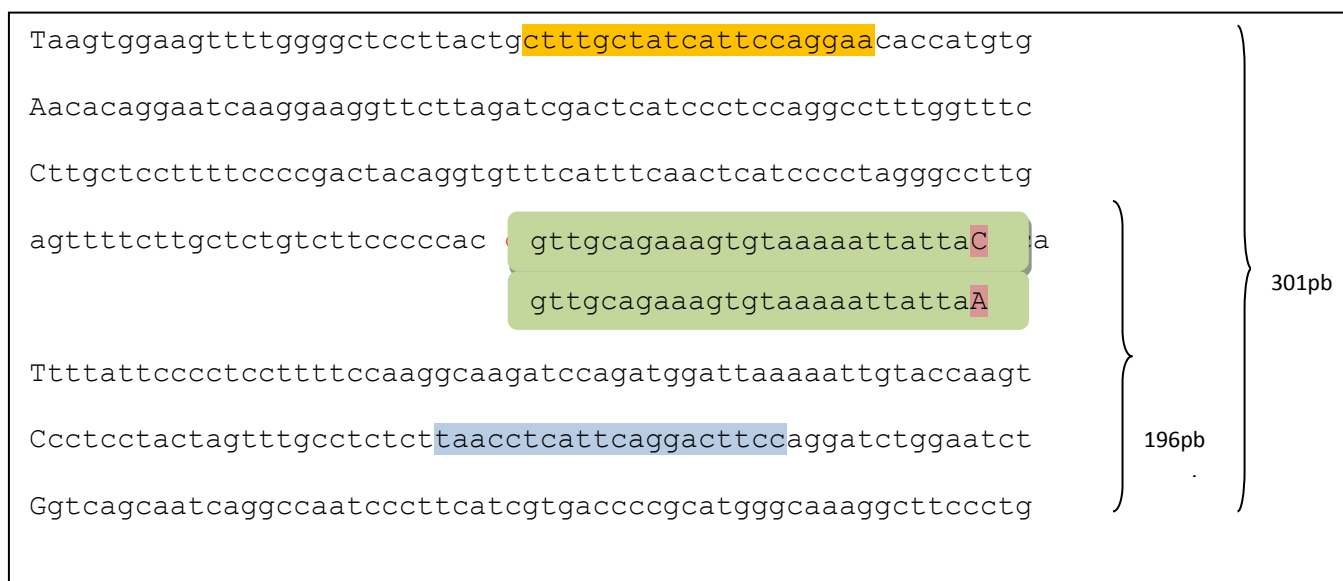


Figure 13: Séquence de la région d'intérêt avec les amorces utilisées pour la détection du polymorphisme *IL-18* (-607 C/A).

 Amorce sens contrôle  amorces spécifiques pour l'allèle C et A.
 Site du SNP  amorce anti-sens commune

L'amplification a été réalisée dans un volume final de 25µl contenant 200 ng d'ADN, 0,25 µM de l'amorce sens contrôle 0,5 µM d'amorce reverse commune, et 0,25µM de l'amorce spécifique à l'allèle C ou l'amorce spécifique à l'allèle A, dNTP à 0,2mM et 1U de la Taq polymérase (Green Gotaq, Promega, Etats-Unis), 2,5 mM MgCl₂, 2.5 µl du tampon 10X et QSP de H₂O.

Les réactions de PCR ont été effectuées dans un thermocycleur (Eppendorf, Allemagne) selon le programme suivant:

Phase 01 :

Pré-dénaturation à 95°C pendant 2 minutes.

Phase 02 : Comprend 7 cycles

- Dénaturation à 95°C pendant 20 secondes
- Hybridation à 64°C pendant 40 secondes
- Elongation à 72°C pendant 40 secondes

Phase 03 : Comprend 25 cycles

- Dénaturation à 95°C pendant 20 secondes
- Hybridation à 57°C pendant 40 secondes
- Elongation à 72°C pendant 40 secondes

Phase 04 :

Elongation finale à 72°C pendant 5 minutes.

Après la PCR, la lecture des génotypes était directement faite après une migration sur un gel d'agarose à 2% pendant 30 min à 100 Volt, colorée par BET lors de la préparation, puis visualisée sur UV.

2-4-5 Détection du polymorphisme *IL-4* (-590 C/T)

La détection de ce polymorphisme a aussi été faite par PCR-SSP, la PCR, a été performée en utilisant une amorce anti-sens commune 5'-TTT GCA TAG AAG GGA GAG GCC-3' et deux amorces sens 5'-CTA AAC TTG GGA GAA CAT TGT CC-3' et 5'- CTA AAC TTG GGA GAA CAT TGT CT-3' la PCR nous donne un produit d'amplification de 251bp. pour le contrôle interne, une amorce sens 5'-AAC TAG GCC TCA CCT GAT ACG-3' a été utilisée qui donne avec l'amorce anti-sens commune un produit de 291pb (Mullighan *et al.*, 1999) (figure 14).

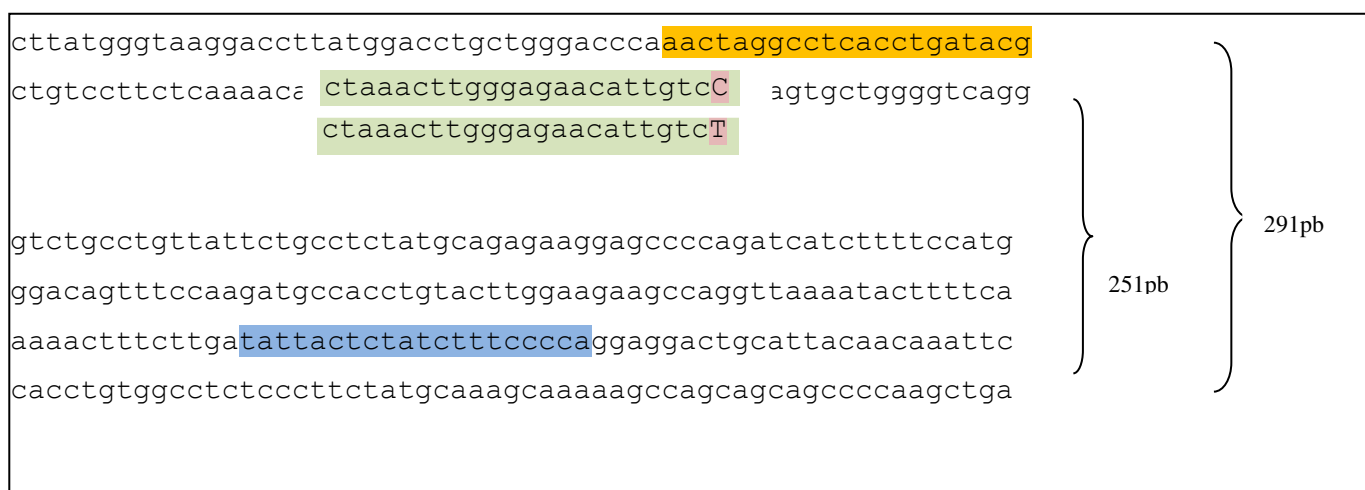


Figure 14: Séquence de la région d'intérêt avec les amorces utilisées pour la détection du polymorphisme *IL-4* (-590 C/T).

- Amorce sens contrôle.
- Amorce anti-sens commune.
- Amorces spécifiques pour l'allèle C et T.
- Site du SNP.

La réaction d'amplification a été effectuée dans un volume final de 25µl, contenant 200 ng d'ADN , 0.25 µM de l'amorce sens contrôle, 0.5 µM d'amorce reverse commune et 0,25µM de l'amorce spécifique à l'allèle C ou l'amorce spécifique à l'allèle T, 0.2 mM de dNTP et 1U de la Taq polymérase (Green Gotaq, Promega, Etats-Unis), 2,5 µl du tampon 10X, 2,5 mM du MgCl₂ et un volume de H₂O.

Les réactions de PCRs ont été performées dans un thermocycleur (Applied Biosystems, Allemagne) selon les conditions suivantes:

Phase 01 :

Pré-dénaturation à 95°C pendant 1 minute

Phase 02 : Comprend 7 cycles

- Dénaturation à 95°C pendant 25 secondes
- Hybridation à 70°C pendant 44 secondes

Phase 03 : Comprend 21 cycles

- Dénaturation à 95°C pendant 25 secondes
- Hybridation à 65°C pendant 45 secondes
- Elongation à 72°C pendant 50 secondes

Phase 04 : Elongation finale à 72°C pendant 2 minutes

Après l'amplification, les produits de PCR ont été déposés sur un gel d'agarose à 2 % et soumis à une migration à 100 Volts pendant 30 minutes en présence de bromure d'éthidium (BET) (0.5µg/ml). Après migration, les génotypes ont été directement lus sous UV.

2-4-6 Détection du polymorphisme *IFN-γ* (+874 A/T):

La caractérisation de ce polymorphisme a aussi été réalisée par PCR-SSP en utilisant les amorces suivantes : amorce anti-sens commune 5'- TCA ACA AAG CTG ATA CTC CA- 3', amorce sens spécifique à l'allèle T 5'-TTC TTA CAA CAC AAA ATC AAA TCT-3' et amorce sens spécifique à l'allèle A 5'-TTC TTA CAA CAC AAA ATC AAA TCA-3' (**Rad et al., 2010**) (**figure 15**).



Figure 15: Séquence de la région d'intérêt avec les amorces utilisées pour la détection du polymorphisme *IFN-γ* (+874 A/T).



Amorce anti-sens commune



Amorces spécifiques pour l'allèle T et A



Site du SNP

L'amplification a été réalisée dans un milieu réactionnel contenant 200 ng d'ADN, 0.25 μ M d'amorce reverse commune, et 0,25 μ M de l'amorce spécifique à l'allèle A ou l'amorce spécifique à l'allèle T, dNTP à 0.2mM et 1U de la Taq polymérase (Green Gotaq, Promega, Etats-Unis), 2.5 mM $MgCl_2$, 2.5 μ l du tampon 10X et un volume de H₂O distillée. Les réactions de PCR ont été effectuées dans un thermocycleur (Applied Biosystems, Allemagne).

Les conditions d'amplification sont les suivantes :

Phase 01 : Pré-dénaturation à 95°C pendant 1 minute

Phase 02 : comprend 10 cycles

- Dénaturation à 95°C pendant 15 secondes
- Hybridation à 62°C pendant 50 secondes
- Elongation à 72°C pendant 40 secondes

Phase 03 : comprend 20 cycles

- Dénaturation à 95°C pendant 20 secondes

- Hybridation à 56°C pendant 50 secondes
- Elongation à 72°C pendant 50 secondes

Phase 04 :

Elongation finale à 72°C.pendant 2 minutes

Les produits d'amplification ont été vérifiés par migration électrophorétique sur gel d'agarose à 2%, puis visualisés sur UV.

2-5 Analyse statistique:

Les données ont été analysées en utilisant le logiciel SPSS (Statistical Program for the Social Science) version 22.0.

La première démarche statistique consiste à caractériser les différents facteurs de risque de l'asthme chez les populations cas et témoins. L'âge est une variable quantitative qui a été exprimée en moyenne (M) $\pm$ déviation standard (DS). Elle est obtenue par la somme des valeurs observées divisée par le nombre d'observations. L'écart type ($\pm$ SD) est ensuite estimé pour mesurer la dispersion de l'âge dans notre population d'étude. Plus l'écart type est faible, plus les valeurs sont regroupées autour de la moyenne. Toutes les données ont été décrites en nombre (n) et pourcentage (%). La comparaison de la distribution des différentes variables entre les deux populations a été effectuée à l'aide du test d'homogénéité du Khi2 (X^2) de Pearson.

Pour chaque polymorphisme (SNP), les deux populations ont été classées en 3 groupes: homozygotes pour l'allèle normal, hétérozygote et homozygote pour l'allèle muté. Le calcul des fréquences alléliques et génotypiques a été effectué à partir du nombre de sujets exprimant l'allèle ou le génotype en question. La vérification du respect de l'équilibre de Hardy Weinberg dans la distribution des polymorphismes au sein de la population des témoins a été réalisée grâce à un test de conformité de Khi2 (X^2). Ce test a été utilisé pour comparer la fréquence de chacun des allèles avec sa fréquence attendue selon les lois de répartition homogène dans la population générale de Hardy-Weinberg.

L'association entre un polymorphisme et la maladie est attribuée par la recherche d'une distribution significative des fréquences de ce polymorphisme entre les cas et les témoins. Le test utilisé est le Khi carré, il permet d'estimer si la différence de distribution est due au hasard ou à l'effet du polymorphisme étudié dans le développement de la maladie.

L'évaluation de l'association des polymorphismes avec le risque de développer l'asthme a été réalisé par l'utilisation du modèle de régression logistique simple. Dans la régression logistique, l'évaluation de l'influence de ces polymorphismes est déterminée en calculant

l'odds ratio (OR) de chaque polymorphisme avec un intervalle de confiance (IC) fixé à 95%. L'OR est une mesure statistique qui permet d'estimer l'association en comparant les allèles et/ou les génotypes du groupe «cas» et du groupe «témoin». L'association est jugée statistiquement significative lorsque l'intervalle de confiance à 95 % de l'OR ne comporte pas la valeur 1

Dans le but d'étudier l'association entre certains facteurs de risque liés à l'hôte (sexe, antécédents personnels allergiques et antécédents familiaux d'asthme) et les polymorphismes étudiés chez de la population d'asthmatiques un test X^2 a été utilisé.

Les résultats sont considérés significatifs lorsque la valeur de la probabilité p (*valeur p*) est égale ou inférieure à 0,05 ($p \leq 0,05$). La valeur « p » représente le degré de signification qui correspond à la probabilité qu'un résultat d'une étude épidémiologique puisse être attribué au seul hasard.

RÉSULTATS

Résultats

1- Caractéristiques générales et cliniques de la population étudiée

Un échantillon de 358 individus de la population algérienne de la ville d'Oran, comprenant 176 asthmatiques et 182 témoins, a été impliqué dans cette étude. Les caractéristiques générales et cliniques de la population étudiée sont représentées dans le tableau 5. D'après ce tableau nous remarquons que l'âge moyen des patients est de $45,35 \pm 14,326$ alors qu'il est de $35,62 \pm 12,033$ chez les témoins. Cette différence est statistiquement significative ($p < 0.0001$). Il n'y a pas de différence statistiquement significative entre les patients asthmatiques et les contrôles en terme de sexe et l'environnement (rural ou urbain) ($p > 0.05$).

Cependant, il y a une différence significative par rapport aux autres caractéristiques (consanguinité parentale, antécédents personnels allergiques, antécédents familiaux d'asthme, pollution professionnelle et atmosphérique, pollution domestique, humidité, tabagisme actif, passif et les animaux à domicile).

2-Extraction et vérification de la qualité et la quantité de l'ADN génomique

L'ADN génomique a été extrait à partir de 358 échantillons par la méthode salting-out. Les valeurs du rapport R ($DO\ 260\text{ nm} / DO\ 280\text{ nm}$) de la plupart des échantillons, signifie qu'il y a une contamination par les ARN, alors que les concentrations des ADN extraits, varient entre $435\mu\text{g/ml}$ et $4525\mu\text{g/ml}$ (**Annexe 5, 6**).

L'électrophorèse sur gel d'agarose à 0,8% des ADNs génomiques, nous a renseignés sur une bonne qualité des ADN extraits (**Figure 16**).

3 Association du polymorphisme -137G/C de l'*IL-18* avec le risque d'asthme

3-1 Etude de la distribution des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme -137G/C du gène d'*IL-18* chez les cas d'asthme et les témoins

La figure 17 montre les produits d'amplification par PCR-SSP du gène de l'*IL-18* à la position -137 chez des sujets asthmatiques. Les deux amorces spécifiques produisent un fragment de 261 pb. La taille du fragment contrôle est de 446 pb.

La distribution des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme -137 G/C du gène *IL-18* chez les cas et les témoins sains, est rapportée dans le tableau 6. Le groupe des témoins étant en équilibre d'Hardy-Weinberg (X^2 calculé = 0,97).

Tableau 5: Caractéristiques générales et cliniques de la population étudiée

Paramètres	Cas (n=176) N(%)	Témoins (n=182) N(%)	P
Sexe, H/F	70/106 (40/60)	113/69 (62/38)	NS
Age	45.35±14,326	35.62±12,033	P<0,0001
Consanguinité Parentale	47 (27)	29 (16)	P<0,05
Antécédents personnels allergiques	147 (84)	46 (26)	P<0,05
-Pollution professionnelle	66 (38)	33 (18)	P<0,0001
- Pollution atmosphérique	107 (61)	30 (16)	P<0,0001
Pollution domestique	110 (63)	50 (27)	P<0,0001
-Humidité	132 (75)	95 (52)	P<0,0001
Tabagisme actif	42 (24)	83 (46)	P<0,0001
Tabagisme passif	58 (33)	100 (55)	P<0,0001
Environnement Urban / Rural	155/21 (88/12)	154/28 (85/15)	NS
Animaux à domicile	41 (23)	25 (14)	P<0,01
Antécédents familiaux d'asthme	75 (43)	36 (20)	P<0,0001

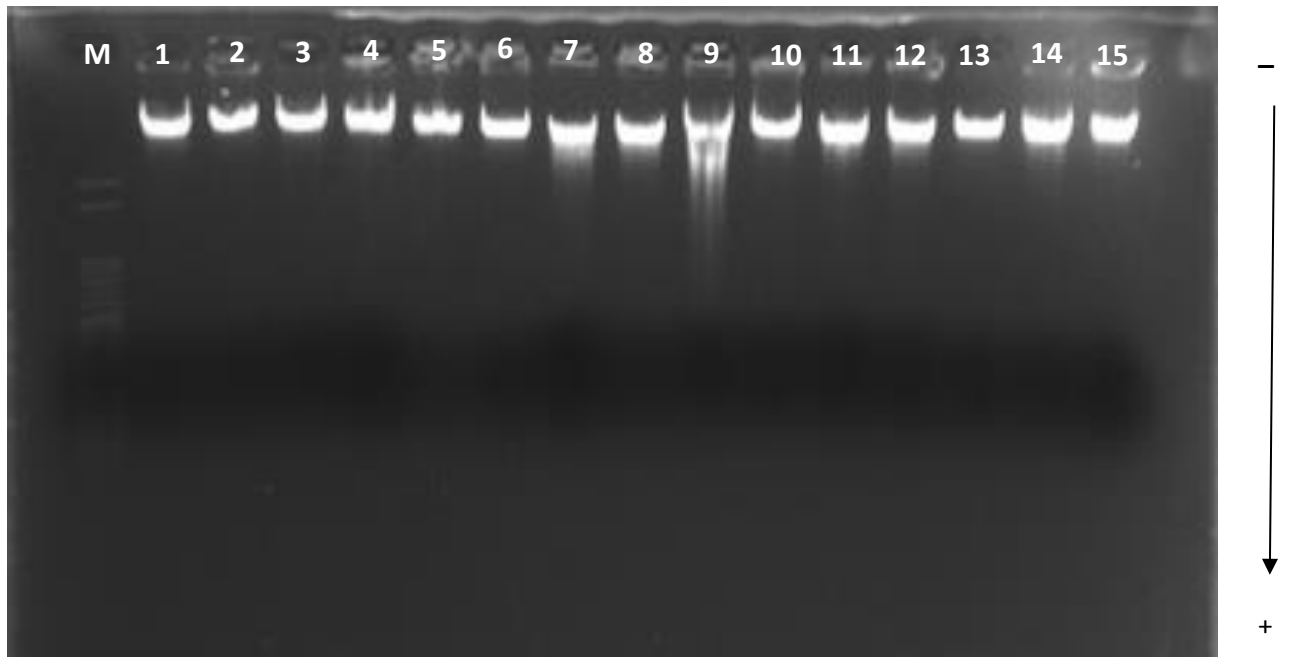


Figure 16 : Figure représentative d'électrophorèse sur gel d'agarose 1,5 % des ADNs génomiques.

M : marqueur de taille

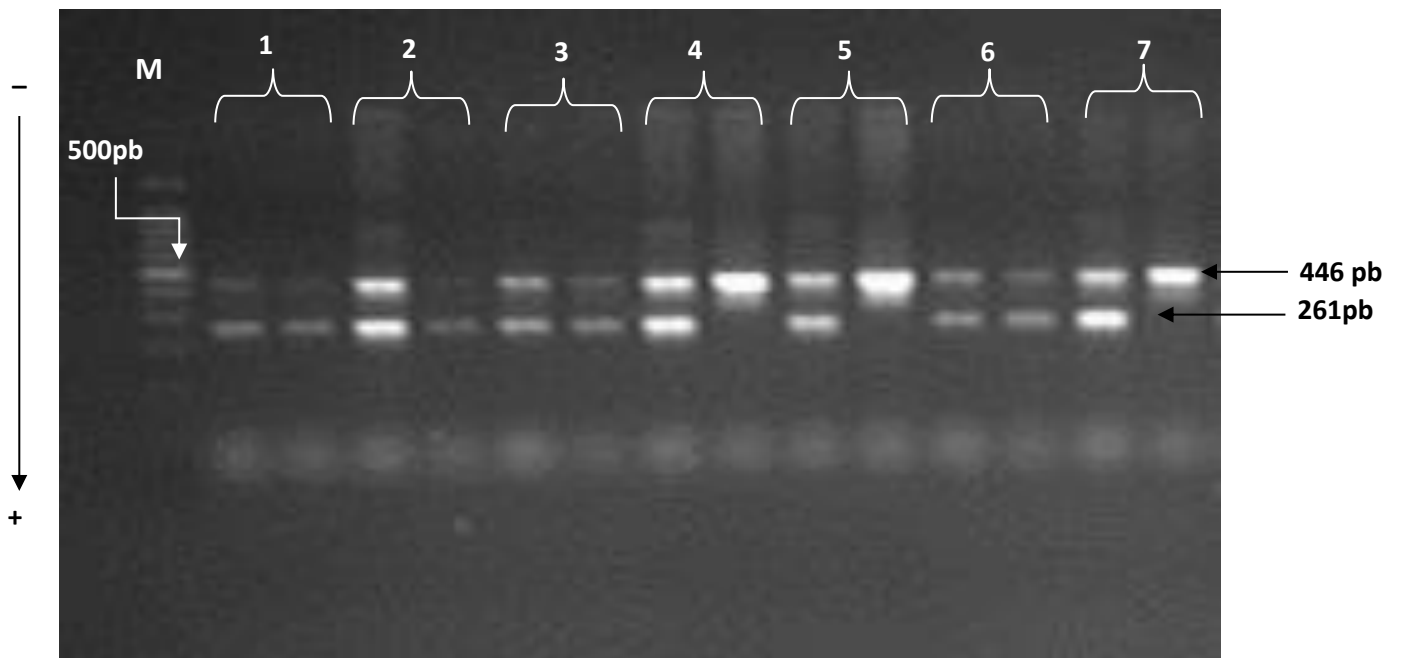
1 →15 : Echantillons d'ADN analysés

La distribution des fréquences alléliques du polymorphisme -137G/C du gène *IL-18* dans la population des témoins explorée, nous a révélé que l'allèle -137G est l'allèle majeur avec une fréquence de 72% et que l'allèle -137C qui constitue l'allèle mineur, est présent avec une fréquence d'environ 28%. Par ailleurs, l'analyse des distributions des fréquences alléliques de ce polymorphisme entre le groupe des asthmatiques et les témoins, montre que la fréquence de l'allèle majeur -137G était 60% (204) parmi les patients asthmatiques tandis qu'elle était 72% (244) chez les témoins et la fréquence de l'allèle mineur -137C était 40% (136) chez les asthmatiques tandis qu'elle était 28% (96) chez le groupe des témoins, la différence était significative ($P = 0.001$, $OR = 1,694$ [1.230-2.335]). (**Tableau 6**).

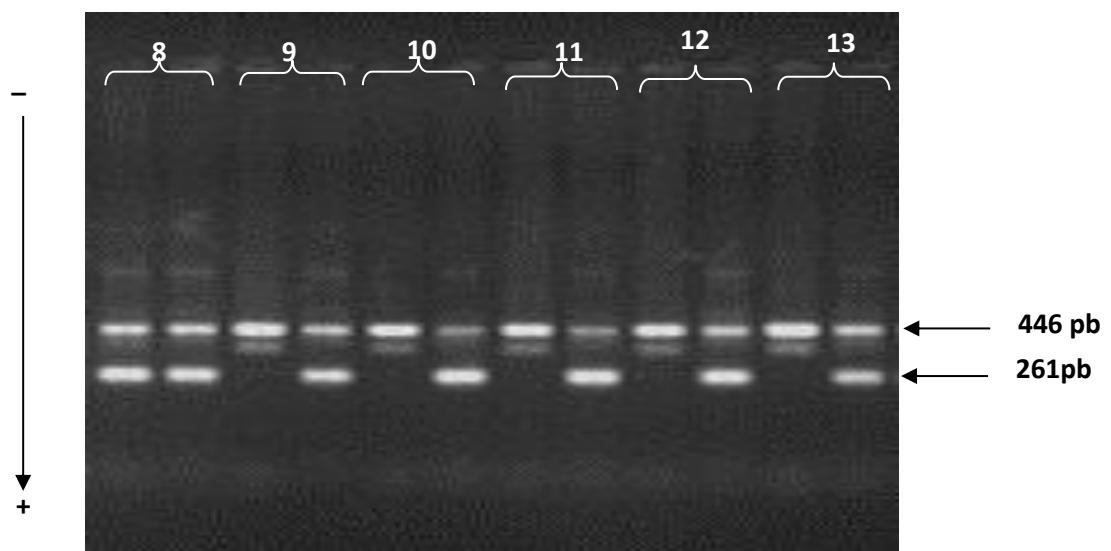
Concernant la distribution des fréquences génotypiques de ce SNP, les fréquences des trois génotypes chez les asthmatiques sont : 35% des asthmatiques sont de génotype GG, 50% sont de génotype GC et 15 % présentent le génotype CC. Par ailleurs, chez les sujets témoins, les fréquences des génotypes sont les suivantes: 51% des témoins sont de génotype GG, 41% sont de génotype GC et 8% sujets sont de génotype CC.

La distribution des fréquences des génotypes groupés GC+CC était de 65% dans le groupe de cas et de 49% dans le groupe des témoins.

L'analyse de la différence de distribution des fréquences génotypiques entre les patients asthmatiques et les témoins, s'avère statistiquement significative avec une valeur de $p = 0,005$. Ceci a été confirmé par l'analyse de la distribution des génotypes groupés ($p = 0,002$; $OR = 1,972$ [1,275-3,050]) (**Tableau 6**).



(a)



(b)

Figure 17 (a, b): Figure représentative d'électrophorèse sur gel d'agarose 2% des produits de PCR du gène *IL-18* à la position -137 G / C

M : marqueur de taille

1, 2, 3, 6 et 8: individus hétérozygotes GC

4, 5, et 7 : individus homozygotes GG

9, 10, 11, 12 et 13 : individus homozygotes CC

Tableau 6: Distribution des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme (– 137 G/C) de l'IL-18 dans les groupes d'asthmatiques et des témoins.

	Asthmatiques (170) N(%)	Témoins (170) N(%)
Génotypes		
GG	59 (35)	87 (51)
GC	86 (50)	70 (41)
CC	25(15)	13 (8)
χ^2		10,80
valeur P		0,005
Génotypes groupés		
GG	59 (35)	87 (51)
GC+CC	111 (65)	83 (49)
χ^2		9,411
valeur P		0,002
OR		1,972
(95% CI)		(1,275-3,050)
G	204 (60)	244 (72)
C	136 (40)	96 (28)
χ^2		10.468
valeur P		0.001
OR		1,694
(95% CI)		(1.230-2.335)

GG homozygote pour l'allèle normal, GC hétérozygote, CC homozygote pour l'allèle muté. G:allèle normal, C: allèle muté. χ^2 : Khi Deux, OR : Odds ratio, CI : Intervalle de confiance. La valeur P < 0,05 indique la signification statistique.

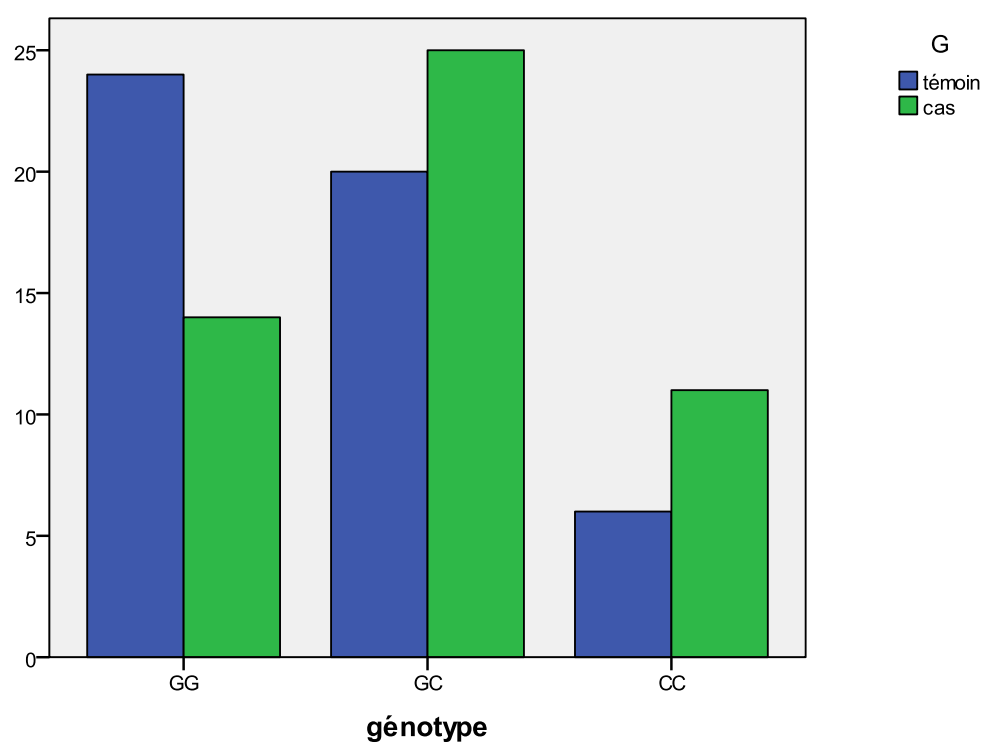


Figure 18: Les fréquences génotypiques du polymorphisme d'*IL-18* à la position -137 chez les asthmatiques et les témoins

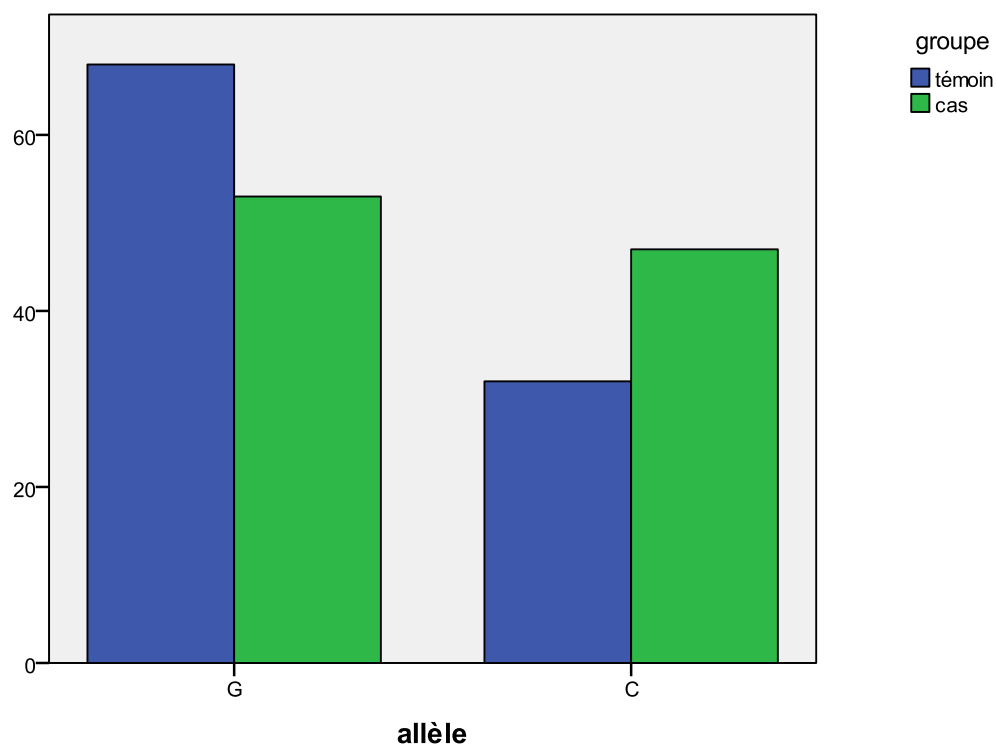


Figure 19: Distribution des fréquences alléliques du polymorphisme -137 G/C du gène de l'*IL-18* chez les asthmatiques et les témoins.

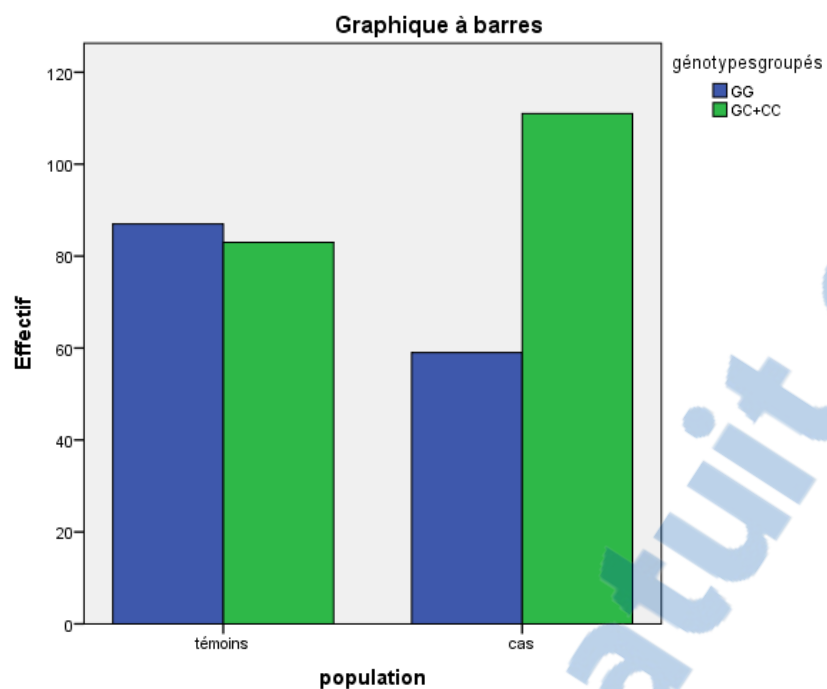


Figure 20: Distribution des génotypes groupés du polymorphisme -137 G/C du gène de l'*IL-18* chez les asthmatiques et les témoins.

3-2 Impact du polymorphisme -137G/C du gène *IL-18* sur la survenue de l'asthme selon le sexe

Les résultats des distributions alléliques et génotypiques du polymorphisme -137G/C de l'*IL-18* parmi les hommes et les femmes chez les cas d'asthme sont représentés dans le tableau 7.

D'après ce tableau, nous avons constaté une différence significative par rapport aux fréquences génotypiques et alléliques entre les hommes et les femmes asthmatiques. La prévalence de l'allèle polymorphe C était significativement plus élevée chez les femmes souffrant d'asthme comparées aux hommes. En effet, l'étude en régression logistique, a montré que le risque d'avoir l'allèle polymorphe chez les femmes asthmatiques est de 1,1913.

3-3 Impact du polymorphisme -137G/C du gène *IL-18* sur la survenue de l'asthme selon les antécédents familiaux d'asthme

Dans la présente étude, nous avons trouvé que 41% des asthmatiques avaient des antécédents familiaux d'asthme contre 21% chez les sujets sains.

Dans l'objectif d'étudier l'association entre le polymorphisme *IL-18* (-137G/C) et les antécédents familiaux d'asthme, un test de X^2 a été utilisé et les résultats sont présentés dans le tableau 8. Selon ce tableau nous observons une différence statistiquement significative pour les différents génotypes chez les cas d'asthme en fonction de la présence ou l'absence d'antécédents familiaux.

L'allèle polymorphe -137C était significativement plus élevé chez les asthmatiques ayant des antécédents familiaux d'asthme par rapport aux cas n'ayant pas ce facteur de risque ($p < 0.05$).

3-4 Impact du polymorphisme -137G/C du gène *IL-18* sur la survenue de l'asthme selon les antécédents personnels allergiques

Lors de cette étude, nous avons trouvé que la fréquence des asthmatiques qui avaient des antécédents allergiques personnels, était de 85% contre seulement 27% chez les témoins (tableau 5).

Le test X^2 était utilisé pour chercher l'association entre le polymorphisme *IL-18* (-137G/C) et les antécédents personnels allergiques chez les cas d'asthme (tableau 9). D'après le tableau, aucune différence statistiquement significative n'est révélée pour la distribution génotypique et allélique en fonction des antécédents personnels allergiques chez les cas ($p > 0.05$).

Tableau 7 : Distribution allélique et génotypique du polymorphisme -137G/C de l'*IL-18* parmi les hommes et les femmes chez les asthmatiques

	Les cas	
	Hommes (68) n (%)	Femmes (102) n (%)
Génotypes		
GG	32 (47)	27 (27)
GC	30 (44)	56 (55)
CC	6 (9)	19 (19)
$X^2=5,588$		
P= 0,014		
Allèles		
G	94 (69)	110 (54)
C	42 (31)	94 (46)
$X^2= 7.851$		
P=0.005		
OR= 1.913		
95% IC (1.112-3.018)		

Tableau 8 : Distribution des fréquences allélique et génotypique du polymorphisme *IL-18* (-137G/C) chez les cas selon la présence des antécédents familiaux

	Les cas	
	Présence (70) n (%)	Absence (100) n (%)
Génotypes		
GG	18 (26)	41 (41)
GC	37 (53)	49 (49)
CC	15 (21)	10 (10)
$X^2=6,550$		
P= 0,038		
Allèles		
G	73 (52)	131 (66)
C	67 (48)	69 (34)
$X^2= 6,122$		
P= 0,013		
OR= 0,574		
95% IC (0,369-0,892)		

Tableau 9 : Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme *IL-18* (-137G/C) chez les cas selon la présence des antécédents personnels allergiques.

Génotypes	Asthmatiques	
	Présence (144)	Absence (26)
	n (%)	n (%)
GG	49 (34)	10 (39)
GC	75 (52)	11 (42)
CC	20 (14)	5 (19)
$X^2 = 0,968$		
$P = 0,616$		
Allèles		
G	173 (60)	31 (60)
C	115 (40)	21 (40)
$X^2 = 0,004$		
$P = 0,951$		
OR = 1,019		
95% IC (0,558-1,861)		

4- Association du polymorphisme -607C/A de l'*IL-18* avec le risque d'asthme

4-1 Etude de la distribution des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme -607C/A du gène d'*IL-18* chez les cas d'asthme et les témoins

La figure 21 montre les produits d'amplification par PCR du gène de l'*IL-18* à la position -607 chez des sujets asthmatiques. Pour ce polymorphisme, les deux amorces spécifiques produisent un fragment de 196 pb. La taille du fragment contrôle est de 301 bp.

Le tableau 10 présente la distribution des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme -607C/A du gène *IL-18* chez 173 malades et 180 témoins de la population de l'ouest algérien. Le groupe des témoins est en équilibre d'Hardy-Weinberg (X^2 calculé = 1,00).

La distribution des fréquences alléliques de ce polymorphisme chez les témoins, montre que l'allèle -607C est l'allèle majeur avec une fréquence de 67% et l'allèle -607A est l'allèle mineur avec une fréquence de 33%. Par ailleurs, l'allèle mineur -607A, a montré une plus forte valeur de fréquence chez les cas d'asthme (43%) tandis que chez les témoins la fréquence de ce même allèle était de 33%.

La distribution génotypique indique que 36 % des patients d'asthme sont homozygotes (CC), 42% sont hétérozygotes (CT) et 22% sont homozygotes (AA). Dans le cas des témoins, 46 % sont de génotype (CC), 41 % sont de génotype (CT) et seulement 13 % sont de génotype (AA).

L'analyse statistique de la distribution des fréquences génotypiques de l'*IL-18* (-607C/A) entre le groupe de patients asthmatiques et les témoins, a révélé une différence statistiquement significative avec une valeur de $p=0,029$. Nous avons également observé une différence significative dans la distribution des fréquences alléliques entre les deux groupes ($p = 0,006$; OR= 1,531 [1,128-2,077]).

L'analyse de la distribution des fréquences des génotypes groupés de ce polymorphisme chez la population étudiée a montré que le génotype groupé CA+AA est plus fréquent chez les cas souffrant d'asthme (64%) comparé aux témoins (54%), cette augmentation est statistiquement significative ($P=0.05$).

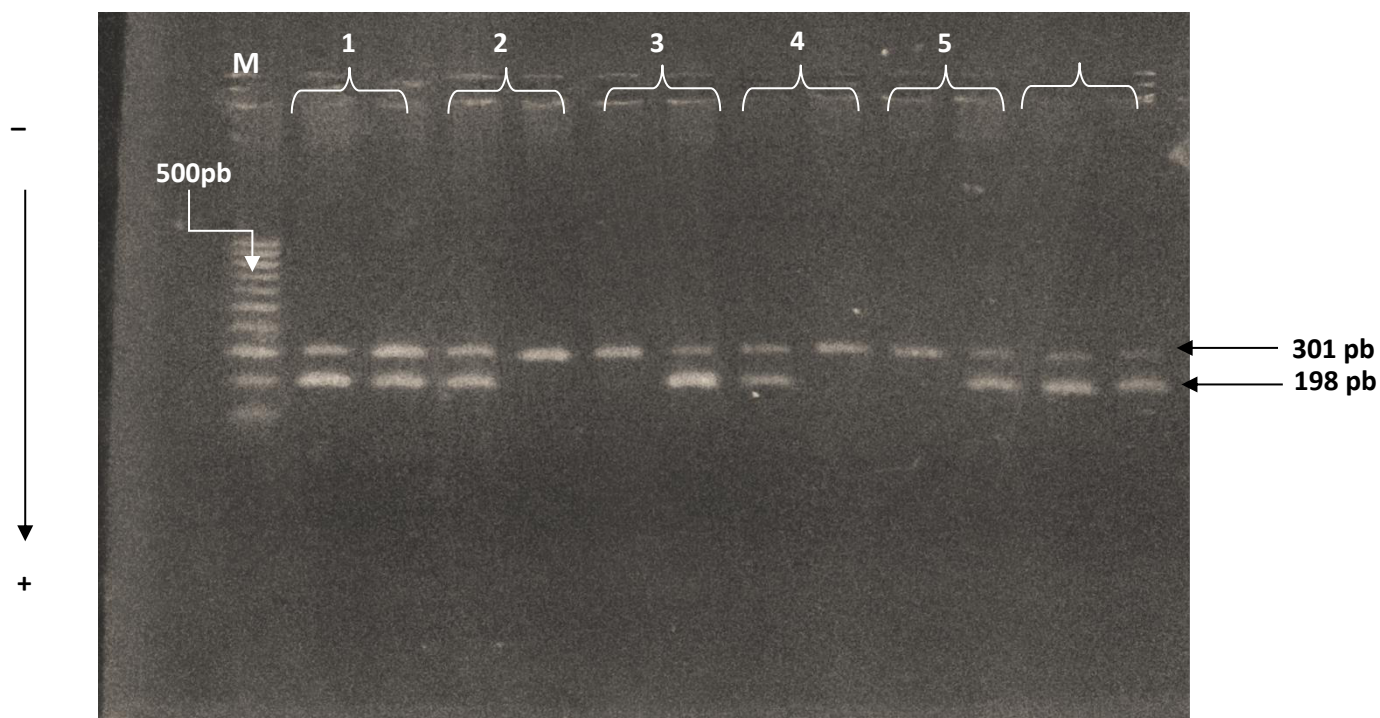


Figure 21: Figure représentative d'électrophorèse sur gel d'agarose 2% des produits de PCR du gène IL-18 à la position -607 C/A.

M : marqueur de taille

2 et 4 : individus homozygotes CC

1 et 6 : individus hétérozygotes CA

3 et 5 : individus homozygotes AA

Tableau 10: Distribution des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme (– 607 C/A) de l'IL-18 dans les groupes d'asthmatiques et des témoins.

	Asthmatiques (173) N(%)	Témoins (180) N(%)
Génotypes		
CC	62 (36)	83 (46)
CA	72 (42)	74 (41)
AA	39 (22)	23 (13)
χ^2		7,062
valeur <i>P</i>		0,029
Génotypes groupés		
CC	62 (36)	83 (46)
CA+AA	111 (64)	97 (54)
χ^2		3.846
valeur <i>P</i>		0,05
OR (95% CI)		1,532 (0,999-2,348)
Allèles		
C	196 (57)	240 (67)
A	150 (43)	120 (33)
χ^2		7,499
valeur <i>P</i>		0,006
OR (95% CI)		1,531 (1,128-2,077)

CC homozygote pour l'allèle normal, CA hétérozygote, AA homozygote pour l'allèle muté. C:allèle normal, A : allèle muté. χ^2 : Khi Deux, OR: Odds ratio, CI: Intervalle de confiance. La valeur $P < 0,05$ indique la signification statistique.

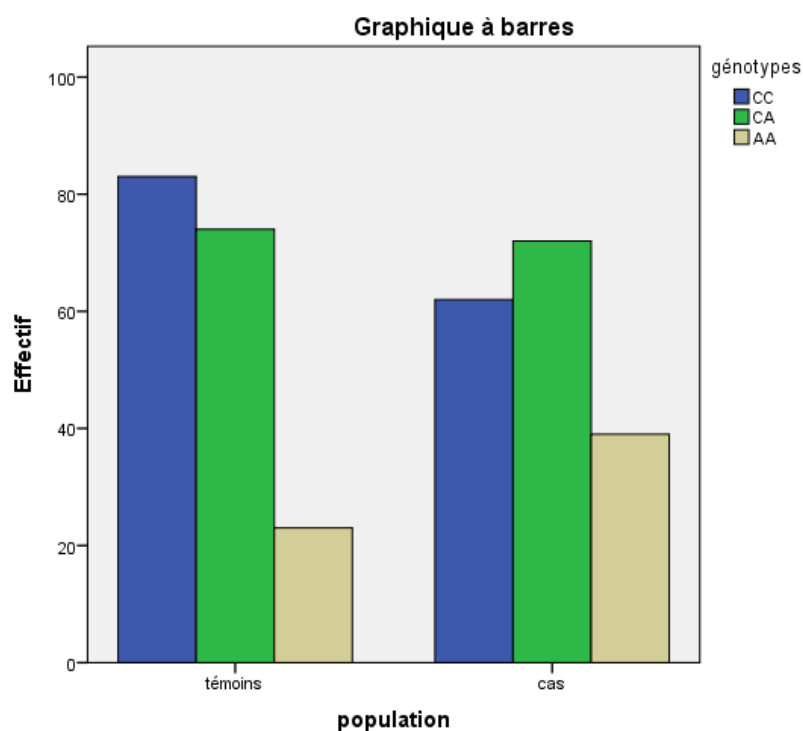


Figure 22: Les fréquences des génotypes de l'*IL-18* à la position -607 chez les asthmatiques et les témoins.

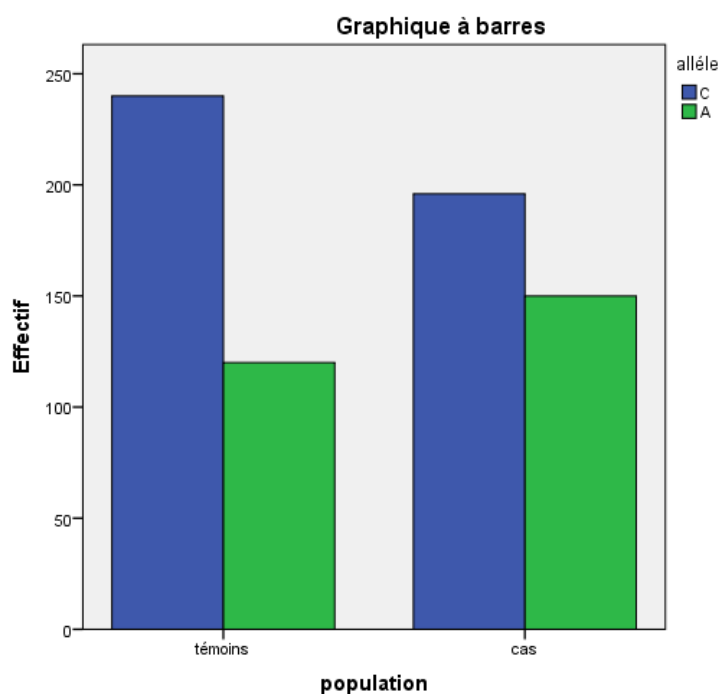


Figure 23 : Distribution des fréquences alléliques du polymorphisme -607 C/A du gène de l'*IL-18* chez les asthmatiques et les témoins.

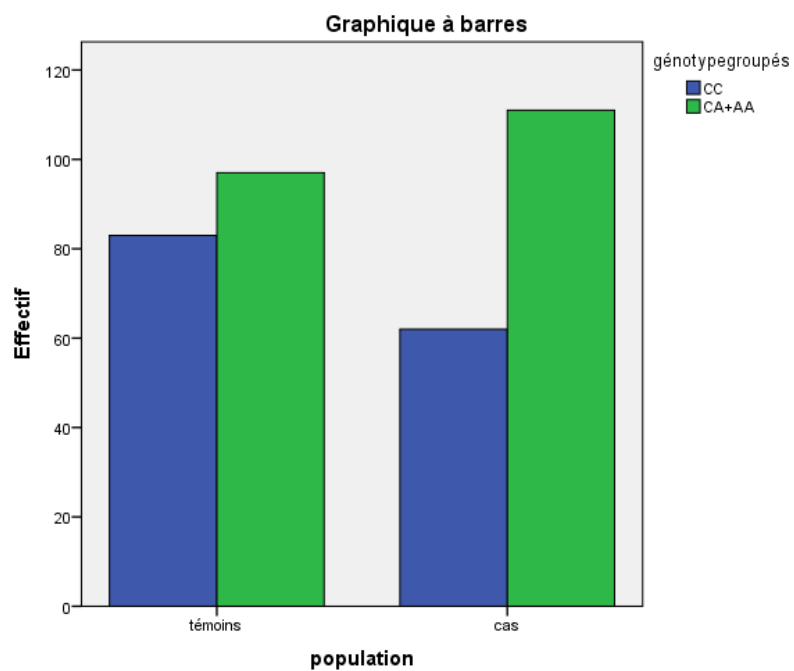


Figure 24: Distribution des génotypes groupés du polymorphisme -607 C/A du gène de *l'IL-18* chez les asthmatiques et les témoins.

4-2 Impact du polymorphisme -607C/A du gène *IL-18* sur la survenue de l'asthme selon le sexe

Le tableau 11 présente les distributions alléliques et génotypiques du polymorphisme -607 C/A de l'*IL-18* parmi les hommes et les femmes chez les asthmatiques. Selon ce tableau, nous avons remarqué une différence statistiquement significative par rapport aux fréquences génotypiques et alléliques parmi les hommes et femmes dans le groupe des asthmatiques. L'allèle muté A était significativement plus fréquente chez les femmes par rapport aux hommes asthmatiques ($p < 0.05$). L'étude de la régression logistique a montré que le risque d'avoir l'allèle polymorphe A chez les femmes asthmatiques est de 2,275.

4-3 Impact du polymorphisme -607C/A du gène *IL-18* sur la survenue de l'asthme selon les antécédents familiaux d'asthme

Dans le but de déterminer la corrélation entre le polymorphisme *IL-18* (-607C/A) et la présence ou absence des antécédents familiaux d'asthme, un test X^2 a été utilisé et les résultats sont présentés dans le tableau 12. La comparaison des fréquences génotypiques et alléliques en terme de présence ou absence des antécédents familiaux d'asthme chez le groupe des cas, a permis de noter une différence statistiquement significative ($p < 0.05$), l'allèle muté -607A, était plus fréquent chez les asthmatiques possédant des antécédents familiaux d'asthme par rapport aux asthmatiques sans antécédents familiaux d'asthme .

4-4 Impact du polymorphisme -607C/A du gène *IL-18* sur la survenue de l'asthme selon les antécédents personnels allergiques

La distribution des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme *IL-18* (-607C/A) chez les cas d'asthme en terme de présence ou absence des antécédents personnels d'asthme, est présentée dans le tableau 13. Le test Chi carré a été utilisé pour étudier l'association entre le polymorphisme *IL-18* (-607C/A) et la présence ou absence des antécédents personnels allergiques. Aucune différence statistiquement significative n'a été observée entre les fréquences génotypiques et alléliques de ce polymorphisme chez le groupe des cas ($p > 0.05$).

Tableau 11 : Distribution allélique et génotypique du polymorphisme -607 C/A de l'IL-18 parmi les hommes et les femmes chez les asthmatiques.

	Les cas	
	Hommes (69) n (%)	Femmes (104) n (%)
Génotypes		
CC	35 (51)	27 (26)
CA	23 (33)	49 (47)
AA	11 (16)	28 (27)
$X^2=11,209$ $P= 0,004$		
Allèles		
C	93 (67)	103 (49)
A	45 (33)	105 (51)
$X^2= 11,659$ $P= 0,001$ OR= 2,175 95% IC (1,388-3,410)		

Tableau 12: L'association entre les fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme IL-18 (-607C/A) et les antécédents familiaux d'asthme

	Les cas	
	Présence (72) n (%)	Absence (101) n (%)
Génotypes		
CC	15 (21)	47 (47)
CA	34 (47)	38 (38)
AA	23 (32)	16 (16)
$X^2=13.513$ $P= 0,001$		
Allèles		
C	64 (44)	132 (65)
A	80 (56)	70 (35)
$X^2= 14,956$ $P< 0,0001$ OR=0.501 95% IC (0,274-0,658)		

Tableau 13 : L'association entre les fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme *IL-18* (-607C/A) et les antécédents personnels allergiques.

	Les cas	
	Présence (145)	Absence (28)
	n (%)	n (%)
Génotypes		
CC	54 (37)	8 (29)
CA	58 (40)	14 (50)
AA	33 (23)	6 (21)
$X^2 = 1,075$		
P= 0,584		
Allèles		
C	166 (57)	30 (54)
A	124 (43)	26 (46)
$X^2 = 0,257$		
P= 0,612		
OR= 1,160		
95% IC (0,653-2,061)		

5- Association du polymorphisme -590 C/T de l'*IL-4* avec le risque d'asthme

5-1 Etude de la distribution des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme -590C/T du gène *IL-4* chez les cas d'asthme et les témoins

Le tableau 14 présente la distribution des fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme -590 C/T du gène *IL-4* chez 176 patients asthmatiques et 182 sujets sains de la population oranaise, le groupe des témoins étant en équilibre d'Hardy-Weinberg (X^2 calculé = 2.25).

La distribution des fréquences alléliques du polymorphisme -590 C/T du gène *IL-4* dans la population d'individus témoins, a montré que l'allèle -590C représente l'allèle majeur et que l'allèle -590T constitue l'allèle mineur dans la population Etudiée; leurs fréquences sont respectivement de 83% et 17%. Chez les patients, les fréquences de ces deux allèles sont de 78% et 22% (**Tableau 14**).

Le tableau montre que chez les témoins, 71% des sujets sont homozygotes (CC), 25% sont hétérozygotes (CT) et 4% sont homozygotes (TT). Chez les patients d'asthme, le génotype (CC) a été retrouvé à une fréquence de 65%, le génotype (CT) à 25% et le génotype (TT) à 10%.

La distribution des fréquences des génotypes groupés CT+TT, était de 35% dans le groupe de cas et de 29% dans le groupe des témoins.

L'analyse de la distribution des fréquences génotypiques et alléliques, nous a permis d'observer une légère augmentation de l'allèle mineur -590T chez les cas d'asthme comparé aux témoins. Cependant, cette augmentation est non statistiquement significative ($p>0.05$). Nous pouvons toutefois, noter que l'analyse de la régression logistique suggère que ce polymorphisme est associé à un risque d'asthme de 1.437, mais la valeur de p reste non significative.

La figure 25 montre le produit d'amplification par PCR du gène de l'*IL-4* à la position -590. Les deux amorces spécifiques produisent un fragment de 251 pb. La taille du fragment contrôle est de 291 pb.

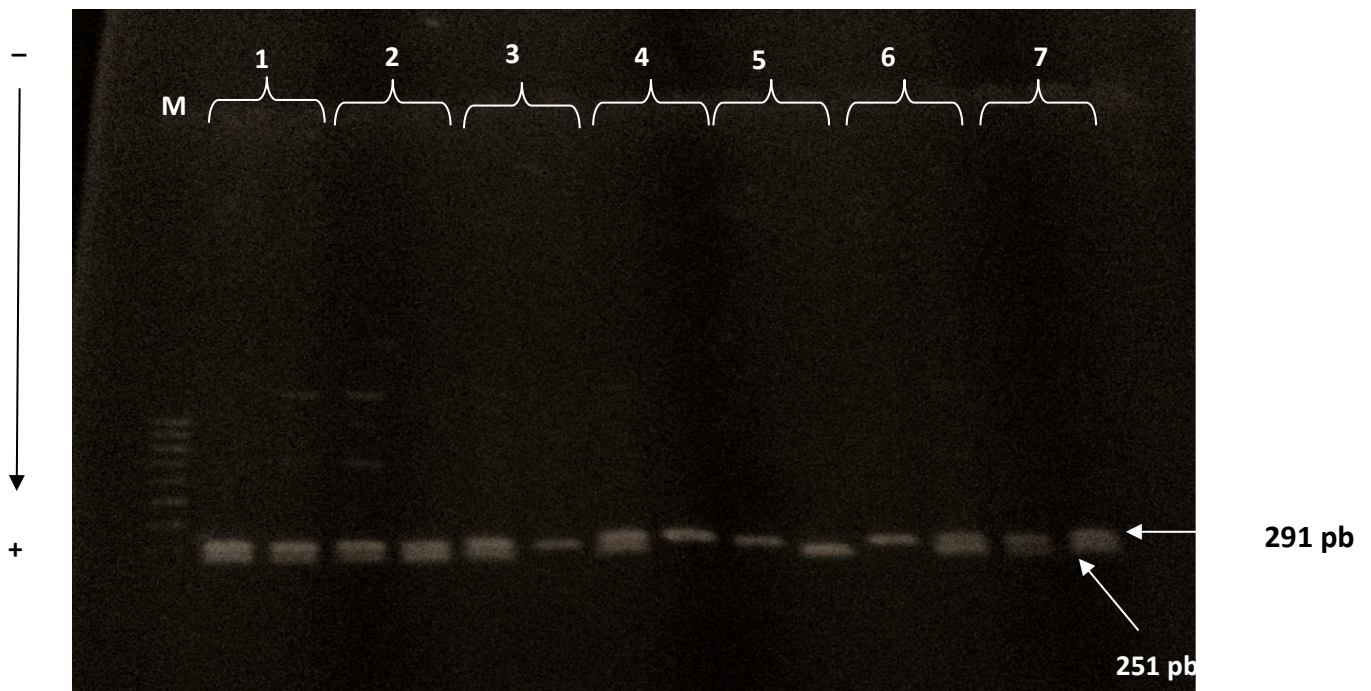


Figure 25: Figure représentative d'électrophorèse sur gel d'agarose 2% des produits de PCR du gène *IL-4* à la position -590 C / T.

M : marqueur de taille

1,2 et 7 : hétérozygote CT

3 et 4 : homozygote CC

5 et 6 : homozygote TT

Tableau 14: Distribution des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme (– 590 C/T) de l'IL-4 dans les groupes d'asthmatiques et des témoins.

	Asthmatiques (176) N(%)	Témoins (182) N(%)
Génotypes		
CC	114 (65)	129 (71)
CT	45 (25)	45 (25)
TT	17 (10)	8 (4)
χ^2		4,067
valeur P		0,131
Génotypes groupés		
CC	114 (65)	129 (71)
CT+TT	62 (35)	53 (29)
χ^2		1,530
valeur P		0,216
OR (95% CI)		1,324 (0,848-2,065)
Allèles		
C	273 (78)	303 (83)
T	79 (22)	61 (17)
χ^2		3,677
valeur P		0,055
OR (95% CI)		1,437 (0,991-2,085)

CC homozygote pour l'allèle normal, CT hétérozygote, TT homozygote pour l'allèle muté. C:allèle normal, T : allèle muté : Khi Deux, OR: Odds ratio, CI: Intervalle de confiance. La valeur P < 0,05 indique la signification statistique

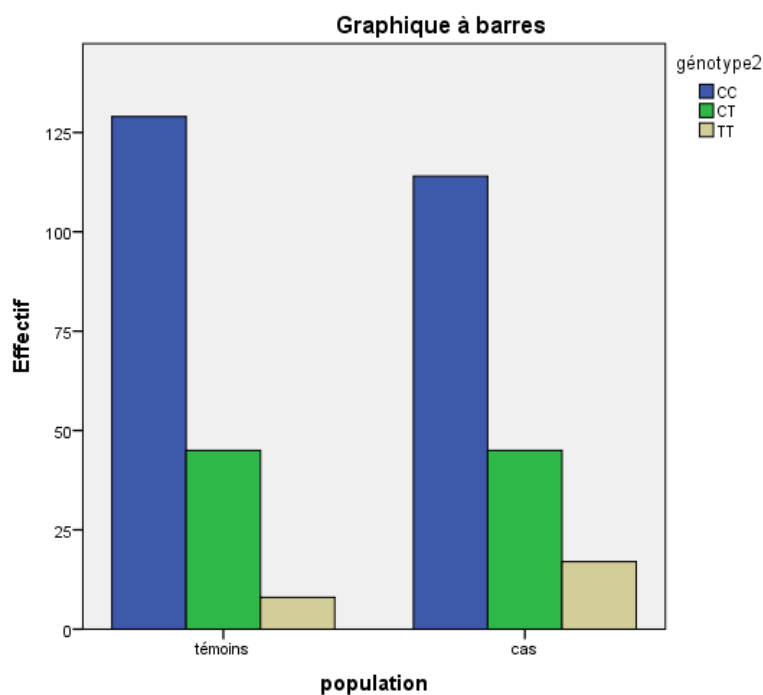


Figure 26: Les fréquences génotypiques du polymorphisme d'*IL-4* à la position -590 chez les asthmatiques et les témoins.

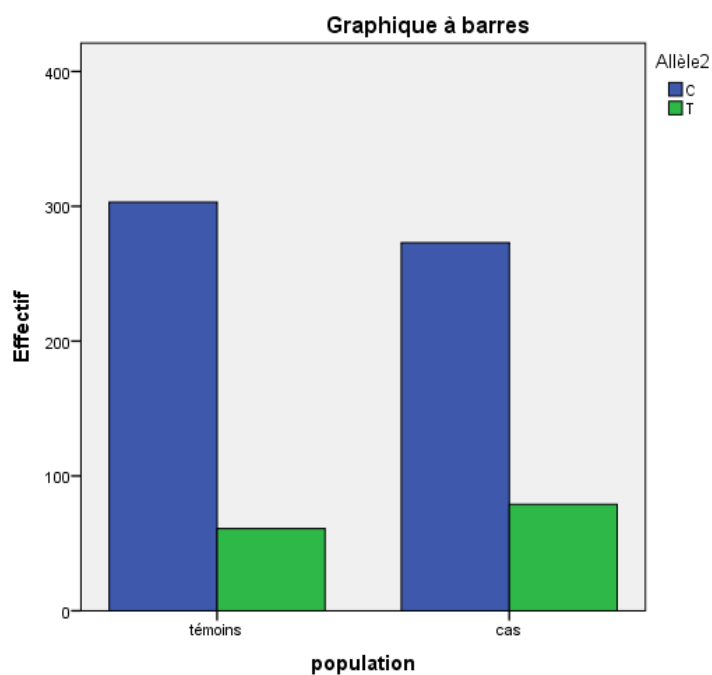


Figure 27 : Distribution des fréquences alléliques du polymorphisme -590 C/T du gène de *IL-4* chez les asthmatiques et les témoins.

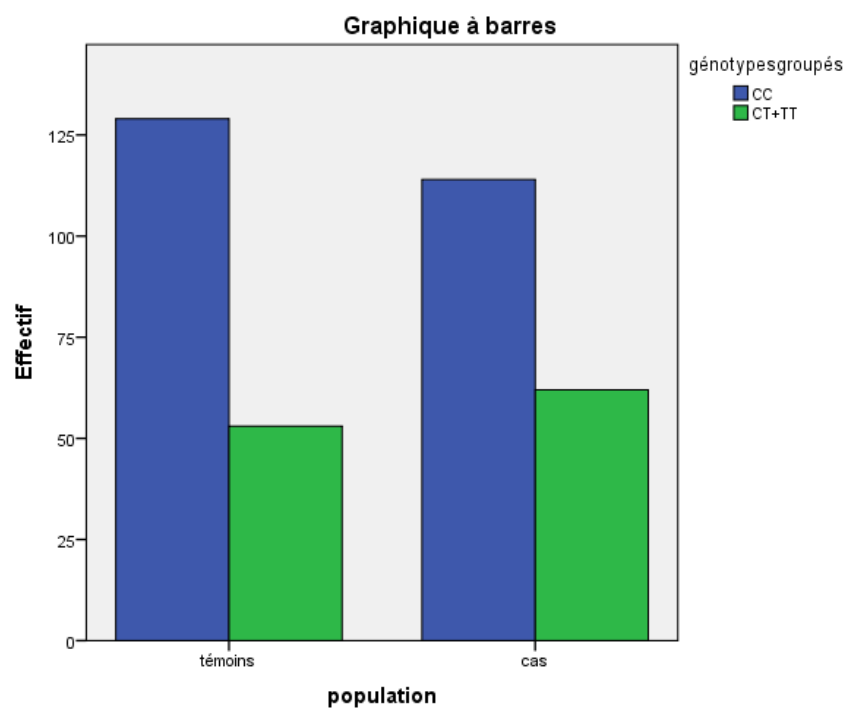


Figure 28: Distribution des génotypes groupés du polymorphisme -590 C/T du gène de *l'IL-4* chez les asthmatiques et les témoins.

5-2 Impact du polymorphisme -590C/T du gène *IL-4* sur la survenue de l'asthme selon le sexe

Le tableau 15 montre la distribution des fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme -590 C/T de l'*IL-4* parmi les hommes et les femmes asthmatiques. Après comparaison des fréquences alléliques et génotypiques entre les femmes et hommes souffrant d'asthme, une différence statistiquement significative a été constatée. L'allèle muté -590T, était significativement plus fréquent chez les femmes asthmatiques par rapport aux hommes ($p < 0.05$). L'étude de la régression logistique a révélé que le risque d'avoir l'allèle polymorphe -590T chez les femmes asthmatiques est de 2,314.

5-3 Impact du polymorphisme -590C/T du gène *IL-4* sur la survenue de l'asthme selon les antécédents familiaux d'asthme

Le tableau 16 montre la distribution des fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme *IL-4* (-590C/T) chez les cas d'asthme par rapport à la présence ou l'absence des antécédents familiaux.

Après comparaison des fréquences alléliques et génotypiques en fonction de la présence ou l'absence des antécédents familiaux dans le groupe des asthmatiques, il ressort qu'il n'existe aucune différence statistiquement significative ($p > 0,05$).

5-4 Impact du polymorphisme -590C/T du gène *IL-4* sur la survenue de l'asthme selon les antécédents personnels allergiques

La distribution des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme *IL-4* (-590C/T) chez les cas en terme de présence ou absence des antécédents personnels d'asthme, est présentée dans le tableau 17. L'analyse statistique a révélé une association entre ce polymorphisme et la présence des antécédents personnels allergiques ($p < 0,05$). L'analyse de la régression logistique a montré un risque de 2,541 d'avoir l'asthme chez les patients asthmatiques avec antécédents personnels allergiques.

Tableau 15 : Distribution allélique et génotypique du polymorphisme -590 C/T de l'*IL-4* parmi les hommes et les femmes chez les asthmatiques.

	Les cas	
	Hommes (70) n (%)	Femmes (106) n (%)
Génotypes		
CC	54 (77)	60 (57)
CT	12 (17)	33 (31)
TT	4 (6)	13 (12)
$X^2 = 7,845$ P=0,02		
Allèles		
C	120 (86)	153 (72)
T	20 (14)	59 (28)
$X^2 = 8,887$ P= 0,003 OR= 2,314 95% IC (1,321-4,053)		

Tableau 16: L'association entre les fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme *IL-4* (-590C/T) et les antécédents familiaux d'asthme.

	Les cas	
	Présence (75) n (%)	Absence (101) n (%)
Génotypes		
CC	45 (60)	69 (68)
CT	20 (27)	25 (25)
TT	10 (13)	7 (7)
$X^2 = 2,348$ P= 0,309		
Allèles		
C	110 (73)	163 (81)
T	40 (27)	39 (19)
$X^2 = 2,679$ P= 0,102 OR= 0,658 95% IC (0,398-1,088)		

Tableau 17 : L'association entre les fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme *IL-4* (-590C/T) et les antécédents personnels allergiques.

	Les cas	
	Présence (147) n (%)	Absence (29) n (%)
Génotypes		
CC	103 (70)	11 (38)
CT	31 (21)	14 (48)
TT	13 (9)	4 (14)
$X^2 = 11,479$		
P = 0,003		
Allèles		
C	237 (81)	36 (62)
T	57 (19)	22 (38)
$X^2 = 9,570$		
P = 0,002		
OR = 2,541		
95% IC (1,389-4,649)		

6 Association du polymorphisme +874A/T de l'*IFN-γ* avec le risque d'asthme

6-1 Etude de la distribution des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme +874A/T du gène d'*IFN-γ* chez les cas d'asthme et les témoins

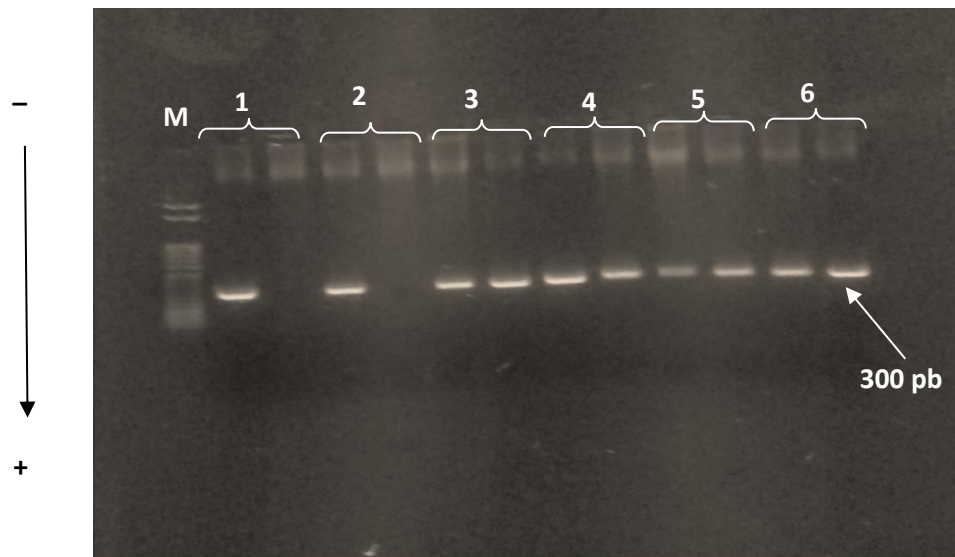
La distribution des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme *IFN-γ* (+874A/T) entre les cas et les témoins, est reportée dans le tableau 18. Le test X^2 dans le groupe témoins, a montré que notre population est en équilibre de Hardy-Weinberg (X^2 calculé = 2,18).

La distribution des fréquences alléliques chez les témoins, montre que l'allèle +874A est l'allèle majeur avec une fréquence de 0,53 et que l'allèle +874T est l'allèle mineur dans la population étudiée avec une fréquence de 0,47.

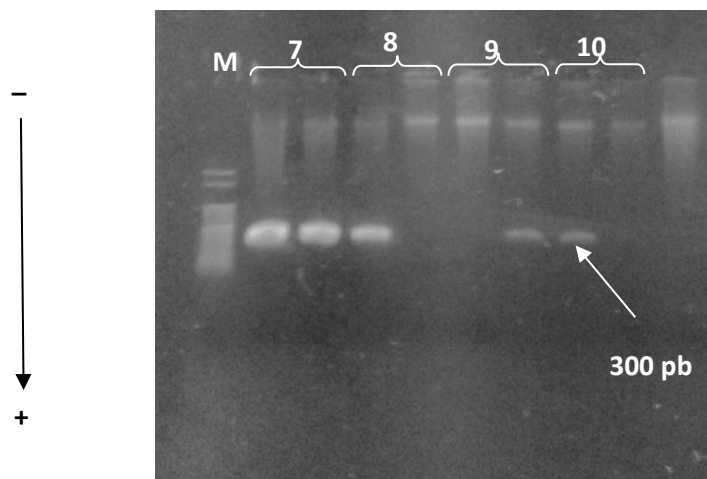
La distribution génotypique indique que 32 % des patients d'asthme sont homozygotes (AA), 47% sont hétérozygotes (AT) et 21% sont homozygotes (TT). Dans le cas des témoins, 25 % sont de génotype (AA), 55 % sont de génotype (AT) et 20 % sont de génotype (TT). La fréquence des génotypes groupés AT+TT, a été estimée à 68% chez les cas et 75% chez les témoins.

Après comparaison des fréquences alléliques et génotypiques entre les cas et les témoins, il ressort qu'il n'existe aucune différence statistiquement significative dans la distribution des fréquences alléliques et génotypiques ($p>0,05$). Ces résultats suggèrent qu'il n'y a pas d'association entre ce polymorphisme et le risque d'asthme dans notre population.

La figure 29 montre le produit d'amplification par PCR du gène de l'*IFN-γ* à la position +874.



(a)



(b)

Figure 29 (a,b) : Figure représentative d'électrophorèse sur gel d'agarose 2% des produits de PCR du gène *IFN-γ* à la position +874 A / T.

M : marqueur de taille

3, 4, 5, 6 et 7 : Hétérozygote AT

1, 2, 8 et 10 : Homozygote AA

9 : Homozygote TT

Tableau 18: Distribution des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme (+874A/T) de l'*IFN-γ* dans les groupes d'asthmatiques et des témoins.

	Asthmatiques (168) N(%)	Témoins (173) N(%)
Génotypes		
AA	53 (32)	43 (25)
AT	79 (47)	96 (65)
TT	36 (21)	34 (20)
χ^2		4,942
Valeur <i>P</i>		0,085
Génotypes groupés		
AA	53 (32)	43 (25)
AT+TT	115 (68)	130 (75)
χ^2		1,887
Valeur <i>P</i>		0,170
OR		0,718
(95% CI)		(0,447-1,153)
Allèles		
A	185 (55)	182 (53)
T	151 (45)	164 (47)
χ^2		0,414
Valeur <i>P</i>		0,520
OR		0,906
(95% CI)		(0,670-1,224)

CC homozygote pour l'allèle normal, CT hétérozygote, TT homozygote pour l'allèle muté. C:allèle normal, T : allèle muté : Khi Deux, OR: Odds ratio, CI: Intervalle de confiance. La valeur $P < 0,05$ indique la signification statistique

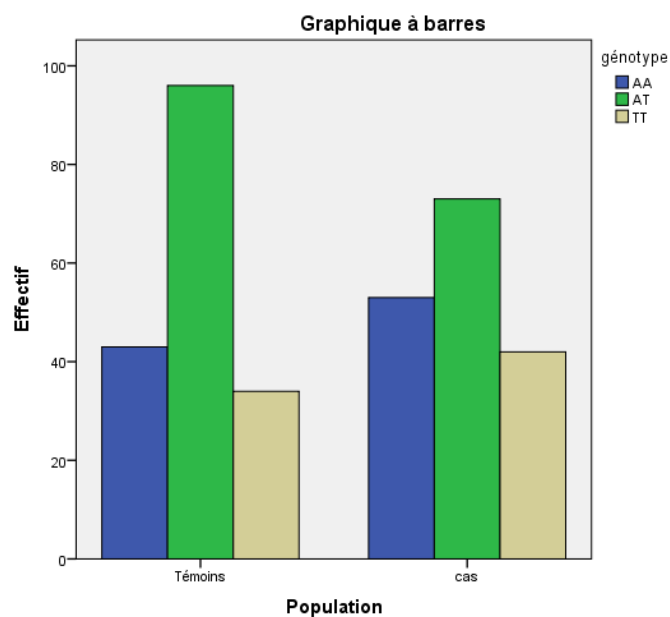


Figure 30: Les fréquences génotypiques du polymorphisme d'*IFN-γ* à la position +874 chez les asthmatiques et les témoins.

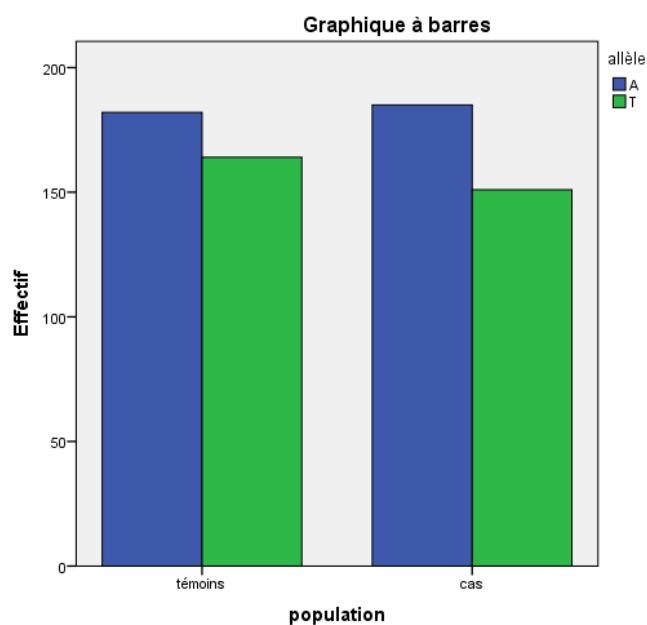


Figure 31 : Distribution des fréquences alléliques du polymorphisme +874 du gène *d'IFN-γ* chez les asthmatiques et les témoins.

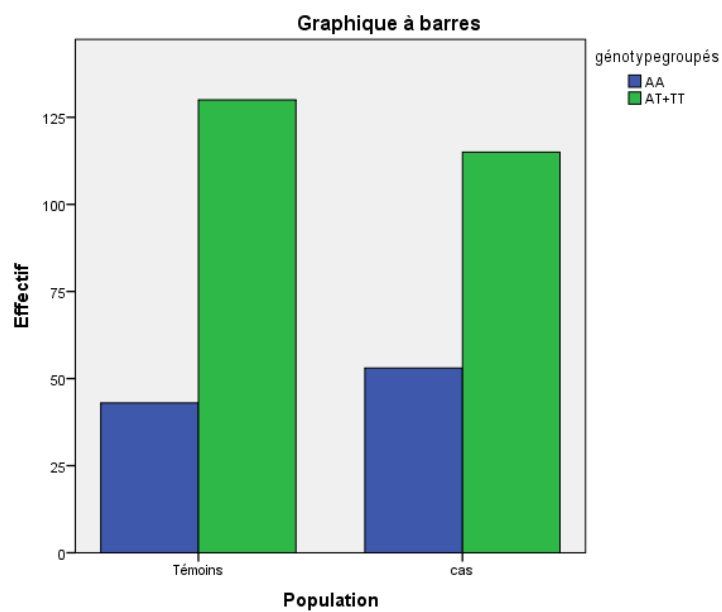


Figure 32: Distribution des génotypes groupés du polymorphisme +874 A/T du gène de *l'IFN- γ* chez les asthmatiques et les témoins.

6-2 Impact du polymorphisme +874 A/T de l'*IFN-γ* sur la survenue de l'asthme selon le sexe

Le tableau 19 présente la distribution des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme *IFN-γ* (+874A/T) dans le groupe des asthmatiques en fonction du sexe. Après la comparaison des fréquences génotypiques et alléliques entre les femmes et les hommes asthmatiques, aucune différence statistiquement significative n'a été constatée ($p>0.05$).

6-3 Impact du polymorphisme +874 A/T de l'*IFN-γ* sur la survenue de l'asthme selon les antécédents familiaux d'asthme

La distribution des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme *IFN-γ* (+874A/T) chez les cas en terme de présence ou absence d'antécédents familiaux d'asthme, est reportée dans le tableau 20. D'après ce tableau, aucune différence statistiquement significative n'a été observée entre les fréquences génotypiques de ce polymorphisme chez les cas asthmatiques en fonction de la présence ou absence d'antécédents familiaux d'asthme ($p>0.05$). Cependant, l'allèle +874 A était significativement plus fréquent chez les asthmatiques n'ayant pas des antécédents familiaux d'asthme ($p<0,05$).

6-4 Impact du polymorphisme +874 A/T de l'*IFN-γ* sur la survenue de l'asthme selon les antécédents personnels allergiques

Le tableau 21 montre la distribution des fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme *IFN-γ* (+874A/T) chez les cas d'asthme en terme de présence ou absence des antécédents personnels allergiques. D'après ce tableau, aucune différence statistiquement significative n'a été constatée chez la population des asthmatiques étudiée en fonction de la présence d'antécédents personnels allergiques ($p>0.05$).

Tableau 19 : Distribution allélique et génotypique du polymorphisme +874 A/T de l'*IFN-γ* parmi les hommes et les femmes chez les asthmatiques.

	Les cas	
	Hommes (67) n (%)	Femmes (101) n (%)
Génotypes		
AA	18 (27)	35 (35)
AT	33 (49)	46 (46)
TT	16 (24)	20 (20)
$X^2=1,205$ $P= 0,547$		
Allèles		
A	69 (52)	116 (57)
T	65 (48)	86 (43)
$X^2= 1,146$ $P= 0,284$ $OR= 0,787$ 95% IC (0,507-1,221)		

Tableau 20: L'association entre les fréquences génotypiques et allélique du polymorphisme +874 A/T du gène *IFN-γ* et les antécédents familiaux d'asthme.

	Les cas	
	Présence (70) n (%)	Absence (98) n (%)
Génotypes		
AA	28 (40)	25 (26)
AT	32 (46)	47 (48)
TT	10 (14)	26 (26)
$X^2=5,618$ $P= 0,060$		
Allèles		
A	88 (63)	97 (49)
T	52 (37)	99 (51)
$X^2= 5,897$ $P< 0,015$ $OR=1,727$ 95% IC (1,109-2,689)		

Tableau 21: L'association entre les fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme *IFN-γ* (+874A/T) et les antécédents personnels allergiques.

Génotypes	Asthmatiques	
	Présence (142)	Absence (26)
	n (%)	n (%)
AA	45 (32)	8 (31)
AT	67 (47)	12 (46)
TT	30 (21)	6 (23)
$X^2 = 0,050$		
P = 0,975		
Allèles		
A	157 (55)	28 (54)
T	127 (45)	24 (46)
$X^2 = 0,037$		
P = 0,848		
OR = 1,060		
95% IC (0,585-1,918)		

DISCUSSION

GÉNÉRALE

Discussion générale

L'asthme est l'une des affections chroniques les plus fréquentes et représente un problème de santé publique mondial (**Bousquet et al., 1999**). Il s'agit d'une maladie multifactorielle dépendant à la fois des facteurs de risques liés à l'hôte (génétique, sexe, facteurs hormonaux...), et des facteurs de risques environnementaux (allergènes, tabac, infections, pollution de l'air...) (**Busse et Lemanske, 2001**). Un des principaux facteurs de risques de l'asthme est le facteur génétique (**Holloway et al., 1999**). Plusieurs gènes sont associés à la maladie. Différentes régions chromosomiques ont été identifiées comme associées à l'asthme, (**Bleecker et al., 1997**). Les études génétiques, permettent l'identification de gènes ainsi que des voies biologiques qui pourraient expliquer la composante moléculaire de la maladie. Par conséquent, l'étude des polymorphismes génétiques de différents gènes, a pour but de clarifier la relation entre la prédisposition génétique à l'asthme et son développement. La connaissance de l'association entre l'asthme et divers marqueurs génétiques, a permis d'accroître l'interprétation de la pathogenèse de l'asthme (**William et al. 2001**).

Dans cette étude nous avons analysé les fréquences génotypiques et alléliques de quatre polymorphismes dans des gènes des cytokines ; *IL-18*(-137G/C), *IL-18*(-607C/A), *IL-4*(-950C/T et *IFN- γ* (+874A/T). Par ailleurs, nous avons recherché une éventuelle association entre ces polymorphismes et l'asthme et également leurs associations avec trois facteurs de risques de la maladie (sexe, antécédents familiaux d'asthme et antécédents personnels allergiques).

1- Caractéristiques générales et cliniques de la population étudiée

L'analyse statistique des caractéristiques générales et cliniques de la population étudiée, a révélé une différence significative par rapport à la consanguinité parentale, les antécédents personnels allergiques, les antécédents familiaux d'asthme, la pollution professionnelle, pollution atmosphérique, la pollution domestique, l'humidité, le tabagisme actif, passif et la présence d'animaux à domicile. Nos résultats sont en accord avec les études de (**Kim et al., 2007; Lachheb et al., 2007; Dahmani et al., 2016**), qui ont confirmé l'association de ces facteurs de risques avec l'asthme. Cependant, les autres facteurs (sexe et le type d'environnement), n'ont révélé aucune association avec la maladie, ce qui concorde avec d'autres études (**Rigoli et al., 2004 ; Daneshhmandi et al., 2011 ; Su et al., 2012 ; Abdelshafy et al., 2015**).

2- Le polymorphisme -137G/C du gène d'interleukine-18

L'interleukine-18 (IL-18) est un membre de la famille IL-1 qui induit l'expression de l'IFN- γ et qui oriente la différenciation des lymphocytes T vers un phénotype de réponse immunitaire de type T-helper 1 (Heinzmann *et al.*, 2004). C'est un important régulateur de la réponse immunitaire innée et acquise. Elle induit la prolifération des Th1 et NK, leur production de cytokine et leur cytotoxicité, en synergie avec l'IL-12; elle stimule les deux réponses Th1 et Th2 en fonction de la présence ou absence d'IL-12 (Kim *et al.*, 2007). L'IL-18 agit en synergie avec l'IL-12 pour pousser la réponse immunitaire de type Th1 à la cellule afin de produire de l'IFN- γ et pour inhiber la production d'IgE, mais en l'absence d'IL-12, IL-18 induit la production d'IgE qui est directement associée à la pathogenèse de la maladie atopique et favorise les réactions immunitaires de type Th2 (Kim *et al.*, 2007).

Le polymorphisme -137G/C du gène d'IL-18, a été proposé dans de nombreuses études de nuire à l'expression d'IL-18 (Higa *et al.*, 2003; Folwaczny *et al.*, 2005; Jang *et al.*, 2005; Xu *et al.*, 2007). Constamment, il a été montré que ce polymorphisme a un impact significatif sur la physiopathologie de diverses maladies inflammatoires comme l'asthme (Kretowski *et al.*, 2002; Yoshizawa *et al.*, 2002; Kruse *et al.*, 2003; Novak *et al.*, 2005; Lee *et al.*, 2008). Ce polymorphisme consiste en une substitution d'une guanine par une cytosine au niveau du nucléotide -137 de la région promotrice du gène IL-18; dans le site de liaison d'un facteur de transcription appelé le facteur nucléaire H4TF-1. Il a été suggéré que l'allèle -137C modifie ce site à un site de liaison d'un inconnu facteur de transcription trouvé dans le promoteur de GM-CSF (Takada *et al.*, 2002). La conséquence fonctionnelle de la résultante allèle (-137C), est une répression dramatique du promoteur du gène d'IL-18, ainsi que l'activation de la réponse inflammatoire et des cellules immunitaires (Giedraitis *et al.*, 2001; Bossù *et al.*, 2007; Wen *et al.*, 2014).

La distribution allélique du polymorphisme IL-18 (-137G/C) dans la population des contrôles, a montré que l'allèle majeur est l'allèle -137G avec une fréquence de 0,72 et que l'allèle mineur est -137C et son MAF (Minor Allele frequency), est égal à 0,28. Cette fréquence est similaire à celle retrouvée dans la population allemande (0,28) (Kruse *et al.*, 2003; Heinzmann *et al.*, 2004), polonaise (0,28) (Pawlik *et al.*, 2007), tchèque (0,28) (Novota *et al.*, 2005; Sebelova *et al.*, 2007) et des Etats-Unis (0,285) (Johnson *et al.*, 2012), elle est proche de celles des populations : suisse (0,26) (Imboden *et al.*, 2006b), iranienne, italienne et irlandaise (0,27) (Naeimi *et al.*, 2006 ; Boniotto *et al.*, 2005 ; Brophy *et al.*, 2010), population

croate (0,29) (**Boraska et al.,2006**), suédoise et polonaise (0,30) (**Giedraitis et al., 2001; Pawlik et al., 2012**), allemande (0,31) (**Haas et al., 2005**), tandis qu'elle est plus élevée que celles décrites chez les populations japonaise, néerlandaise et espagnole (0,25) (**Takada et al., 2002; Janssen et al.,2004; Palomino-Morales et al., 2010**), chinoise (0,21) (**Li et al., 2011**), indienne et turque (0,20) (**Liang et al., 2005 ; Htoon et al., 2012**), allemande et coréenne (0,18) (**Novak et al.,2005 ; Myung et al.,2 015**), jordanienne (0,17) (**Attab et al., 2008**), singapourienne et chinoise (0,12) (**Sivalingam et al., 2003 ; Liu et al., 2016**), japonaise (0,11) (**Idé et al., 2004**),taïwanaise (0,10) (**Tsai et al., 2013**). Cependant, qu'elle est inférieure à celle de la population tunisienne (0,34) (**Bouzzgarrou et al., 2008**), du Danemark (0,46) (**Dato et al., 2009**), colombienne (0,41) (**Rodriguez et al., 2016**), égyptienne (0,40) (**Ibrahim et al., 2012**) . Toutefois, dans la population brésilienne, une étude a démontré que l'allèle mineur est l'allèle -137G (0,48) et non pas l'allèle -137C (0,52) (**Santos et al., 2015**) (**Tableau 19**).

L'analyse de la distribution des fréquences génotypiques du polymorphisme *IL-18* (-137G/C), a montré une différence significative entre les patients souffrant d'asthme et les témoins ($p=0,005$). Cette distribution est caractérisée par des fréquences des génotypes homozygotes mutés CC et hétérozygotes GC plus élevées chez les cas que chez les contrôles, aussi celle des génotypes groupés GC+CC avec une valeur de $p= 0.002$. De plus, la fréquence allélique de l'allèle muté C, était significativement plus élevée chez les asthmatiques par rapport aux témoins ($p=0,001$) (**Tableau 06**). Suggérant ainsi une association de l'allèle -137C avec l'asthme dans la population étudiée. Notre constatation est en concordance avec les observations de (**Wu et al., 2012**) qui ont révélé une association significative de ce SNP à l'asthme bronchique dans une population chinoise ($p < 0,05$), de même **Pawlik et al., (2007)** ont montré une association significative de l'allèle -137C avec l'asthme modéré dans la population polonaise ($p = 0,006$). **Kruse et al., (2003)** ont étudié la relation entre le polymorphisme *IL-18* (-137G/C) et la sensibilisation spécifique aux différents allergènes et la rhinite allergique, les auteurs ont observé une association significative de ce polymorphisme et des niveaux élevés des IgE spécifiques ($p < 0,005$). **Berbian et al.,** en 2013, ont étudié l'association du polymorphisme *IL-18* (-137G / C) avec l'asthme dans la population indienne, Les auteurs ont trouvé une association significative de ce polymorphisme avec l'asthme dans la population étudiée. En outre, une étude menée sur une population allemande, a révélé une association significative entre ce polymorphisme et l'eczéma atopique a ($p < 0,001$) (**Novak et al., 2005**). Dans la même population, **Kruse et al., (2003)** ont trouvé une association entre les SNPs dans l'exon 1 (+ 133T / G et + 127C / T), le

promoteur 1 (-137G / C) et dans le promoteur 2 (133C / G) avec des niveaux élevés d'IgE ($p < 0,005$) conférant un risque accru de rhinite allergique. Aussi, dans une population japonaise, *IL-18* (- 137G / C), était positivement associé à l'asthme et il a été déduit qu'il y avait une tendance génétique à produire des niveaux plus élevés de la cytokine IL-18 par les monocytes avec le génotype 137GC, ce qui peut contribuer au développement de l'asthme et du phénotypes allergiques (**Arimitsu et al., 2006**). L'association entre le polymorphisme *IL-18* (- 137G / C) et l'asthme allergique, a été également confirmée dans des populations suisses (**Imboden et al., 2006**) et coréennes (**Shin et al., 2005**).

En revanche, d'autres études n'ont pas trouvé une association significative de ce polymorphisme avec l'asthme, notamment celles menées sur la population jordanienne (**Attab et al., 2008**), allemande (**Heinzmann et al., 2004**), singapourienne, chinoise et malaisienne (**Liang et al., 2005**). En outre, une méta-analyse de 6 études effectuées sur la population chinoise impliquant 1883 cas et 6645 témoins, a révélé une absence d'association entre le polymorphisme *IL-18* (-137G / C) et l'asthme (**Ma et al., 2012**). Une autre méta-analyse de 20 études de différents groupes ethniques regroupant 5331 cas et 9658 témoins, a déduit à l'absence d'association entre ce polymorphisme et les maladies allergiques (**Cheng et al., 2014**).

La comparaison de la distribution génotypique et allélique du polymorphisme *IL-18* (- 137G/C) en fonction du sexe chez les cas d'asthme, a révélé une augmentation significative de l'allèle muté -137C chez les femmes asthmatiques comparées aux hommes ($p < 0,05$). Ce résultat ne concorde pas avec les observations de **Biribian et al., (2013)** qui ont trouvé que l'allèle muté est plus fréquent chez les hommes asthmatiques par rapport aux femmes .

Concernant l'étude d'association entre les fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme *IL-18* (-137G/C) et les antécédents familiaux d'asthme, l'analyse statistique, a révélé une différence significative pour les différents génotypes chez les cas en terme de la présence ou l'absence d'antécédents familiaux d'asthme. En plus, l'allèle polymorphe -137C, était significativement plus élevé chez les asthmatiques ayant des antécédents familiaux ($p < 0,05$) par rapport aux cas ne possédant pas ce facteur de risque. Ce résultat ne concorde pas avec les observations de **Biribian et al., (2013)** qui n'ont pas trouvé une association significative entre ce polymorphisme et les antécédents familiaux d'asthme dans la population indienne.

En ce qui concerne l'étude d'association entre les fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme -137G/C du gène d'*IL-18* et les antécédents personnels allergiques, l'étude

statistique n'a montré aucune signification statistique dans la distribution des fréquences génotypiques et alléliques de ce polymorphisme en terme de la présence de ce facteur de risque ($p > 0,05$). Ceci, est en accord avec les conclusions d'autres études réalisées dans différents groupes ethniques (Sebelova *et al.*, 2007; Ibrahim *et al.*, 2012; Biribian *et al.*, 2013).

Tableau 22: Distribution allélique du polymorphisme *IL-18* (-137G/C) dans les différentes populations étudiées (cas/témoins) dans le monde.

Année	L'ethnie	Pays	Nombre de témoins (n)	Fréquence de l'allèle G	Fréquence de l'allèle C	Références
2016	Arabe	Algérie	170	0,72	0,28	Attab <i>et al.</i> , 2016
2001	Caucasien	Suède	278	0,70	0,30	Giedraitis <i>et al.</i> , 2001
2002	Asiatique	Japon	130	0,75	0,25	Takada <i>et al.</i> , 2002
2003	Asiatique	Singapore	470	0,88	0,12	Sivalingam <i>et al.</i> , 2003
2003	Caucasien	Allemagne	105	0,72	0,28	Kruse <i>et al.</i> , 2003
2004	Caucasien	Allemagne	133	0,72	0,28	Heinzmann <i>et al.</i> , 2004
2004	Caucasien	Nederland	103	0,76	0,24	Janssen <i>et al.</i> , 2004
2004	Asiatique	Japon	114	0,89	0,11	Ide <i>et al.</i> , 2004
2005	Asiatique	Corée	140	0,87	0,13	Shin <i>et al.</i> , 2005
2005	Caucasien	RépubliqueTchèque	278	0,72	0,28	Novota <i>et al.</i> , 2005
2005	Caucasien	Allemagne	347	0,69	0,31	Haas <i>et al.</i> , 2005
2005	Asiatique	Malaisie	23	0,83	0,17	Liang <i>et al.</i> , 2005
2005	Asiatique	Inde	43	0,87	0,13	Liang <i>et al.</i> , 2005
2005	Caucasien	Italie	131	0,73	0,27	Boniotto <i>et al.</i> , 2005
2005	Caucasien	Allemagne	175	0,81	0,19	Novak <i>et al.</i> , 2005
2006	Caucasien	Croatie	132	0,71	0,29	Boraska <i>et al.</i> , 2006
2006	Caucasien	Suisse	5204	0,74	0,26	Imboden <i>et al.</i> , 2006
2006	Caucasien	Angleterre	1721	0,73	0,27	Szeszko <i>et al.</i> , 2006
2006	Asiatique	Corée	103	0,89	0,11	Lee <i>et al.</i> , 2006a
2006		Iran	103	0,73	0,27	Naemi <i>et al.</i> , 2006
2007	Caucasien	RépubliqueTchèque	312	0,72	0,28	Sebelova <i>et al.</i> , 2007
2007	Caucasien	Pologne	305	0,72	0,28	Pawlik <i>et al.</i> , 2007
2007	Asiatique	Japon	100	0,87	0,13	Osawa <i>et al.</i> , 2007
2008	Arabe	Jordanie	40	0,83	0,17	Attab <i>et al.</i> , 2008
2008	Arabe	Tunisie	81	0,66	0,34	Bouzzgarrou <i>et al.</i> , 2008
2009	Caucasien	Danemark	1651	0,54	0,46	Dato <i>et al.</i> , 2009
2010	Asiatique	Chine	210	0,83	0,17	Chen <i>et al.</i> , 2010
2010	Caucasien	Irlande	337	0,73	0,27	Brophy <i>et al.</i> , 2010
2010	Caucasien	Espagne	403	0,6	0,24	Palomino-Morales <i>et al.</i> , 2010
2011	Asiatique	Chine	614	0,90	0,10	Ming <i>et al.</i> , 2011
2011	Caucasien	Turquie	253	0,80	0,20	Htoon <i>et al.</i> , 2011
2012	Caucasien	Etats-Unis	300	0,72	0,28	Johnson <i>et al.</i> , 2012
2012	Arabe	Egypte	25	0,60	0,40	Ibrahim <i>et al.</i> , 2012
2013	Caucasien	Pologne	62	0,37	0,30	Pawlik <i>et al.</i> , 2012
2013	Asiatique	Inde	414	0,81	0,19	Birbian <i>et al.</i> , 2013
2013	Asiatique	Thaïlande	466	0,90	0,1	Tsai <i>et al.</i> , 2013
2014	Asiatique	Corée	243	0,85	0,15	Kim <i>et al.</i> , 2014
2014	Asiatique	Pakistan	115	0,67	0,33	Imran <i>et al.</i> , 2014
2015	Amérique	Brésil	376	0,48	0,52	Santos <i>et al.</i> , 2015
2015	Asiatique	Corée	222	0,82	0,18	Myung <i>et al.</i> , 2015
2016	Asiatique	Chine	473	0,88	0,12	Liu <i>et al.</i> , 2016
2016	Amérique	Colombie	590	0,59	0,41	Rodriguez <i>et al.</i> , 2016

3- Le polymorphisme -607C/A du gène d'interleukine-18

Le polymorphisme *IL-18* (-607C/A), consiste en une substitution d'une cytosine par une adénine à la position -607 du promoteur 1 du gène d'interleukine 18 dans le site de liaison du facteur de transcription CREB (C-AMP Response Element-binding protein). Il a été montré que ce polymorphisme influence l'expression du gène d'IL-18 (**Giedraitis et al., 2001**). De nombreuses études ont suggéré l'association de ce polymorphisme avec des niveaux élevés des IgE sériques, l'atopie et l'asthme (**Watanabe et al., 2002; Higa et al., 2003; Kruse et al., 2003; Heinzmann et al., 2004; Imboden et al., 2006 ; Liang et al., 2005; Lee et al., 2006b**).

D'après l'analyse de la distribution allélique du SNP *IL-18* (-607C/A) dans notre population témoin, il ressort que l'allèle majeur est représenté par l'allèle -607C (0,67) et que l'allèle mineur est -607A et sa fréquence (MAF) est égale à 0,33. Cette fréquence est d'une part similaire à celle retrouvée chez la population tunisienne (0,33) (**Lachheb et al., 2007**), estonienne (0,33) (**Pullat et al., 2007**), chinoise (0,33) (**Ming et al., 2011**), malaisienne (0,34) (**Chen et Gan, 2012**), singapourienne (0,34) (**Xu et al., 2007**) et indienne (0,32) (**Chen et Gan, 2012**). D'autre part, cette fréquence est inférieure à celle rapportée dans les populations: turque (0,36) (**Htoon et al., 2012**), néerlandaise (0,37) (**Janssen et al., 2004**), anglaise et tchèque (0,38) (**Szeszko et al., 2006 ; Sebelova et al., 2007**), des Etats-Unis et chinoise (0,40) (**Cardoso et al., 2004 ; Bao et al., 2015**), suédoise, polonaise, croate et espagnole (0,41) (**Giedraitis et al., 2001 ; Pawlik et al., 2007; Boraska et al., 2006 ; Palomino-Morales et al., 2010**), allemande et tchèque (0,42) (**Heinzmann et al., 2004 ; Novota et al., 2005**), iranienne et brésilienne (0,43) (**Naeimi et al., 2006 ; Santos et al., 2015**), Italienne (0,44) (**Boniotto et al., 2005**), irlandaise (0,45) (**Brophy et al., 2010**), singapourienne (0,46) (**Sivalingam et al., 2003**), colombienne (0,47) (**Rodriguez et al., 2016**), coréenne (0,49) (**Lee et al., 2006b**). Inversement, d'autres études ont rapporté que l'allèle mineur est l'allèle -607C au lieu de l'allèle -607A dans les populations pakistanaise (0,51) (**Imran et al., 2014**), taïwanaise (0,53) (**Tsai et al., 2013**), chinoise (0,54) (**Wu et al., 2012**), coréenne (0,55) (**Myung et al., 2015**), égyptienne (0,57) (**Shaaban et al., 2014**), allemande (0,60) (**Kruse et al., 2003**) et japonaise (0,63) (**Takada et al., 2002**) (Tableau 20).

Nous avons analysé la distribution des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme *IL18* (-607C/A) entre les cas asthmatiques et les témoins afin d'étudier l'association génétique entre ce polymorphisme et la survenue de l'asthme (Tableau 10). Les

résultats de l'étude statistique, ont montré une différence statistiquement significative dans la distribution des fréquences génotypiques et alléliques entre les deux groupes avec une augmentation significative de la fréquence du génotype homozygote pour l'allèle muté AA ($p=0,029$) et de l'allèle muté -607A dans le groupe des cas par rapport aux témoins ($p=0,006$). L'étude de la régression logistique, montre que le risque d'asthme associé à l'allèle A du polymorphisme -607C/A, est de 1,531. Ces résultats nous ont permis de suggérer que ce polymorphisme peut être associé à l'asthme dans notre population. Nos résultats sont en accord avec les conclusions d'autres études réalisées dans différentes populations. Cette association a été montrée notamment dans les populations tunisienne (Lachheb *et al.*, 2007), chinoise (Chen *et al.*, 2008 ; Wu *et al.*, 2012), coréenne (Lee *et al.*, 2006b) et polonaise (Pawlik *et al.*, 2007). De plus, une méta-analyse portant sur 5 études cas/témoins regroupant près de 1411 cas d'asthme et 1525 témoins, a conclu à la présence d'association entre ce polymorphisme et le risque d'asthme (Ma *et al.*, 2012). En revanche, d'autres études ont rapporté une absence d'association entre ce polymorphisme et l'asthme, notamment celles menées sur la population égyptienne (Shaabane *et al.*, 2014), allemande (Kruse *et al.*, 2003; Heinzmann *et al.*, 2004) et tchèque (Sebelova *et al.*, 2007). Similairement, une méta-analyse portant sur 21 études impliquant 5331 cas d'asthme et 9658 témoins d'origines ethniques différentes, rapporte l'absence d'association entre ce polymorphisme et les maladies allergiques (Cheng *et al.*, 2014).

L'étude de l'effet du sexe sur la distribution des fréquences du polymorphisme -607C/A de l'IL-18 dans le groupe cas, a révélé que l'allèle muté -607A, était significativement plus fréquent chez les femmes asthmatiques que chez les hommes ($p<0.05$). À notre connaissance, aucune étude ne s'est intéressée, mis à part la notre, à l'association entre le sexe et le polymorphisme *IL18* (-607C/A) chez les sujets asthmatiques.

L'analyse statistique de la distribution des fréquences génotypiques et alléliques en terme de présence ou absence des antécédents familiaux d'asthme chez les cas d'asthme, a permis de noter une différence statistiquement significative ($p<0.05$), l'allèle muté était plus fréquent chez les asthmatiques possédant des antécédents familiaux d'asthme que chez les asthmatiques sans antécédents familiaux d'asthme. À notre connaissance, notre étude est la première intéressée à rechercher l'association entre ce facteur de risque et le polymorphisme *IL18* (-607C/A) chez cas asthmatiques.

Concernant l'étude d'association entre les fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme IL-18 (-607C/A) et les antécédents personnels allergiques, nous n'avons pas

pu trouver une différence statistiquement significative dans la distribution des fréquences génotypiques et alléliques de ce polymorphisme en fonctions de la présence ou l'absence des antécédents personnels allergiques. Notre résultat concorde avec les travaux de **Sebelova *et al.***, (2007) qui n'ont pas trouver une association significative entre ce polymorphisme et les antécédents atopiques chez des sujets asthmatiques dans une population Tchèque.

Tableau 23 : Distribution allélique du polymorphisme *IL-18* (-607C/A) dans les différentes populations étudiées dans le monde.

Année	L'ethnie	Pays	Nombre de témoin (n)	Fréquence de l'allèle C	Fréquence de l'allèle A	Références
2001	Caucasien	Suède	278	0,59	0,41	Giedraitis <i>et al.</i> , 2001
2002	Asiatique	Japon	130	0,37	0,63	Takada <i>et al.</i> , 2002
2003	Asiatique	Singapore	470	0,54	0,46	Sivalingam <i>et al.</i> , 2003
2003	Caucasien	Allemagne	105	0,40	0,60	Kruse <i>et al.</i> , 2003
2004	Caucasien	Allemagne	224	0,58	0,42	Heinzmann <i>et al.</i> , 2004
2004	Caucasien	Nederland	103	0,63	0,37	Janssen <i>et al.</i> , 2004
2004	Asiatique	Japon	114	0,45	0,55	Ide <i>et al.</i> , 2004
2004	Caucasien	Etats-Unis	157	0,60	0,40	Cadoso <i>et al.</i> , 2004
2005	Asiatique	Corée	140	0,54	0,46	Shin <i>et al.</i> , 2005
2005	Caucasien	RepubliqueTchèque	278	0,58	0,42	Novota <i>et al.</i> , 2005
2005	Caucasien	Allemagne	121	0,60	0,40	Fowaczny <i>et al.</i> , 2005
2005	Caucasien	Italie	131	0,56	0,44	Boniotto <i>et al.</i> , 2005
2006	Asiatique	Corée du Sud	166	0,51	0,49	Lee <i>et al.</i> , 2006b
2006	Caucasien	Croatie	132	0,59	0,41	Boraska <i>et al.</i> , 2006
2006	Caucasien	Angleterre	1715	0,62	0,38	Szeszko <i>et al.</i> , 2006
2006	Asiatique	Corée	103	0,48	0,52	Lee <i>et al.</i> , 2006a
2006	Asiatique	Iran	103	0,57	0,43	Naeimi <i>et al.</i> , 2006
2006	Asiatique	Chine	179	0,51	0,49	Leung <i>et al.</i> , 2006
2006	Américain	Brésil	104	0,54	0,46	Segat <i>et al.</i> , 2006
2006	Caucasien	Italie	139	0,53	0,47	Bossù <i>et al.</i> , 2006
2007	Caucasien	RépubliqueTchèque	312	0,62	0,38	Sebelova <i>et al.</i> , 2007
2007	Caucasien	Pologne	305	0,59	0,41	Pawlik <i>et al.</i> , 2007
2007	Caucasien	Estonie	19	0,67	0,33	Pullat <i>et al.</i> , 2007
2007	Arabe	Tunisie	112	0,67	0,33	Lachheb <i>et al.</i> , 2007
2007	Asiatique	Singapour	436	0,66	0,34	Xu <i>et al.</i> , 2007
2008	Arabe	Tunisie	81	0,53	0,47	Bouzzgarrou <i>et al.</i> , 2008
2009	Caucasien	Allemagne	791	0,61	0,39	Stephan <i>et al.</i> , 2009
2010	Asiatique	Chine	348	0,52	0,48	Zhang <i>et al.</i> , 2010
2010	Caucasien	Irlande	322	0,55	0,45	Brophy <i>et al.</i> , 2010
2010	Caucasien	Espagne	405	0,59	0,41	Palomino-Morales <i>et al.</i> , 2010
2011	Asiatique	Chine	614	0,67	0,33	Ming <i>et al.</i> , 2011
2011	Caucasien	Turquie	253	0,64	0,36	Htoon <i>et al.</i> , 2011
2011	Asiatique	Chine	296	0,53	0,47	Han <i>et al.</i> , 2011
2012	Asiatique	Chine	120	0,46	0,54	Wu <i>et al.</i> , 2012
2012	Caucasien	Etats-Unis	300	0,72	0,28	Johnson <i>et al.</i> , 2012
2012	Asiatique	Inde	122	0,68	0,32	Chen et Gan, 2012
2012	Asiatique	Malaisie	153	0,66	0,34	Chen et Gan, 2012
2013	Caucasien	Pologne	62	0,53	0,47	Pawlik <i>et al.</i> , 2012
2013	Asiatique	Thaïlande	466	0,47	0,53	Tsai <i>et al.</i> , 2013
2014	Arabe	Egypte	20	0,43	0,57	Shaaban <i>et al.</i> , 2014
2014	Arabe	Egypte	123	0,45	0,55	Mandour <i>et al.</i> , 2014
2014	Asiatique	Pakistan	120	0,49	0,51	Imran <i>et al.</i> , 2014
2015	Américain	Brésil	376	0,57	0,43	Santos <i>et al.</i> , 2015
2015	Asiatique	Corée	222	0,45	0,55	Myung <i>et al.</i> , 2015
2016	Asiatique	Chine	165	0,60	0,40	Bao <i>et al.</i> , 2015
2016	Amérique	Colombie	588	0,53	0,47	Rodriguez <i>et al.</i> , 2016

4- Le polymorphisme -590C/T du gène d'interleukine-4

La sélection du gène interleukine-4 (*IL-4*) a été motivée par plusieurs raisons, telle son rôle primordial dans la différenciation des lymphocytes Th0 en lymphocytes Th2, cellules productrices de cytokines pro-inflammatoires telles l'IL-4, l'IL-5, l'IL-9 et l'IL-13 (**Paul, 1991; Steinke et Borish, 2001**), son rôle important dans la régulation et la production des IgE (**Coffman et al., 1986; Pawankar et al., 1997**), son implication dans le recrutement et la migration des lymphocytes T, des monocytes, des basophiles et des éosinophiles au site d'inflammation dans la sous-muqueuse et la lumière bronchiques, sa surexpression dans la muqueuse bronchique des patients asthmatiques (**Humbert et al., 1996**), pour les travaux génétiques et fonctionnels que l'on retrouve abondamment dans la littérature ou pour valider les études d'association génétique antérieures. Le gène *IL-4* est situé dans le chromosome 5q31-33, région chromosomique liée à l'asthme et l'atopie dans plusieurs études de liaison (**Noguchi et al., 1997; Palmer et al., 1998 ; Hizawa et al., 1998 ; Ober et al., 1998**). L'*IL-4* est un gène polymorphe avec un nombre important de SNPs qui ont été rapportés dans de nombreuses études (**Uboldi de Capei., 2002 ; Gyan et al., 2004 ; Verra et al., 2004 ; Lai et al., 2005 ; Scorpil et al., 2007 ; Amirzargar et al., 2007; Miaskowski et al., 2012**). Parmi eux, quelques uns ont été associés à l'asthme et à l'atopie (**Kawashima et al., 1998; Beghé et al., 2003; Lu et al., 2011; Chiang et al., 2012**). Le SNP étudié dans la présente étude *IL-4* (-590C/T) (rs2243250), est le plus connu, lequel résulte du changement de base (cytosine par thymine) à la position -590 du promoteur. Les études ont montré qu'une substitution de l'allèle -590C par l'allèle -590T, entraîne la transition d'un site de liaison faible pour le facteur de transcription NF-AT1 (GGAGAA) vers un site de liaison plus fort (GGAAAA), ce qui influence la régulation transcriptionnelle de l'IL-4 (**Nguyen et al., 2004**). Un tel polymorphisme fonctionnel dans le gène *IL-4*, peut élever les niveaux de IL-4 et influence ainsi les événements dépendants de l'IL-4 qui déterminent la progression de la maladie. Plusieurs études récentes, ont démontré une association de l'allèle T à la position -590 du gène de l'*IL-4* avec l'asthme et l'atopie. En 1995, Rosenwasser *et al.*, ont d'abord rapporté une association entre le polymorphisme *IL-4* (-590 C / T) et des niveaux sériques d'IgE totale dans la population américaine. Depuis leurs travaux, plusieurs articles ont rapporté des études sur l'association de ce polymorphisme avec l'asthme (**Kawashima et al., 1998; Zhu et al., 2000 ; Snadford et al., 2000 ; Beghé et al., 2003 ; et al. 2004 ; Trajkov et al., 2008; Amirzargar et al., 2009; Lu et al., 2011; Chiang et al., 2012; Micheal et al., 2013; Caniatti et al., 2014; Dahmani et al., 2016**).

La distribution allélique du polymorphisme *IL-4* (-590C/T) dans la population des témoins, a révélé que l'allèle -590C représente l'allèle majeur (0,83) tandis que l'allèle -590T représente l'allèle mineur (0,17). La fréquence de l'allèle mineur de ce polymorphisme est particulièrement identique de celle d'une population de l'ouest algérien (région de Chlef) (0,18) (**Ziani et Baba Hamed, 2016**), de la population italienne (0,18) (**Verra et al., 2004**), des Pays-Bas (0,18) (**Paffen et al., 2008**), allemande (0,17) (**Schwarz et al., 2006**), des Etats-Unis (0,16) (**Donfack et al., 2005**), espagnole (**Urcelay et al., 2005**), taïwanaise (0,18) (**Su et al., 2012**) et iranienne (0,18) (**Rad et al., 2010**). Elle est proche de celles des populations polonaise (0,15) (**Pawlik et al., 2005**), norvégienne (0,15) (**Ekstrom et al., 2002**), de la Nouvelle-Zélande et anglaise (0,14) (**Hunt et al., 2000 ; et al., 1999; Beghé et al., 2003**), tandis qu'elle est plus élevée que celle décrite chez les populations jordanienne et portugaise (0,1) (**Attab et al., 2008 ; Berenguer et al., 2014**). D'autre part, cette fréquence est inférieure à celle rapportée dans les populations: suédoise (0,27) (**Gyan et al., 2004**), macédonienne (0,34) (**Trajkov et al., 2008**), indienne et brésilienne (0,35) (**Jha et al., 2012; Caniatti et al., 2014**), pakistanaise (0,39) (**Michel et al., 2013**) et une population de l'est algérien (**Dahmani et al., 2016**). Toutefois, il a été rapporté dans d'autres études, que l'allèle mineur est l'allèle -590C au lieu de l'allèle -590T dans les populations: mexicaine (0,59) (**Lopez et al., 2007**), japonaise (0,70) (**Tanaka et al., 2001**), koweïtienne et malienne (0,76) (**Hijazi et Haider, 2000; Toure et al., 2012**), taïwanaise (0,78) (**Hsieh et al., 2002**), coréenne (0,81) (**Jun et al., 2002**) et chinoise (0,83) (**Lu et al., 2014**) (**Tableau 21**).

Les résultats de l'analyse d'association nous a permis d'observer une augmentation de l'allèle mineur T chez les cas d'asthme comparé aux témoins. Cependant, cette augmentation est non statistiquement significative ($p=0,055$), ce résultat nous a permis de suggérer que le polymorphisme du promoteur *IL-4* à la position -590 ne semble pas être associé à l'asthme dans la population oranaise étudiée. Nos résultats supportent de nombreuses études sur différentes populations qui n'ont pas trouvé une forte association de ce polymorphisme avec l'asthme. Dans une population koweïtienne, **Hijazi et Haider** (2000), ont échoué à trouver une association significative du polymorphisme *IL-4* -590 avec l'asthme. Ce SNP n'a pas été associé à l'asthme également dans les populations jordanienne (**Attab et al., 2008**), saoudienne (**Hussein et al., 2016**), australienne (**Elliott et al., 2001**), chinoise (**Cui et al., 2003 ; Ramphul et al., 2014**), iranienne (**Kamali-Sarvestani et al., 2007; Rad et al., 2010; Daneshmandi et al., 2011**), italienne (**Rigoli et al., 2004**), russe (**Freiden et al., 2002**), britannique (**Walley et Cookson, 1996**), espagnole (**De Faria et al., 2008**), indienne

(Nagarkatti *et al.* 2004; Bijanadeh *et al.*, 2010) et mexicaine (Lopez *et al.*, 2007). En revanche, deux études cas/témoins menées sur la population algérienne, ont trouvé une association significative entre ce polymorphisme et l'asthme (Ziani et Baba Hamed, 2016; Dahmani *et al.*, 2016). En outre, une autre étude a montré l'association de ce polymorphisme avec l'asthme et le taux des IgE totaux chez des enfants allemands asthmatiques (Kabesch *et al.*, 2006). De même, Micheal *et al.* (2013), ont montré une association significative de l'allèle -590 T avec l'asthme et la rhinite allergique dans une population pakistanaise. Ainsi, cette association a été rapportée chez des populations japonaise (Kawashima *et al.*, 1998), iranienne (Farahabadi *et al.*, 2007; Amirzargar *et al.*, 2009), des Etats-Unis (Basehore, 2004; Donfack *et al.*, 2005), macédonienne (Trajkov *et al.*, 2008), chinoise (Lu *et al.*, 2011), taïwanaise (Beghé *et al.*, 2003; Chiang *et al.*, 2012), brésilienne (Caniatti *et al.*, 2014), portugaise (Berneguer *et al.*, 2014) et de la Colombie Britannique (Sandford *et al.*, 2000). De plus, en 2008, Li *et al.*, ont réalisé une méta-analyse portant sur 14 études cas/témoins regroupant 2401 cas et 3205 contrôles. Les résultats de cette analyse ont montré que l'allèle T du polymorphisme *IL-4* (-590 C/T), pourrait contribuer au développement de l'asthme. En 2014, une seconde méta-analyse portant sur 21 études cas/témoins regroupant près de 6421 cas d'asthme et 4755 témoins, a confirmé ces résultats dans les populations européennes (Tang *et al.*, 2014).

Nos résultats concernant le polymorphisme *IL-4* (-590 C/T) ne permettent pas de confirmer les associations observées dans d'autres populations, mais permettent de se rallier aux autres études où ce variant de l'*IL4* n'a pas été associé à l'asthme ou à ses phénotypes reliés (Walley et Cookson, 1996; Hijazi et Haidar, 2000 ; Heinzmann *et al.*, 2000a ; Attab *et al.*, 2008 ; Hussein *et al.*, 2016). Dans la plupart des études d'association rapportées, l'allèle muté du gène *IL4* est associé à une augmentation de l'expression du gène (Noguchi *et al.*, 1998). L'explication serait que la dite mutation (-590 C/T) favoriserait l'activité du promoteur afin de permettre la surproduction d'*IL-4* dans les différents tissus (Kawashima *et al.*, 1998). Ainsi, on pourrait déduire que cette mutation serait responsable de la surproduction d'*IL-4* observée dans les tissus bronchiques de sujets asthmatiques (Humbert *et al.*, 1996). Il est possible que le polymorphisme *IL-4* (-590 C/T) soit suffisant, mais non nécessaire à une surexpression d'*IL-4* dans le tissu bronchique d'asthmatique. Des études génétiques haplotypiques utilisant d'autres SNPs et des études fonctionnelles supplémentaires seraient nécessaires afin de déterminer le rôle exact de l'*IL-4* dans l'asthme et aussi, afin de confirmer si ce gène est réellement un gène de susceptibilité à l'asthme.

L'analyse de la distribution génotypique et allélique du polymorphisme IL-4 (-590C/T) en terme du sexe chez les cas d'asthme a révélé une augmentation significative de l'allèle muté -590T chez les femmes asthmatiques ($p < 0,05$) par rapport aux hommes. Notre résultat ne concorde pas avec les travaux de (**Daneshmandi et al., 2011**), qui n'ont pas pu trouver une différence statistiquement significative dans la distribution des fréquences génotypiques et alléliques de ce polymorphisme en fonction du sexe chez la population iranienne. Dans la même étude, **Daneshmandi et al.**, n'ont pas trouvé une association significative entre l'allèle muté -590T et l'asthme en fonction de la présence des antécédents familiaux, ce qui concorde avec nos résultats ($p > 0,05$).

L'étude d'association entre le polymorphisme -590C/T du gène d'IL-4 et les antécédents personnels allergiques au sein de la population des cas a révélé une différence statistiquement significative dans la distribution des fréquences génotypiques et alléliques de ce polymorphisme en fonction de la présence d'un historique personnel allergique. Nos résultats concordes avec d'autres études qui ont rapportés une association significative entre ce polymorphisme et les antécédents allergiques chez les sujets asthmatiques (**He et al., 2003 ; Qiao et al., 2005; Lu et al., 2011**), notamment une étude qui a été menée sur la population algérienne par **Dahmani et al.**, (2016), où les chercheurs ont trouvé une forte association entre le génotype homozygote muté TT et la présence d'antécédents allergiques chez les asthmatiques .

Tableau 24 : Distribution allélique du polymorphisme *IL-14* (-590C/T) dans les différentes populations étudiées dans le monde.

Année	L'ethnie	Pays	Nombre de témoin (n)	Fréquence de l'allèle C	Fréquence de l'allèle T	Références
1998	Asiatique	Japon	215	0,30	0,70	Kawashima <i>et al.</i> , 1998
1999	Caucasien	Angleterre	101	0,86	0,14	Mullighan <i>et al.</i> , 1999
2000	Arabe	Kuwait	83	0,24	0,76	Hijazi et Haider, 2000
2000	Caucasien	Nouvelle Zélande	101	0,86	0,14	Hunt <i>et al.</i> , 2000
2000	Caucasien	Colombie Britannique	143	0,87	0,13	Sandford <i>et al.</i> , 2000
2001	Caucasien	Pays-Bas	36	0,77	0,23	Bijlsma <i>et al.</i> , 2002
2001	Asiatique	Japon	116	0,32	0,68	Tanaka <i>et al.</i> , 2001
2002	Asiatique	Iran	42	0,77	0,23	Kamail-Sarvestani <i>et al.</i> , 2002
2002	Caucasien	Norvège	4000	0,85	0,15	Ekstrom <i>et al.</i> , 2002
2002	Américain	Brésil	114	0,63	0,37	Scarel-Caminaga <i>et al.</i> , 2003
2002	Asiatique	Corée du Sud	165	0,19	0,81	Jun <i>et al.</i> , 2002
2002	Asiatique	Taiwan	103	0,22	0,78	Beghé <i>et al.</i> , 2002
2002	Caucasien	Russie	64	0,61	0,39	Freiden <i>et al.</i> , 2002
2002	Caucasien	Tadjikistan	33	0,65	0,35	Freiden <i>et al.</i> , 2002
2003	Caucasien	Royaume-Uni	182	0,86	0,14	Sivalingam <i>et al.</i> , 2003
2003	Caucasien	Italie	140	0,89	0,11	Uboldi de Capei <i>et al.</i> , 2003
2004	Caucasien	Etats-Unis	245	0,86	0,14	Basehore <i>et al.</i> , 2004
2004	Africain-American	Etats-Unis	269	0,33	0,67	Basehore <i>et al.</i> , 2004
2004	Hispanique	Mexique	130	0,65	0,35	Basehore <i>et al.</i> , 2004
2004	Caucasien	Italie	280	0,82	0,18	Verra <i>et al.</i> , 2004
2004	Caucasien	Suède	135	0,73	0,27	Gyan <i>et al.</i> , 2004
2005	Asiatique	Malaisie	54	0,40	0,60	Zhang <i>et al.</i> , 2005
2005	Caucasien	Espagne	354	0,84	0,16	Urcelay <i>et al.</i> , 2005
2005	Caucasien	Pologne	410	0,80	0,20	Kurzwaki <i>et al.</i> , 2005
2005	Caucasien	Allemagne	347	0,69	0,31	Haas <i>et al.</i> , 2005
2005	Caucasien	Etats-Unis	205	0,84	0,16	Donfack <i>et al.</i> , 2005
2005	Asiatique	Iran	40	0,65	0,35	Amirzargar <i>et al.</i> , 2005
2005	Asiatique	Taiwan	163	0,20	0,80	Chou <i>et al.</i> , 2005
2005	Asiatique	Chine	103	0,22	0,78	Wu <i>et al.</i> , 2005
2005	Caucasien	Pologne	102	0,85	0,15	Pawlik <i>et al.</i> , 2005
2006	Caucasien	Grèce	63	0,76	0,24	Vairaktaris <i>et al.</i> , 2006
2006	Caucasien	Russie	68	0,58	0,42	Gervaziev <i>et al.</i> , 2006
2006	Caucasien	Allemagne	251	0,83	0,17	Schwarz <i>et al.</i> , 2006
2006	Caucasien	Italie	280	0,89	0,11	De Filippi <i>et al.</i> , 2006
2006	Asiatique	Inde	127	0,89	0,11	Vidyanani <i>et al.</i> , 2006
2007	Américain	Mexique	54	0,47	0,53	Lopez <i>et al.</i> , 2006
2007	Asiatique	Hong Kong	170	0,22	0,78	Mak <i>et al.</i> , 2007
2007	Asiatique	Iran	139	0,54	0,46	Amirzargar <i>et al.</i> , 2007
2007	Caucasien	Allemagne	103	0,84	0,16	Skorpil <i>et al.</i> , 2007
2007	Caucasien	République Tchèque	102	0,85	0,15	Skorpil <i>et al.</i> , 2007
2007	Asiatique	Iran	50	0,88	0,12	Hosseini-Farahabadi <i>et al.</i> , 2007
2007	Asiatique	Chine	119	0,20	0,80	Shiau <i>et al.</i> , 2007
2008	Arabe	Jordanie	40	0,90	0,10	Attab <i>et al.</i> , 2008

2008	Caucasien	Macédoine	301	0,66	0,34	Trjkov <i>et al.</i>, 2008
2008	Caucasien	Pays-Bas	282	0,82	0,18	Paffen <i>et al.</i>, 2008
2010	Asiatique	Iran	109	0,82	0,18	Rad <i>et al.</i>, 2010
2011	Caucasien	Etats-Unis	298	0,88	0,12	Baye <i>et al.</i>, 2011
2011	Africain- Américain	Etats-Unis	55	0,53	0,47	Baye <i>et al.</i>, 2011
2011	Asiatique	Chine	275	0,24	0,76	Lu <i>et al.</i>, 2011
2012	Asiatique	Inde	156	0,65	0,35	Jha <i>et al.</i>, 2012
2012	Asiatique	Taiwan	106	0,23	0,77	Chiang <i>et al.</i>, 2012
2012	Africain	Mali	450	0,24	0,76	Toure <i>et al.</i>, 2012
2012	Asiatique	Taiwan	1075	0,82	0,18	Su <i>et al.</i>, 2012
2012	Asiatique	Iran	124	0,86	0,14	Daneshmandi <i>et al.</i>, 2012
1013	Asiatique	Pakistan	120	0,61	0,39	Micheal <i>et al.</i>, 2013
2014	Asiatique	Chine	170	0,17	0,83	Lu <i>et al.</i>, 2014
2014	Américain	Brésil	116	0,65	0,35	Caniatti <i>et al.</i>, 2014
2014	Caucasien	Portugal	105	0,90	0,1	Berenguer <i>et al.</i>, 2014
2014	Asiatique	Chine	298	0,20	0,80	Li <i>et al.</i>, 2014
2016	Arabe	Algérie	80	0,61	0,39	Dahmani <i>et al.</i>, 2016
2016	Arabe	Algérie	100	0,82	0,18	Ziani et Baba Hamed, 2016
2016	Américain	Mexique	200	0,56	0,44	Torres-poveda <i>et al.</i>, 2016

5- Le polymorphisme +874 A/T du gène d'interféron- γ

L'INF- γ appartient à la famille des interférons de type II. C'est une cytokine sécrétée par les lymphocytes T, NKT, B et les cellules présentatrices d'antigène (Lee *et al.*, 2012). Elle joue un rôle crucial dans l'activation des macrophages, l'inflammation, la défense de l'hôte contre les pathogènes intracellulaires, la réponse Th1 et le contrôle des tumeurs (Stark, 2007). Le gène d'IFN γ est situé sur le chromosome 12q24 couvrant 5,4 kb, il est composé de 4 exons et 3 introns (Gray et Goeddel, 1982). La région codante du gène d'IFN- γ , est invariante, sans polymorphismes rapportés (Hayden *et al.*, 1997). Cependant, il existe quelques SNPs dans la région non-codante du gène (pravica *et al.*, 1999). Le plus important est le +874 A/T qui est situé à l'extrémité 5' de la région répétitif CA (Nieters *et al.*, 2001). Il a été montré que l'allèle T de ce polymorphisme est lié à une forte expression du gène d'interféron- γ . En effet, la présence de ce polymorphisme crée un site de liaison au facteur nucléaire-KB (NF-KB), ce dernier, se lie préférentiellement à l'allèle T et il est corrélé à une forte production d'interféron γ (Pravica *et al.*, 2000). Cette liaison préférentielle à l'allèle T, suggère que la variabilité génétiquement déterminée de l'expression de l'IFN pourrait être importante pour la réponse inflammatoire activée par la voie NF-kB. Le polymorphisme IFN- γ (+874A/T), a été montré d'être associé à l'asthme et d'autres maladies inflammatoires dans différentes études (Li *et al.*, 2007 ; Hussein *et al.*, 2009; Bermudez *et al.*, 2012; Abd-ElShafy *et al.*, 2014; Huang *et al.*, 2014; Yao *et al.*, 2015).

D'après l'analyse de la distribution allélique du polymorphisme IFN- γ (+874A/T) dans la population témoin, l'allèle +874A, représente l'allèle majeur avec une fréquence de 0,53 tandis que l'allèle +874 T représente l'allèle mineur et sa fréquence (MAF) est égale à 0,47. Cette fréquence est similaire à celle retrouvée dans les populations britannique, (0,47) (Howell *et al.*, 2003), croate (0, 47) (Etokebe *et al.*, 2006), des Etats-Unis (0,47) (Hoffmann *et al.*, 2002; Hoffmann *et al.*, 2004), brésilienne (0,47) (do Carmo *et al.*, 2012), iranienne (0,47) (Tamandani *et al.*, 2014), indienne (Jain *et al.*, 2017) et française (0,48) (Ghesquières *et al.*, 2013), elle est proche de celles des populations : italienne (0,49) (Pes *et al.*, 2004 ; Forte *et al.*, 2009), chinoise et indienne (0,45) (Gao *et al.*, 2009 ; Gangwar *et al.*, 2009), espagnole (0,44) (Lopez-Maderuelo *et al.*, 2003), suédoise et turque (0,43) (Dilek *et al.*, 2009 ; Ivansson *et al.*, 2010) et tunisienne (0,50) (Bouzgarrou *et al.*, 2009). Cette fréquence est plus élevée que celle décrite chez les populations d'Argentine (0,41) (Prigoshin *et al.*, 2004), finlandaise et syrienne (0,39) (Pertovaara *et al.*, 2007 ; Al Kadi *et al.*, 2017),

allemande (0,38) (Pullat *et al.*, 2007), pakistanaise (0,37) (Ansari *et al.*, 2011), saoudienne (0,33) (Al-Mohaya *et al.* 2016), sénégalienne (0,17) (Cooke *et al.* 2006) coréenne (0,13) (Cheong *et al.*, 2006) et japonaise (0,1) (Migita *et al.*, 2005). Inversement, d'autres études ont rapporté que l'allèle mineur est l'allèle +874A au lieu de l'allèle +874T dans les populations égyptienne (0,80) (Abd-Elshafy *et al.*, 2015), taïwanaise (0,85) (Lee *et al.*, 2013), chinoise (0,84) (Wang *et al.*, 2014), des Pays-Bas (0,61) (Boer *et al.*, 2011) et macédonienne (Trajkov *et al.*, 2009) (Tableau 22).

Très peu d'études d'association se sont intéressées à évaluer l'impact du polymorphisme +874 A/T du gène *IFN-γ* sur la susceptibilité et le développement d'asthme. Dans la présente étude, nos résultats n'ont pas abouti à une association significative entre ce SNP et le risque d'asthme dans notre population. En effet, la comparaison de la distribution génotypique et allélique du polymorphisme *IFN-γ* (+874 A/T) entre les cas et les témoins a révélé une augmentation du génotype AA et de l'allèle +874A chez les asthmatiques par rapport aux témoins (32%, 25% respectivement). Cependant, ce résultat n'a pas atteint la signification statistique requise pour établir une association certaine entre les deux ($p > 0,05$). Ceci est en accord avec les conclusions d'autres études réalisées dans d'autres groupes ethniques. Cette absence d'association a été montrée notamment dans les populations iranienne (Rad *et al.*, 2010; Daneshmandi *et al.*, 2012), macédonienne (Stavric *et al.*, 2012), des Etats-Unis (Loisel *et al.*, 2011) et allemande (von Ohly, 2006). En revanche, deux études cas/témoins menées sur la population égyptienne ont indiqué que l'allèle +874 A est fortement associé à l'asthme (Hussein *et al.*, 2009 ; Abd-Elshafy *et al.*, 2015). En outre, une autre étude a montré que cet allèle est associé à l'asthme atopique chez la population saoudienne (Husein *et al.*, 2014). De même, les résultats de Li et ses collaborateurs en 2007, ont montré que l'allèle +874A a été associé à une augmentation significative du risque d'asthme dans la population chinoise. De plus, une première méta-analyse portant sur 9 études cas/témoins regroupant près de 470 cas d'asthme et 517 témoins, a suggéré une possible association de ce polymorphisme avec le risque d'asthme (Huang *et al.*, 2014). En 2015, Yao *et al.*, ont réalisé une seconde méta-analyse portant sur 5 études et regroupant 350 cas et 454 témoins. Les résultats de cette analyse, ont montré que l'allèle +874A pourrait contribuer à la susceptibilité de l'asthme.

Dans le présent travail, le variant +874A/T du gène *IFN-γ* n'est pas associé à l'asthme dans la population étudiée. Cependant, ces résultats ne permettent pas d'exclure son rôle dans la physiopathologie de l'asthme. Il se pourrait que le SNP *IFN-γ* (+874 A/T) ne soit pas

suffisant à lui seul pour induire le développement de la maladie, mais ceci pourrait être possible s'il était en déséquilibre de liaison avec un ou plusieurs autres SNPs (des analyses haplotypiques seraient nécessaires pour vérifier cette hypothèse).

Concernant l'étude de l'association entre le polymorphisme *IFN-γ* (+874A/T) et le sexe chez les asthmatiques, nous n'avons pas trouvé une différence statistiquement significative dans la distribution des fréquences génotypiques et alléliques de ce polymorphisme en fonction de ce facteur de risque. Cette constatation concorde avec les observations de Daneshhmandi *et al.*, (2011), L'étude menée sur une population iranienne constituée de 81 patients d'asthme et 124 témoins, n'a pas révélé une association significative entre le polymorphisme *IFN-γ* (+874A/T) en fonction du sexe. Ce résultat a été confirmé par Abd-Elshafy *et al.*, (2015) sur la population égyptienne. En revanche, une étude cas/témoins menée sur une population des États-Unis a noté une forte prévalence de l'allèle + 874A chez les femmes asthmatiques comparées aux hommes (Loisel *et al.*, 2011).

D'autre part, notre étude nous a révélé une différence statistiquement significative dans la distribution des fréquences alléliques de l'*IFN-γ* (+874A/T) chez des patients d'asthme en terme de présence ou absence d'antécédents familiaux. L'allèle +874A était significativement plus fréquent chez les patients d'asthme ne possédant des antécédents familiaux d'asthme comparés aux asthmatiques ayant des antécédents familiaux de la maladie. Cependant, la distribution des fréquences génotypiques n'a pas été statistiquement significative ($p > 0,05$). Notre résultat ne concorde pas avec les travaux de Daneshhmandi *et al.*, (2011) qui n'ont pas révélé une forte association entre le polymorphisme +874A/T du gène *IFN-γ* et l'asthme en fonction des antécédents familiaux de la maladie d'asthme.

En ce qui concerne l'analyse de la distribution des fréquences génotypiques et alléliques chez les cas d'asthme en fonction de la présence ou l'absence des antécédents personnels allergiques, nos résultats n'aboutissent à aucune association significative entre ce polymorphisme et l'existence des antécédents personnels allergiques. Ceci est en accord avec les observations notées sur la population iranienne (Daneshhmandi *et al.*, 2011).

Finalement, les résultats de la présente étude ne sont toutefois que tout à fait préliminaires. Ils correspondent à une étude plus exploratoire que confirmatoire. La comparaison de nos résultats avec d'autres études et la divergence des conclusions dans les différentes populations est probablement la conséquence d'un côté, à la différence entre les tailles des échantillons étudiés par chaque équipe et d'un autre côté, de la variation de la fréquence des allèles de ces

polymorphismes entre différentes populations ethniques. De plus, bien que l'accent n'ait pas été mis sur les facteurs environnementaux pour ce travail, leur importance est fondamentale dans le développement du trait complexe que représente l'asthme. À cet effet, il faudra effectuer des analyses d'interaction gène-environnement afin de mesurer l'impact que représente leur exposition.

Tableau 25 : Distribution allélique du polymorphisme *IFN- γ* (+874A/T) dans les différentes études cas/témoins.

Année	Groupe ethnique	Pays	Nombre de témoins (n)	Fréquence de l'allèle A	Fréquence de l'allèle T	Références
2002	Caucasien	Etats-Unis	186	0,53	0,47	Hoffmann <i>et al.</i> , 2002
2003	Caucasien	Espagne	100	0,56	0,44	Lopez-Maderuelo <i>et al.</i> , 2003
2003	Caucasien	Royaume-Uni	164	0,53	0,47	Howell <i>et al.</i> , 2003
2003	Africain	Sud-Afrique	140	0,84	0,16	Govan <i>et al.</i> , 2003
2004	Caucasien	Italie	94	0,51	0,49	Pes <i>et al.</i> , 2004
2004	Caucasien	Etats-Unis	264	0,53	0,47	Hofmann <i>et al.</i> , 2004
2004	Américain	Argentine	106	0,59	0,41	Prigoshin <i>et al.</i> , 2004
2005	Asiatique	Taiwan	70	0,45	0,55	Dai <i>et al.</i> , 2005
2005	Asiatique	Japon	188	0,90	0,10	Migita <i>et al.</i> , 2005
2005	Américain	Brésil	106	0,59	0,41	Visentainer <i>et al.</i> , 2005
2005	Caucasien	Finlande	63	0,61	0,39	Pertovaara <i>et al.</i> , 2005
2006	Asiatique	Iran	145	0,54	0,46	Kamali-Sarvestani <i>et al.</i> , 2006
2006	Caucasien	Turquie	50	0,63	0,37	Oral <i>et al.</i> , 2006
2006	Asiatique	Chine	449	0,66	0,34	Chong <i>et al.</i> , 2006
2006	Asiatique	Inde	127	0,64	0,36	Vidyarani <i>et al.</i> , 2006
2006	Caucasien	Angleterre	164	0,47	0,53	Dashash <i>et al.</i> , 2006
2006	Caucasien	Croatie	519	0,53	0,47	Etokebe <i>et al.</i> , 2006
2006	Asiatique	Corée du sud	201	0,87	0,13	Cheong <i>et al.</i> , 2006
2007	Américain	Brésil	266	0,58	0,42	Amim <i>et al.</i> , 2007
2007	Caucasien	Allemagne	19	0,62	0,38	Pullat <i>et al.</i> , 2007
2007	Caucasien	Italie	96	0,58	0,42	Falleti <i>et al.</i> , 2007
2008	Asiatique	Inde	230	0,73	0,27	Kordi <i>et al.</i> , 2008
2009	Caucasien	Tunisie	113	0,50	0,50	Bouzgarrou <i>et al.</i> , 2009
2009	Caucasien	Turquie	126	0,57	0,43	Dilek <i>et al.</i> , 2009
2009	Caucasien	Italie	288	0,51	0,49	Forte <i>et al.</i> , 2009
2009	Asiatique	Chine	74	0,55	0,45	Gao <i>et al.</i> , 2009
2009	Caucasien	Turquie	85	0,64	0,34	Karaoglan <i>et al.</i> , 2009
2009	Asiatique	Inde	230	0,55	0,45	Gangwar <i>et al.</i> , 2009
2009	Caucasien	Macédoine	301	0,48	0,52	Trajkov <i>et al.</i> , 2009
2009	Américain	Brésil	191	0,56	0,44	Wastowski <i>et al.</i> , 2009
2009	Finlande	Finlande	176	0,64	0,36	Öhman <i>et al.</i> , 2009
2009	Caucasien	Italie	66	0,48	0,52	Bevilacqua <i>et al.</i> , 2009
2009	Caucasien	Egypte	25	0,10	0,90	Hussein <i>et al.</i> , 2009
2010	Caucasien	Suède	802	0,57	0,43	Ivansson <i>et al.</i> , 2010
2010	Asiatique	Chine	369	0,61	0,39	Chang <i>et al.</i> , 2010
2010	Asiatique	Iran	109	0,51	0,49	Rad <i>et al.</i> , 2010
2010	Caucasien	Egypte	118	0,30	0,70	Mosaad <i>et al.</i> , 2010-
2011	Caucasien	Pays-Bas	61	0,39	0,61	Boer <i>et al.</i> , 2011
2011	Asiatique	Pakistan	166	0,63	0,37	Ansari <i>et al.</i> , 2011
2011	Asiatique	Chine	200	0,57	0,43	Wang <i>et al.</i> , 2011
2012	Caucasien	Espagne	1243	0,50	0,50	Garcia-Bermudez <i>et al.</i> , 2012
2012	Caucasien	Pays-Bas	300	0,46	0,54	Johnson <i>et al.</i> , 2012
2012	Mixte	Brésil	76	0,53	0,47	Do Carmo <i>et al.</i> , 2012

2012	Asiatique	Iran	124	0,55	0,45	Daneshmandi <i>et al.</i> , 2012
2013	Caucasien	France	83	0,52	0,48	Ghesquière <i>et al.</i> , 2013
2013	Asiatique	Inde	881	0,57	0,43	Dwivedi <i>et al.</i> , 2013
2013	Caucasien	Turquie	100	0,45	0,55	Korachi <i>et al.</i> , 2013
2014	Asiatique	Iran	97	0,53	0,47	Tamandani <i>et al.</i> , 2014
2014	Asiatique	Iran	118	0,52	0,48	Bazzaz <i>et al.</i> , 2014
2014	Asiatique	Chine	213	0,16	0,84	Wang <i>et al.</i> , 2014
2014	Asiatique	Chine	97	0,88	0,12	Xu <i>et al.</i> , 2014
2014	Caucasien	Tunisie	160	0,39	0,61	Zidi <i>et al.</i> , 2014
2015	Asiatique	Taiwan	202	0,15	0,85	Lee <i>et al.</i> , 2015
2015	Caucasien	Egypte	20	0,20	0,80	Abd-Elshafy <i>et al.</i> , 2015
2015	Asiatique	Chine	480	0,65	0,35	Hu <i>et al.</i> ; 2015
2015	Américain	Brésil	294	0,65	0,35	Freitas <i>et al.</i> , 2015
2016	Arabe	Arabie Saoudite	195	0,67	0,33	Al-Mohaya <i>et al.</i> , 2016
2017	Arabe	Syrie	102	0,61	0,39	AL Kadi <i>et al.</i> , 2017
2017	Asiatique	Inde	36	0,53	0,47	Jain <i>et al.</i> , 2017
2017	Caucasien	Espagne	111	0,82	0,18	Araujo <i>et al.</i> , 2017

CONCLUSION

ET

PERSPECTIVES

Conclusion et Perspectives

Le premier objectif de cette étude était d'évaluer la fréquence des polymorphismes (SNPs) *IL-18*(-137G/C), *IL-18*(-607C/A), *IL-4*(-950C/T) et *IFN- γ* (+874A/T) dans un échantillon d'individus sains de la population de l'Ouest algérien. Ces polymorphismes sont également étudiés par rapport à leur association avec la susceptibilité et le développement de la maladie d'asthme allergique. L'impact de quelques facteurs de risque liés à l'hôte (sexe, antécédents familiaux d'asthme et antécédents personnels allergiques) sur la distribution des fréquences génotypiques et alléliques des polymorphismes étudiés au sein du groupe des asthmatiques est aussi recherché.

La recherche des fréquences de ces SNPs chez la population des témoins a révélé que les allèles mineurs des polymorphismes *IL-18*(-137G/C), *IL-18*(-607C/A), *IL-4*(-950C/T) et *IFN- γ* (+874A/T), sont respectivement les allèles: -137C, -607A, -590T et +874T.

L'étude d'association entre les quatre polymorphismes étudiés dans cette thèse avec la susceptibilité de la maladie asthmatique, a permis de suggérer que dans notre population de l'ouest algérien:

- Le polymorphisme *IL-18*(-137G/C) étudié sur une population de 340 individus (170 cas et 170 témoins) et le polymorphisme *IL-18*(-607C/A) analysé sur un échantillon de 353 sujets (173 cas et 180 témoins), sont associés à la pathologie de l'asthme.
- Le polymorphisme -590 C/T du gène *d'interleukine-4* testé sur une population de 358 individus (176 cas et 182 témoins) et le polymorphisme +874A/T du gène *d'interferon- γ* étudié sur un échantillon de 168 cas et 173 témoins, ne sont pas associés à l'asthme dans la population de la wilaya d'Oran.

Concernant l'analyse de l'impact des facteurs de risque sur la distribution des fréquences génotypiques et alléliques des polymorphismes étudiés chez les patients d'asthme, nous avons constaté que:

- Les allèles mutés -137C, -607A et -590T des polymorphismes *IL-18*(-137G/C), *IL-18*(-607C/A) et *IL-4*(-950C/T) respectivement sont associés au sexe féminin chez la population d'asthmatique étudiée. Par contre aucune association par rapport au sexe n'est trouvé concernant le polymorphisme *IFN- γ* (+874A/T).

- Les polymorphismes *IL-18*(-137G/C), *IL-18*(-607C/A) et *IFN-γ* (+874A/T) sont associés aux antécédents familiaux d'asthme dans la population des asthmatiques. Par contre aucune association n'est trouvée entre le polymorphisme *IL-4* (-590C/T) et ce facteur de risque
- Le polymorphisme *IL-4* (-590C/T) est associé à la présence des antécédents personnels allergiques au sein du groupe des cas. Cependant, l'étude statistique n'a révélé aucune association entre les autres polymorphismes et ce facteur de risque.

Notre étude s'inscrit suite à une longue liste de travaux qui consiste à étudier les déterminants de la susceptibilité génétique de la pathologie de l'asthme. En revanche celle-ci représente la première étude ayant caractérisé les polymorphismes *IL-18*(-137G/C), *IL-18*(-607C/A), *IL-4*(-950C/T) et *IFN-γ* (+874A/T) dans la population oranaise.

De plus, la comparaison de la distribution des fréquences des différents polymorphismes étudiés avec celles des populations d'origines ethniques différentes, nous a permis, de caractériser notre population et de la positionner par rapport à d'autres populations. En outre, toutes les données obtenues dans cette étude sur la distribution des différents allèles de chacun des gènes des cytokines explorés dans notre population témoin, peuvent dorénavant être mises à profit afin de rechercher d'autres associations avec d'autres pathologies inflammatoires ou non qui font intervenir ces mêmes gènes.

En perspectives, notre étude devrait être complétée par l'exploration d'un échantillon plus important des cas et des témoins afin de confirmer ou d'infirmer les associations révélées par cette étude. Par ailleurs, il serait nécessaire d'étudier d'autres polymorphismes localisés sur ces mêmes gènes et d'autres gènes candidats pour la pathologie de l'asthme qui présentent des polymorphismes dont l'impact a été démontré sur la susceptibilité et le développement de la maladie. Il serait également intéressant de compléter ces études par des dosages biochimiques explorant l'effet de ces polymorphismes sur la production des différents cytokines impliqués dans la pathophysiologie d'asthme. Il serait également intéressant d'étudier l'interaction gènes-environnement, sachant qu'une bonne caractérisation des interactions entre des facteurs environnementaux et génétiques, constitue un élément clé dans la compréhension des maladies complexes.

Finalement, hormis les acquis sur le plan scientifique, cette étude nous a permis sur le plan technique, d'acquérir des compétences dans le domaine de l'épidémiologie génétique, ces connaissances pourraient toutefois être exploitées lors d'études futures sur d'autres pathologies et/ou d'autres populations.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographiques

Abd-Elshafy, S.S. Mohamed, R.S. Hammam, A.A et Abd-Elrahman S.K. 2015. Interferon gamma gene polymorphism as a marker of atopy in egyptian asthmatic patients. *Gene Ther. Mol. Biol.* 17: 31-41.

Abehsira-Amar, O. Gibert, M. Joliy, M. Theze, J. et Jankovic, D.L.1992. IL-4 plays a dominant role in the differential development of Tho into Th1 and Th2 cells. *J. Immunol.* 148: 3820-3829.

Acoutey, D.S. 2012. Déterminants génétiques, Nutritionnels et métaboliques de l'asthme professionnel. Université de Lorraine. Nancy. France.

Adel, N. Dutau, H. Gouitaa, M. et Charpin D. 1998. Facteurs de risque de l'asthme grave. *Rev. Mal. Respir.* 15 : 683-697.

Albuquerque, R.V. Hayden, C.M. Palmer, L.J. Laing, I.A. Rye, P.J.,Gibson, N.A. Burton, P.R. Goldblatt, J. et Lesouef P.N. 1998. Association of polymorphisms within the tumour necrosis factor (TNF) genes and childhood asthma. *Clin. Exp. Allergy.* 28:578-584.

Allen, M. Heinzmann, A. Noguchi, E. Abecasis, G. Broxholme, J. Ponting, C.P. Bhattacharyya, S. Tinsley, J. Zhang, Y. Holt, R. Jones, E.Y. Lench, N. Carey, A. Jones, H. Dickens, N.J. Dimon, C. Nicholls, R. Baker, C. Xue, L. Townsend, E. Kabesch, M. Weiland, S.K. Carr, D. von Mutius, E. Adcock, I.M. Barnes, P.J. Lathrop, G.M. Edwards M. Moffatt, M.F. et Cookson, W.O. 2003. Positional cloning of a novel gene influencing asthma from chromosome 2q14. *Nat. Genet.* 35: 258-63.

Al Kadi, M. et Monem F. 2017. Polymorphisms of IFN- γ (+874T/A) in syrian atients with chronic hepatitis B. *Gastroenterol. Hepatol. Bed. Bench.* 10(1): 34-38.

Allegra, L. Blasi, F. Centanni, S. Cosentini, R. Denti, F. et Raccanelli R. 1994. Acute exacerbations of asthma in adults: role of Chlamydia pneumoniae infection. *Eur. Respir. J.* 7(12):2165-2168.

Al-Mohaya, M.A.M. Al-Otaibi, L. Al-Harthi, F. Al-Bakr, E. Arfin, M. et Al-Asmari, A. 2016. Association of genetic polymorphisms in interferon- γ , interleukin-6 and transforming growth factor- β 1 gene with oral lichen planus susceptibility. *BMC. Oral Health.* 16: 76.

Ameille, J. Larbanois, A. Descatha, A. et Vandenplas O. 2007. Epidémiologie et etiologie de l'asthme professionnel. *Arch. Mal. Prof. Env.* 68: 333-348.

Amin, K. Ludviskdottir, D. et Janson C. 2000. Inflammation and structural changes in the airways of patients with atopic and nonatopic asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 162: 2295-2301.

Amirzargar, A.A. Bagheri, M. Ghavamzadeeh, A. Alimoghadam, K. Khosravi, F. Rezaei, N. Moheydein, M. Ansaripour, B. Moradi, B. et Nikbin B. 2005. Cytokine gene polymorphism in Iranian patients with chronic myelogenousleukaemia. *Int. J. Immunol. Genet.* 32: 167-171.

Amirzargar, M. Yavangi, M. Basiri, A. Moghadam, S.H. Khosravi, F. Solgi, G. Gholiaf, M. Khoshkho, F. Dadaras, F. Mahmoudi, M. Ansaipour, B. Amirzargar, A. et Nikbin B. 2007.

Genetic association of interleukin-4, interleukin-10, and transforming growth factor- β gene polymorphism with allograft function in renal transplant patients. *Transplant. P.* 39: 954-957.

Amirzargar, A.A. Movahedi, M. Razaeei, N. Moradi, B. Dorkhosh, S. Mohloji, M. et Madaviani S.A. 2009. Polymorphisms in IL4 and IL4RA confer susceptibility to asthma. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 19(6): 433-438.

Anderson, G.G. et Cookson W.O. 1999. Recent advances in the genetics of allergy and asthma. *Mol. Med. Today.* 5:264-273.

Ansari, A. Hasen, Z. Dawood, G. et Hussain R. Differential combination of cytokine and interferon- γ +874T/A polymorphisms determines disease severity in pulmonary tuberculosis. 2011. PLOSE ONE. 6(11): e27848.

Araujo, Z. Palacios, A. Biomon, R. Rivas-Santiago, B. Serrano, C.J. Enciso-Moreno, L. Lopez-Ramos, J.E. Wide, A. Jlménez, J.C. de Larrea, C.F. et Enciso-Moreno, J.A. 2017. Concordance between IFN γ gene +874A/T polymorphism and interferon- γ expression in a TB- endemic indigenous setting. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 50(2): 199-207.

Arimitsu, J. Hirano, ., Higa, S. Kawai, M. Naka, T. Ogata, A. Shima, Y. Fujimoto, M. Yamadori, T. Hagiwara, K. Ohgawara, T. Kuwabara, Y. Kawase, I. et Tanaka T. 2006. IL-18 gene polymorphisms affect IL-18 production capability by monocytes. *Biochem. Biophy. Res. Commun.* 342: 1413-1416.

Arshad, S.H. 2005. Primary prevention of asthma and allergy. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 116:3-14.

Asher, M.I. Keil, U. Anderson, H.R. Beasley, R. Crane, J. Martinez, F. Mitchell, E.A. Pearce, N. Sibbald, B. Stewart, A.W. Strachan, D. Weiland, S.K. et Williams H.C. 1995. International study of asthma and allergies in childhood (ISAAC): rationale and methods. *Eur. Respir. J.* 8: 483-491.

Attab, K. Al-Quaoud. K. Al-Bataineh. K. et Ajlouni M. 2008. Association of SNP in the IL-4, IL-18 and eotaxin genes with asthma in a Jordanian population. *Inter. J. Integrative biol.* 4 (2): 86-91.

- Attab, K. Mohamed Bey Baba Hamed, M.B. et Lamara S.C. 2016. Association study between-137 G/C IL-18 polymorphism and asthma in a sample of Algerian population. *Merit Res. J. Med. Med. Sci.* 4(6) : 317-322.
- Bachoual, R. et Boczkowski J. 2005. Rôle des cytokines dans l'inflammation broncho-pulmonaire. *EMC-Pneumol.* 2 :74-85.
- Bagheri, M. Rad, I.A. Omrani, D. et Khalkhali, H.R. 2006. Heterogeneity of cytokine single nucleotide polymorphisms among the Iranian and in the other east-south Asian populations. *Transfus. Med.* 16: 192-199.
- Bahadori, K. Doyle-Waters, M. Marra, C. Lynd, L. Alasaly, K. Swiston, J. et Fitzgerald J.M. 2009. Economic burden of asthma. *BMC Pulm. Med.* 9:24.
- Baldini, M. Lohman, I.C. Halonen, M. Erickson, R.P. Holt, P.G. et Martinez F.D. 1999. A Polymorphism* in the 5' flanking region of the CD14 gene is associated with circulating soluble CD14 levels and with total serum immunoglobulin E. *Am J Respir Cell Mol Biol* 20:976-983.
- Bao, J. Lu, Y. Deng, Y. Rong, C. Liu, Y. Huang, X. Song, L. et Li S. 2015. Association between *IL-18* polymorphisms, serum levels, and HBV-related hepatocellular carcinoma in a Chinese population: a retrospective case-control study. *Cancer Cell. Int.* 15:72-80.
- Barnes K.C. 1999. Gene-environment and gene-gene interaction studies in the molecular genetic analysis of asthma and atopy. *Clin. Exp. Allergy.* 29 (Suppl4):47-51.
- Barnes, K.C. Freidhoff, L.R. Nickel, R. Chiu, Y.F. Juo, S.H. Hizawa, N. Naidu, R.P. Ehrlich, E. Duffy, D.L. Schou, C. Levett, P.N. Marsh, D.G. et Beaty T.H. 1999. Dense mapping of chromosome 12q13.12-q23.3 and linkage to asthma and atopy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 104:485-491.
- Basehore, M.J. Howard, T. Lange, L.A. Moore W. Howkins, G.A. Marshik, P.L. Harkins, M.S. Meyers, D.A. et Bleecker, E.R. 2004. A comprehensive evaluation of IL-4 variants in ethnically diverse populations: association of total serum IgE and asthma in white subjects. *J. Allergy Clin. Immunol.* 114: 80-87.
- Baye, T.M. Kovacic, M.B. Biagini Mayers, J.M. Martin, L.J. Lindsey, A. Patterson, T.L. He, H. Erickson, M.B. Gupta, J. Tsoras, A.M. Lindesley, A. Rothenberg, M.E. Karp, M. W. Eissa, N.T. Borish, L. et Khurana Hershey G.K. 2011. Differences in candidate gene association between European ancestry and African American asthmatic children. *Ploze One* 6(2): 16522-16533.
- Bazzaz, J.T. Amoli, M.M. Taheri, Z. Larijani, B. Pravica, V. et Hutchinson, L.V. 2014. TNF- α and IFN- γ gene variation and genetic susceptibility to type 1 diabetes and its microangiopathic complications. *J. Diabetes Metabolic. Dis.* 13: 46.

Beasley R. 2002. The burden of asthma with specific reference to the United States. *J. Allergy Clin. Immunol.* 109:S482-489.

Beghé, B. Barton, S. Rorke, S. Peng, Q. Sayers, I. Gaunt, T. Keith, T. Clough, T.P. Holgate, S.T. et Holloway J.W. 2003. Polymorphisms in the interleukin-4 and interleukin-4 receptor α chain genes confer susceptibility to asthma and atopy in a Caucasian population. *Clin. Exp. Allergy.* 33 : 1111-1117.

Belhocine, M, et Ait-Khaled N. 1991. Prevalence of asthma in a region of Algeria. *Bull. Int. Union. Tuberc. Lung. Dis.* 66 (2-3): 91-93.

Berenguer, A.G. Fenandes, A.T. Oliveira, S. Rodriguez, M. Ornelas, P. Romeira, D. Serrao, T. Rosa, A. et Camara R. 2014. Genetic polymorphisms and asthma : findings from a case-control study in the Madeira island population. *Biol. Res.* 47: 40-51.

Bevilacqua, E. Fabris, A. Floreano, P. Pembrey, L. Newell, M.L. et collaborateurs d'EPHN. 2009. Genetic factors in mother to child transmission of HCV infection. *Virology.* 390: 67-70.

Bignon, I. Brochard, P. et Voisin I. 1990. Maladies respiratoires spécifiques communes à plusieurs facteurs professionnels. *Rev. Mal. Respir.* 7 (suppl.2) : 107-118.

Bijlsma, F.J. Kuik, J.V. Tilanus, M.G.J. de Jonge, N. Rozemuller, E.H. van den Tweel, J.G. Gmelig-Meyling, F.H.J. et de Weger, R.A. 2002. Donor interleukin-4 promoter gene polymorphism influences allograft rejection after heart transplantation. *J. heart lung transplant.* 21(3): 340-346.

Birbian, N. Singh, J. Jindal, S.K. 2013. Protective role of IL-18 -137 G/C polymorphism in a north Indian population with asthma: a pilot study. *Cytokine.* 61:188-193.

Bisgaard, H. Bønnelykke, K. Sleiman, P.M. Brasholt, M. Chawes, B. Kreiner-Møller, E. Stage, M. Kim, C. Tavendale, R. Baty, F. Pipper, C.B. Palmer, C.N. et Hakonarsson H. 2009. Chromosome 17q21 gene variants are associated with asthma and exacerbations but not atopy in early childhood. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 179: 179–85.

Black, P.N. Udy, A.A. et Brodie, S.M. 2000. Sensitivity to fungal allergens is a risk factor for life-threatening asthma. *Allergy.* 55:501-504.

Bleecker, E. Postma, D. Meyers D. 1997. Evidence for Multiple Genetic Susceptibility Loci for Asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 156(4): 113-116.

Blumenthal, M.N. Langefeld, C.D. Beaty, T.H. Bleecker, E.R. Ober, C. et Lester L. 2003. A genome-wide search for allergic response (atopy) genes in three ethnic groups: Collaborative Study on the Genetics of Asthma. *Hum. Genet.* 114:157–64.

Boer, M.G. Jolink, H. Halkes, C.J.M. van der Heiden, P.L.J. Kremer, D. Falkenburg, J.H.F. van de Vosse, E. et van Dissel J.T. 2011. Influence of polymorphisms in innate immunity

genes on susceptibility to invasive aspergillosis after stem cell transplantation. *PLOSE ONE*. 6(4): e18403.

Boniotto, M. Segat, L. Milanese, M. et Crovella, S. 2005. Detection of two functional polymorphisms in the promoter region of the IL-18 gene by single-tube allele specific PCR and melting temperature analysis. *J. Immunol. Methods*. 304: 184-188.

Bonnie, S. Mary, E. CH. Elizabeth, B. et Ian, G. 1980. Genetic factors in childhood asthma. *Thorax*. 35:671-674.

Boraska, V. Terzić, J. Škrabić, V. Čačev, T. Bučević-Popović, V. Peruzović, M. Markotić, A. et Zemunik T. 2006. NeuroD1 Gene and Interleukin-18 Gene Polymorphisms in Type 1 Diabetes in Dalmatian Population of Southern Croatia. *Croat med. J.* 47: 571-578.

Borish L. 1999. Genetics of allergy and asthma . *asthma immunol.* 82(5): 413–426.

Bossù, P. Ciaramella, A. Moro, M.L. Bellincampi, L. Bernardini, S. Federici, G. Trequattrini, F. Spoletini, I. DivLulio, F. Caltagirone, C. et Spalletta G. 2006. Interleukin-18 gene polymorphisms predict risk and outcome of Alzheimer's disease. *J. Neurosurg. Psychiatry*. 10: 1136-1144.

Boulard, C. et Jonckeer P. 2008. Les données de l'IBE « interface santé et environnement. *Asthma*.14.

Boulet L.P. 1997. L'asthme : notions de base, éducation, intervention, Les Presses de l'Université Laval. 388 pages.

Boulet, L.P. et Lessard, A. 2007. Le rôle de l'obésité dans le développement de l'asthme : Évaluation et traitement de l'asthmatique obèse 5^{eme} symposium international de Québec sur la prévention/réadaptation cardiorespiratoire, Société pour la prévention et la réadaptation cardiopulmonaire du Québec.

Bourdin A. 2006. Asthme bronchique. *EMC Pneumol.* 6-039-A-20.

Bousquet, J. Demoly, P. Vignola, A.M. Godard, P. et Michel F.B. 1999. Comprendre la maladie asthmatique. *Med. Sci.* 15 : 823-832.

Bousquet, J. Jeffery, P.K Busse, W.W. Johnson, M. et Vignola, AM. 2000. Asthma from bronchoconstriction to airways inflammation and remodeling. State of the art. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 161 : 1720-1745.

Bousquet, J.D. Grimfeld, F. Neukirch, A. et Scheinmann F. 2001. Asthme. Dépistage et prévention chez l'enfant. Paris: INSERM. Institut national de la santé et de la recherche médicale.

Bouzgarrou, N. Hassen, E. Schvoerer, E. Stoll-Keller, Bahri, F.O. Gabbouj, S. Cheikh, I. Maamouri, N. Mammi, N. Saffar, H. Trabelsi, A. Triki, H. et Chouchane L. 2008.

Association of interleukin-18 polymorphisms and plasma level with the outcome of chronic HCV infection. *J. Med. Virol.* 80 (4): 607–614.

Bouzgarrou N, Hassen E, Farhat K, Bahri O, Gabbouj S, Maamouri N. Ben Mami, N. Saffar, H. Trabelsi, A. Triki, H. et Chouchane L. 2009. Combined analysis of interferon-gamma and interleukin-10 gene polymorphisms and chronic hepatitis C severity. *Hum Immunol.* 70(4): 230-236.

Bouzigon, E. Corda, E. Aschard, H. Dizier, M.H. Boland, A. Bousquet, J. Chateigner, N. Gormand, Just, F. Le Moual, N. Pierre, Valérie Siroux, V. Vervloet, D. Diana Zelenika, D. Pin, I, Kauffmann, F. Lathrop, M., et Demenais, F. 2008. Effect of 17q21 variants and smoking exposure in early-onset asthma. *N. Engl. J. Med.* 2008; **359**: 1985–94.

Brisman, J. Jarvholm, B. et Lillienberg L. 2000. Exposure-response relations for self reported asthma and rhinitis in bakers. *Occup. Environ. Med.* 57(5):335-40.

Brunekreef, B. Dockery, D.W. Speizer, F.E. Ware, J.H. Spengler, J.D. Ferris, B.G. 1989. Home dampness and respiratory morbidity in children. *Am. Rev. Respir. Dis.* 140(5):1363-1367.

Burchard, E. Silverman, E.K. Rosenwasser, L.J. Borish, L. Yandava, C. Pillari, A. Weiss, S.T. Hasday, J. Lilly, G.M. Foed, J.G. et Drazen, J.M. 1999. Association between a sequence variant in the IL-4 gene promoter and FEV1 in asthma. *Am. J. Respir. Crit. Med.* 160: 919-922.

Burrows, B. Martinez, F.D. Cline, M.G. et Lebowitz M.D. 1995. The relationship between parental and children's serum IgE and asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 152 : 1497-1500.

Busse, W.W. et Lemanske R.F. 2001. Asthma. *N. Engl. J. Med.* 344(5):350-362.

Cardoso, S.M.P. Defor, T.E. Tilley, L.A. Bidwell, J.L. Weisdorf, D.J. et MacMillian M.L. 2004. Patient interleukin -18 GCG haplotype associates with improved survival and decreased transplant-related mortality after unrelated-donor bone marrow transplantation. *Brit. J. Haematol.* 126: 704-710.

Camargo, C.A.J. Weiss, S.T. Zhang, S. Willett, W.C. et Speizer F.E. 1999. Prospective study of body mass index, weight change, and risk of adult-onset asthma in women. *Arch. Intern. Med.* 159(21):2582-2588.

Caniatti, M.C.C. Marchioro, A.A., Guilherme, A.L. et Ttsuneto L.T. 2014. Association of cytokines in individual sensitive and insensitive to dust mites in a Brazilian population. *Plos One* 9(9): 107921-107934.

Caraballo, L.R. et Hernandez M. 1990. HLA haplotype segregation in families with allergic asthma. *Tissue Antigens.* 35:182-186.

- Carayol, N. Birnbaum, J. Magnan, A. Ramadour, M. Lanteaume, A. Vervloet, D. 2000. Fel d 1 production in the cat skin varies according to anatomical sites. *Allergy*. 55(6):570-573.
- Carroll, W. 2005. Asthma genetics: Pitfalls and triumphs. *Pediatric. Respir. Rev.* 6: 68-74.
- Cavaillon J.M. 1994. Les cytokines. *Rev. Fr. Allergol.* 34 (1) : 84-89.
- Cavet, J. Dickinson, A.M. Norden, J. Taylor, P.R. Jackson, G.H. et Middleton P.G. 2001. Interferon-gamma and interleukin-6 gene polymorphisms associate with graft-versus-host disease in HLA-matched sibling bone marrow transplantation. *Blood*. 98:1594-1600.
- Chanez, P. Vignola, M. Stenger, R. Vic, P. Michel, F.B. et Bousquet J. 1995. Platelet derived growth factor in asthma. *Allergy*. 50:878-83.
- Chang, Y.T. Lee, W.R. Yu, C. W. Liu, H.N. Lin, M.W. Huang, C.H. Chen, C.C Lee, D.D. Wang, W.J. Hu, C.H. et Tsai, S.F. 2006. No association of cytokine gene polymorphisms in Chinese patients with atopic dermatitis. *Clin. Exp. Dermatol.* 31: 419-423.
- Chang, H. Zeng, F. Zhang, J.Y. Mu, X.Y. Meng, W.T. Ma, H.B. et Liu T. 2010. Association of interferon-gamma single nucleotide polymorphism +874 (T/A) with response to immunosuppressive therapy in patients with severe aplastic anemia. *Blood cell Mol. Dis.* 45:313-316.
- Charpentier C. 2016. Asthme et tabac. *Rev. Fr. Allergol.* 56: 165-168.
- Charpin, D. Hughes, B. Mallea, M. Sutra, J.P. Balansard, G. et Vervloet D. 1993. Seasonal allergic symptoms and their relation to pollen exposure in south-east France. *Clin. Exp. Allergy*. 23(5):435-439.
- Charpin, D. Aruresi-Maesano, I. Godard, P. Kopferschmitt-Kubler, M. Oryszczyn, M. Ray, P. Quoix, E. Raheison, C. Taytard, A. et Vervloet D. 1998. Présentation générale de l'étude ISAAC. *Rev. Fr. Allergol.* 38 : 275-282.
- Chen, P.C. Lai, Y.M. Wang, J.D. Yang, C.Y Hwang, J.S. et Kuo, H. 1998. Adverse Effects of air pollution on respiratory health of primary school children in Taiwan. *Environ. Health. Perspect.* 106:331-335.
- Chen X.W. 2008. The Association between IL-16 and IL-18 Polymorphisms and the Risk of Asthma, Collège médical de Nanchang, Nanchang, Chine.
- Chen, J.N., Wei, G.Y., Fu, X.L., Li, Z.X., Liang, L.P., Liu, K.X. 2010. The relationship of interleukin-18 gene polymorphism in patients with cerebral infarction and its effect on plasma lipid level. *Chin. J. Prim. Med. Pharm.* 17 : 2305-2307.
- Chen, C.F. et Gan Y.Y. 2012. Hardy-Winberg Disequilibrium of the IL-18 C-607A SNP suggesting selective advantage of Heterozygotes. *Biochem. Genet.* 50:63-72.

- Chen, J. Ying, X.M. Huang, X.M. uang, P. Yan, S. 2016. Association between polymorphisms in selected inflammatory response genes and the risk of prostate cancer. *Onco Targets Ther.* 9:223-229.
- Cheng, D. Hao, Y. Zhou, W. et Ma Y. 2014. The Relationship between interleukin-18 polymorphisms and allergic disease : a meta-analysis. *Biomed res. Inter.* 10: 1155-1165.
- Cheong, J.Y. Cho, S.W. Chung, S.G. Lee, J.A. Yeo, M. Wang, H.J. Lee, J.E. Hahm, K.B. et Kim J.H. 2006. Genetic polymorphism of interferongamma, interferon-gamma receptor, and interferon regulatory factor-1 genes in patients with hepatitis B virus infection. *Biochem. Genet.* 44(5-6):246-255.
- Chiang, C. H. Tang, Y.C. Lin, M.W. et Chung, M.Y. 2007. Association between the IL-4 promoter polymorphisms and asthma or severity of hyperresonsiveness in Taiwanese. *Respirol.* 12: 42-48.
- Chiang, C.H. Lin, M.W. Chung, M.Y. et Yang, U.C. 2012. The association between the IL-4, ADR β 2 and ADAM 33 gene polymorphisms and asthma in the Taiwanese population. *J. Chinese. Med. Asso.* 75: 635-643.
- Chong, W.P. Ip, W.E. Tso, G.H.W. Ng, M.W. Wong, W.H.S. Law, H.K.W. Yung, R.W. Chow, E.Y. Au, K.L. Chan, E.Y. Lin=m, W. Peiris, J.M. et Lau Y.L. 2006. The interferon gene polymorphism +874A/T is associated with severe acute respiratory syndrome. *BMC Infect. Dis.* 6: 82-86.
- Chou, H.T. Tsai, C.H. Chen, W.C. et Tsai, F.J. 2005. Lack of association of genetic polymorphisms in the interleukin-1 β , interleukin-1 receptor antagonist, interleukin-4, and interleukin-10 genes with risk of rheumatic heart disease in Taiwan Chinese. *Int. Heart J.* 46: 379-406.
- Chung, K.F. et Barnes, P.J. 1999. Cytokines in asthma. *Thorax.* 54: 825-857.
- Coffinan, R.L. Ohara, J. Bond, M.W. Carty, J. Zlotnik, A. et Paul W.E. 1986. B cell stimulatory factor-1 enhances the IgE response of lipopolysaccharide-activated B cells. *J immunol* 136:4538-4541.
- Collee, J.M. ten Kate, L.P. de Vries, H.G. Kliphuis, J.W. Bouman, K. Scheffer, H. Gerritsen, J. 1993. Allele sharing on chromosome 11q13 in sibs with asthma and atopy [letter]. *Lancet.* 342:936.
- Cooke, S. Campbeli, S.J. Sillah, J. Gustafon, P. Bah, B. Sirugo, G. Bennett, S. McAdam K. .P.W.J. Sow, O. Leinhardt, C. et Hill, A.V.S. 2006. Polymorphism within the interferon- γ receptor complex is ssociated with pulmonary tuberculosis. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* 174: 339-343.

- Cookson, W.O. Sharp, P.A. Faux, J.A. et Hopkin J.M. 1989. Linkage between immunoglobulin E responses underlying asthma and rhinitis and chromosome 11q. *Lancet*. 1:1292-1295.
- Cookson, W.O. Young, R.P. Sandford, A.J. Moffatt, M.F. Shirakawa, T. Sharp, P.A. Faux, J.A. Mier. C. Nakuimrara, Y. et Nakumura, Y. 1992. Maternal inheritance of atopic IgE responsiveness on chromosome 11q. *Lancet* . 340:381-384.
- Cookson, W.O. et Moffatt M.F. 2000. Genetics of asthma and allergic disease. *Hum Mol. Genet.* 9(16):2359-2364.
- Cookson W.O.C. 2002. Asthma genetics. *Chest*. 121: 7S-13S.
- Corrigan C.J. 1999. Eotaxin and asthma: some answers, more questions. *Clin. Exp. Immunol.* 116:1-3.
- Dabbagh, K. Takeyama, K. Lee, H., Ueki, I.F. Lausier, J.A. et Nadel J.A. 1999. IL-4 induces mucin gene expression and goblet cell metaplasia in vitro and in vivo. *J. Immunol.* 162: 6233–6237.
- Dahmani, D.I. Sifi, K. Salem, I. Hanachi, S. Bachtarzi, M.Z. Rouabah, L. Abadi, N. Bougrida, M. Rouabhia M. 2016. The C-589T IL-4 polymorphism as a genetic factor for atopic asthma, eczema and allergic rhinitis in an eastern Algerian population. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 37(1): 213-223.
- Dai, C.Y. Chuang, W.L. Chang, W.Y. Chen, S.C. Lee, L.P. Hsieh, M.Y. Hou, N.J. Lin, Z.Y. Hsieh, M.Y. Wang, L.Y. et Yu M.L. 2005. Polymorphisms in the interferon- γ gene at position +874 in patients with chronic hepatitis C treated with high dose interferon- α and ribavirin. *Antiviral Res.* 67: 93-97.
- Dalnego R.W. 2003. Bronchial asthma and gastro-oesophageal reflux. *Eur. Respir. J.* 8:260-277.
- Daneshmandi, S. Pourfathollah, A.A. Pourpak, Z. Heidarnazhad, H. et Kalvanagh P.A. 2012. Cytokine gene polymorphism and asthma susceptibility, progress and control level. *Mol. Biol. Rep.* 39: 1845-1853.
- Daniels, S.E. Bhattacharya, S. James, A. Leaves, N.I. Young, A. Hill, M.R. Faux, J.A. Ryan, G.F. le Souef, P.N. Lathrop, G.M. Musk, A.W. et Cookson W.O. 1996. A genome-wide search for quantitative trait loci underlying asthma. *Nature*. 383:247-250.
- Dashash, M. Pravica, V. Hutchinson, I.V. Barson, A.J. et Drucker, D.B. 2006. Association of sudden infant with VEGF and IL-6 gene polymorphisms. *Human. Immunol.* 67: 627-633.
- Dato, S. Krabbe, K.S. Thinggaard, M. Pedersen, B.K. Christensen, K. Bruunsgaard, H. et Christiansen L. 2009. Commonly Studied Polymorphisms in Inflammatory Cytokine Genes

Show Only Minor Effects on Mortality and Related Risk Factors in Nonagenarians. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 65(3): 225-235.

de Almeida, C.J. Chiarini, L.B. da Silva, J.P. Martins, M.A. et Linden R. 2005. The cellular prion protein modulates phagocytosis and inflammatory response. *J. Leukoc. Biol.* 77: 238–46.

De Filippi, P. Badulli, C. Cuccia, M. De Silvestri, A. Dametto, E. Pasi, A. Garaventa, A. del Prever, A.B. Todesco, A. Trizzino, A. Danesino, C. Martinetti, M. et Arico M. 2006. Specific polymorphisms of cytokine genes are associated with different risks to develop single-system or multisystem childhood langerhans cell histiocytosis. *Brit. J. Haematol.* 132: 784-787.

Defrance, T. Aubry, J.P. Rousset, F. Vanbervliet, B. Bonnefoy, J.Y. Arai, N. Takebe, Y. Yokota, T. Lee, F. et Ara K. 1987. Human recombinant interleukin 4 induces Fc epsilon receptors (CD23) on normal human B lymphocytes. *J. Exp. Med.* 165:1459-1467.

Degobert P. 1992. Inventaire des polluants atmosphériques.(Ed) TECHNIP. p19.

Deichmann, K.A. Heinzmann, A. Forster, J. Dischinger, S. Mehl, C. Braeggenolte, E. Hildebrandt, F. Moseler, M. et Kuehr J. 1998. Linkage and allelic association of atopy and markers flanking the IL4-receptor gene. *Clin. Exp. Allergy.* 28:151-155.

Deloukas, P. Scafe, G.D. Gyapay, G. Beasley, E.M. Soderlund, C. Rodriguez-Tome, P. Hui, L. Matise, T.C. McKusick, K.B. Beckmann, J.S. Bentolila, S. Bihoreau. Birren, B.B. Browne, J. Butler, A. Castle, A.B. Chiannilkulchai, N. Clee, C. Day, P.J. Dehejia, A. Dibling, T. Drouot, N. Duprat, S. Fizames, C. et Bentley, D.R. 1998. A physical map of 30,000 human genes. *Science.* 282:744-746.

de Marco, R. Locatelli, F. Sunyer, J. et Burney P. 2000. Differences in incidence of reported asthma related to age in men and women. A retrospective analysis of the data of the European Respiratory Health Survey. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 162(1):68-74.

Demoly, P. Jaffuel, D. Bousquet, J. Godard, Ph. Michel, F.B. 1996. Épidémiologie et génétique de l'asthme : II. Aspects génétiques de l'épidémiologie de l'asthme et de l'atopie . *Rev. Mal. Resp.* 13 : 547-553.

Demoly, P. Godard, P. et Bousquet, J. 2005. Une Synthèse sur l'épidémiologie de l'asthme. *Rev. Fr. Allergol.* 45: 464-475.

Desqueyroux, H. Pujet, J.C. Prosper, M. Squinazi, F. et Momas, I. 2002. Short-term effects of low-level air pollution on respiratory health of adults suffering from moderate to severe asthma. *Environ. Res.* 89(1):29-37.

Devos, R. Cheroutre, H. Taya, Y. Degrave, W. Van Heuverswyn, H. et Fiers W. 1982. Molecular cloning of human immune interferon cDNA and its expression in eukaryotic u, cells. *Nucleic Acids Res.* 10:2487-2501.

Didier, A. Têtu, L. et Miguérès M. 2004. Asthme et reflux gastro-oesophagien. *Rev. Fr. Allergol.* 44(1) : 79-82.

Difranza, J.R. Lew, L. R. 1996. Morbidity and mortality children associated with the use of tobacco products by other people. *Pediatrics*, 97 : 560-8.

Dizier, M.H. et Lockhart A. 1991. Génétique de l'asthme, *Méd. Sci.* 7 :1041-1047.

Dizier, M.H. Besse-Schmittler, C. Guillaud-Bataille, M. Annesi- Maesano, I. Boussaha, M. Bousquet, J. Charpin, D. Degioanni, A. Gormand F, Grimfeld, A. Hochez, J. Hyne, G. Lockhart, A Luillier-Lacombe, M. Matran, R. Meunier, F. Neukirch, F. Pacheco, Y. Parent, V. Paty, E. Pin I, Pison C. Scheinmann, P. Thobie, N. Vervloet, D. et Kauffmann F: 2000. Genome screen for asthma and related phenotypes in the french EGEA study. *Am J Respir Crit Care Med.* 162:1812-1818.

do Carmo, V. de Macêdo, J.L. de Lima, C.A. da Conceição, G.L.M de Andrade, H.S. Amorim, M. de Mascena, D.M.M., Porto, A.L. et de Souza, P.R. 2012. IFN-gamma and IL-12B polymorphisms in women with cervical intraepithelial neoplasia caused by human papillomavirus. *Mol. Bio. Rep.* 39: 7627-7634.

Dockrell, M. Partridge, M.R et Valovirta, E. 2007 The limitations of severe asthma : the results of a European survey. *Allergy.* 62 : 134-141.

Donfack, J. Shneider, D.H. Tan, Z. Kurz, T. Dubchak, I. Frazer, K.A. et Ober C. 2005. Variation in conserved non-coding sequences on chromosomes 5q and susceptibility to asthma and atopy. *Respir. Res.* 6: 145-157.

Doucet, C. Brouty-Boye, D. Pottin-Clemenceau, C. Jasmin, C. Canonica, G.W. et Azzarone B. 1998. IL-4 and IL-13 specifically increase adhesion molecule and inflammatory cytokine expression in human lung fibroblasts. *Int. Immunol.* 10:1421-1433.

Doull, I.J. Lawrence, J., Watson, M. Begishvili, T. Beasley, R.W. Lampe, F. Holgate, T. et Morton, N.E. 1996. Allelic association of gene markers on chromosomes 5q and 11q with atopy and bronchial hyperresponsiveness. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 153:1280-1284.

Drazen, J.M. Yandava, C.N. Dube, L. Szczerback, N. Hippensteel, R. Pillari, A. Israel, E. Schork, N., Silverman, E.S. Katz, D.A. et Drajesk J. 1999. Pharmacogenetic association between ALOX5 promoter genotype and the response to anti-asthma treatment. *Nat. Genet.* 22:168-170.

Dreborg S. 1998. Mite allergens. Collection, determination, expression of results, and risk levels for sensitization and symptom induction. *Allergy* 53(48 Suppl):88-91.

Drysdale, C.M. McGraw, D.W. Stack, C.B. Stephens, J.C. Judson, R.S. Nandabalan, K. Arnold, K. Ruano, G. et Liggett S.B. 2000. Complex promoter and coding region beta 2-

adrenergic receptor haplotypes alter receptor expression and predict in vivo responsiveness. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97:10483-10488.

Dubé, J. et Boulet L.P. 1996. Rôles de l'inflammation et des modifications des structures bronchiques dans l'asthme allergique. *Med. Sci.* 3 : 351-357.

Dubus, J.C. et Mely M.V. 1997. Le tabac et l'enfant. *Rev Fr Allergol* 37: 859-64.

Duffy, D.L. Martin, N.G. BattiStutt, A.D. Hopper, J.L. et Mathews, J.D. 1990. Genetics of asthma and hay fever in Australian twins. *Am. Rev. Respir. Dis.* 142 (6) : 1351-1358.

Duffy, D.L. Mitchell, C.A. et Martin N.G. 1998. Genetic and environmental risk factors for asthma : A cotwin-control study. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 157 : 840-845.

Durham, S.R. Ying, S. Kimmitt, P. Barkans, J. Assoufi, B. Poster, R. Menz, G. Robinson, D.S. Kay, A.B. et Corrigan C.J. 1996. IL-4 and IL-5 mRNA and protein in bronchial biopsies from patients with atopic and nonatopic asthma: evidence against "intrinsic" asthma being a distinct immunopathologic entity. *Am J. Respir. Crit. Care Med.* 154:1497-1504.

Dwivedi, M. Laddha, N.C. Shah, K. Shah, B.J. et Begum R. 2013. Involvement of interferon-gamma genetic variants and cellular adhesion molecule-1 in onset and progression of generalized vitiligo. *J. Interferon Res.* 33(11): 646-659.

Edfors-Lubs M.L. 1971. Allergy in 7000 twin pairs. *Acta Allergol.* 26 :249-285.

Eggen, A. 2000. Cartographie fine d'un gène et clonage positionnel. « Génétique moléculaire : principes et application aux populations animales », *INRA Prod. Anim.* numéro hors série: 133-136.

Ekstrom, P.O. Bjorheim, J. Gaudernack, G. et Giercksky, K.E. 2002. Population screening of single-nucleotide polymorphisms exemplified by analysis of 8000 alleles. *J. Biomol. Screen.* 7(6): 501-506.

Elias, J.A. Lee, C.G. Zheng, T., Ma, B. Homer, R.J. et Zhu Z. 2003. New insights into the pathogenesis of asthma. *J. Clin. Invest.* 111:291-7.

Elliott, K. Fitzpatrick, E. Hill, D. Brown, J. Adams, S. Chee, P. Stewart, G. Fulcher, D. Tang, M. Kemp, A. King, E. Vaarigos, G. Bahio, M. et Forrest, S. 2001. The -590C/T and -34C/TT polymorphisms are not associated with atopic eczema in childhood. *J. Allergy Clin. Immunol.* 108:285-287.

Emery A.E.H. 1986. Methodology in medical genetic, deuxième édition. Churchill Livingstone. Edinburgh. 123-134.

Etokebe, G. Bulat-Kardum, L. Johansen, M.S. Knezevic, J. Balen, S. Matakovic-Mileusnic, N. Matanic, D. Flego, V. Pavelic, J. Beg-Zec, Z. et Dembic Z. 2006. Interferon- γ gene

(T874A and G2109A) polymorphisms are associated with microscopy-positive tuberculosis. *Scand. J. Immunol.* 63: 136-141.

Evans, D. Levison, M. J. Feldman, C. H. Clark, N. M. Wasilewski, Y. Levin, B. et Mellins R. B. 1987. The impact of passive smoking on emergency room visits of urban children with asthma. *Am. Rev. Respir. Dis.* 135: 567-72.

Falletti, E. Fabris, C. Toniutto, P. Fontanini, E. Cussigh, A. Caldato, M. Rossi, E. Biletto, D. Minisini, R. Smirne, C. et Pirisi M. 2007. Genetic polymorphisms of inflammatory cytokines and liver fibrosis progression due to recurrent hepatitis C. *J. interferon cytokine res.* 27(3):239-246.

Farahabadi, S. Tavakkol-Afshari, J. Rafatpanah, H. Farid-Hosseini, R. et Daluel, M.K. 2007. Association between the polymorphisms of IL-4 gene promoter (-590C>T), IL-13 coding region (R130Q) and IL-16 gene promoter (-295T>C) and allergic asthma. *Iran J. Asthma Immunol.* 6(1): 9-14.

Flory, J.H. Sleiman, P.M. Christie, J.D. Annaiah, K. Bradfield, J. Kim, C.E. Glessner, J. Imielinski, M. Li, H. Frackelton, E.C. Cuiping, H. Otieno, G. Thomas, K. Smith, R. Glaberson, W. Garriss, M. Chiavacci, R. Allen, J. Spengel, J. Grundmeier, R. Grunstein, M. Magnusson, M. Grant, S.F. Bønnelykke, K. Bisgaard, H. et Hakonarson H. 2009. 17q12-21 variants interact with smoke exposure as a risk factor for pediatric asthma but are equally associated with early-onset versus late-onset asthma in North Americans of European ancestry. *J. Allergy Clin. Immunol.* 124: 605-7.

Foley S.M. 2002. Infant asthma: genetic predisposition and environmental influences. *New born Infant Nurs. Rev.* 2(4): 200-206.

Folwaczny, M. Glas, J. Torok, H.P. Tonenchi, L. Paschos, E. Bauer, B. Limbersky, O. et Folwaczny, C. 2005. Polymorphisms of the interleukin-18 gene in periodontitis patients. *J. Clin. Periodontol.* 32: 530-534.

Ford, E.S. 2005. The epidemiology of obesity and asthma, *J. Allergy. Clin. Immunol.* 115: 530-534.

Forte, G.I. Scola, L. Misiano, G. Milano, S. Manueto, P. Vitale, G. Bellanca, F. Sanacore, M. Vaccarino, L. Rini, G.B. Cillari, E. Lio, G. et Mansueto S. 2009. Relevance of gamma interferon, tumor necrosis factor alpha, and interleukin-10 gene polymorphisms to susceptibility to Mediterranean spotted fever. *Clin. Vaccine Immunol.* 16(6): 811-815.

Freidin, M.B. Puzyrev, V.P. Ogorodova, L.M. Kobyakova, O.S. et Kulmanakova, I.M. 2002. Polymorphism of the interleukin and interleukin receptor genes: population distribution and association with atopic asthma. *Russ. J. Genet.* 38(12): 1710-1718.

Freitas, F.B. Lima, S.S. Feitosa, R.N.M. Azevedo, V.N. Ishak, M.G. Ishak, R. et Vallinoto A.C.R. 2015. polymorphisms in the IFN γ , IL-10, and TGF β genes may be associated with HIV-1 Infection. *Dis. Markers*. 2015: 248571-9.

Freytmuth, F. Vabret, A. Brouard, J. Toutain, F. Verdon, R. Petitjean, J. Gouarin, S. Duhamel, J.F. et Guillois B. 1999. Detection of viral, Chlamydia pneumoniae and Mycoplasma pneumoniae infections in exacerbations of asthma in children. *Clin. Diag. Virol.* 13 : 131-139.

Frucht, D.M. Fukao, T. Bogdan, C. Schindler, H. O'Shea, J.J. et Koyasu S. 2001. IFN-gamma production by antigen-presenting cells: mechanisms emerge. *Trends Immunol.* 22:556-560.

Fryer, A.A. Bianco, A. Heppie, M. Jones, P.W. Strange, R.C. et Spited M.A. 2000a. Polymorphism at the glutathione S-transferase GSTP1 locus. A new marker for bronchial hyperresponsiveness and asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 233:158-164.

Fryer, A.A. Spiteri. M.A. Bianco, A. Hepple, M. Jones, P.W. Strange, R.C. Makki, R. Tavernier, G. Smilie, F.I. Custovic, A. Woodcock, A.A. Ollier, W.E. et Hajeer A.H. 2000b. The -403 G $\rightarrow$ A promoter polymorphism in the RANTES gene is associated with atopy and asthma. *Genes Immun.* 1:509-514.

Galanter, J. Choudhry, S. Eng, C. Nazario, S. Rodríguez-Santana, J.R. Casal, J. Torres-Palacios, A. Salas, J. Chapela, R. Watson, H.G. Meade, K. LeNoir, M. Rodríguez-Cintrón W. Avila, P.C. et Burchard E.G. 2008. ORMDL3 gene is associated with asthma in three ethnically diverse populations. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 177: 1194–200.

Gangwar, R. Pandey, S. Mittal R.D. 2009. Association of interferon-gamma +874A polymorphism with the risk of developing cervical cancer in north-Indian population. *BJOG*. 116: 1671-1677.

Gao, P.S. Mao, X.Q. Kawai, M. Enomoto, T. Sasaki, S. Tanabe, O. Yoshimura, K. Shaldon, S.R. Dake, Y. Kitano, H. Coull, P. Shirakawa, T. et Hopkin J.M. 1998. Negative association between asthma and variants of CC16(CC10) on chromosome 11q13 in British and Japanese populations. *Hum. Genet.* 103:57-59

Gao, P.S. Mao, X.Q. Baldini, M., Roberts, M.H. Adra, C.N. Shirakawa, T. Holt, P.G. Martinez, F.D. et Hopkin J.M. 1999. Serum total IgE levels and CD14 on chromosome 5q31. *Clin. Genet.* 56:164-165.

Gao, P.S. Mao, X.Q. Roberts, M.H. Arinobu, Y. Akaiwa, M. Enomoto, T. Dake, Y. Kawai, M. Sasaki, S. Hamasaki, N. Izuhara, K. Shirakawa, T. et Hopkin J.M. 2000. Variants of STAT6 (signal transducer and activator of transcription 6) in atopic asthma. *J. Med. Genet.* 37: 380-382.

Gao, Q.J. Liu, D.W. Zhang, S.Y. Jia, M. Wang, L.M. Wu, L.H. Wang, S.Y. et Tong L.X. 2009. Polymorphisms of some cytokine and chronic hepatitis B and C virus infection. *World J. Gastroenterol.* 15(44): 5610-5619.

Gao, J. Li, W. Willis-Owen, S.A. Jiang, L. Ma, Y. Tian, X. Moffatt, M. Cookson, W. Lin, Y. et Zhang Y. 2010. Polymorphisms of PHF11 and DPP10 are associated with asthma and related traits in a Chinese population. *Respiration.* 79: 17–24.

Garcia-Bermudez, M. Lopez-Mejias, R. Gonzalez-Juanatey, C. Corrales, A. Robeldo, G. Castaneda, S. Miranda-Fillooy, J.A. Blanco, R. Fernandez, B. G. Balsa, A. Gonzalez-Alvaro, I. Gomez-Vaquero, C. Liorca, J. Martin, J. et Gonzalez-Gay, M.A. 2012. Analysis of the interferon gamma (rs 2430561, +874T/A) functional gene variant in relation to the presence of cardiovascular events in rheumatoid arthritis. *PLOSE ONE.* 7(10): e47166.

Gautrin, D. Infante-Rivard, C. Ghezze, H. et Malo J.L. 2001. Incidence and host determinants of probable occupational asthma in apprentices exposed to laboratory animals. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* 163(4):899-904.

Gencay, M. Rudiger, J.J. Tamm, M. Soler, M. Perruchoud, A.P. et Roth M. 2001. Increased frequency of Chlamydia pneumoniae antibodies in patients with asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* 163(5):1097-1100.

Ghesquière, H. Maurer, M.J. Casasnovas, O. Ansell, S.M. Larrabee, B.R. Lech-Maranda, E. Novak, A.J. Borrel, A.L. Slager, S.L. Brice, P. Allmer, C. Brion, A. Ziesmer, S.C. Morschhauser, F. Habermann, T.M. Gaillard, I. Link, B.K. Stamatoullas, A. Fermé, C. Dogan, A. Macon, W.R. Audouin, Cerhan, J.J.R. et Salles G. 2013. Cytokine gene polymorphisms and progression-free survival in classical hodkin lymphoma by EBV status : results from two independent cohorts. *Cytokine.* 64(2): 523-531.

Giedraitis, V. He, B. Huang, W.X. et Hillert, J. 2001. Cloning and mutation analysis of the human IL-18 promoter: a possible role of polymorphisms in expression regulation. *J. Neuroimmunol.* 112: 146-152.

GINA. 2003. Global initiative for asthma (GINA) : Global strategy for asthma management and prevention. *NIH Publication No 02-3659:Document* disponible sur le site Internet www.ginasthma.com.

GINA. 2006. The Global Initiative for Asthma. Global strategy for asthma management and prevention. The GINA reports revised. sur le site internet. www.ginasthma.com.

GINA. 2010. The Global Initiative for Asthma. Global strategy for asthma management and prevention. Classification of Asthma. Asthma control. Sur le site internet www.ginasthma.com

GINA. 2016. The Global Initiative for Asthma. Global strategy for asthma management and prevention. Classification of Asthma. Asthma control. Sur le site internet www.ginasthma.com

Gissler, M. Jarvelin, M.R. Louhiala, P. Hemminki, E. 1999. Boys have more health problems in childhood than girls: follow-up of the 1987 Finnish birth cohort. *Acta Paediatr.* 88(3):310-314.

Gold, M.S. et Cemp, A.S. 2005. Atopic disease in childhood. *Med. J. Aust.* 21: 182(6): 298-304.

Govan, V.A. Carrara, H.R. Sachs, J.A. Hoffman, M.S G.A. Williamson, A.L. 2003. Ethnic differences in allelic distribution of IFN- γ in South African women but no link with cervical cancer. *J Carcinog.* 2: 3.

Grasemann, H. Yandava, C.N. Storm van's Gravesande, K. Deykin, A. Pillari, A. Ma, J. Sonna, L.A. Lilly .C. Stampfer, M.J. Israel, E. Silverman, E.K. et Drazen J.M. 2000. A neuronal NO synthase (NOS1) gene polymorphism is associated with asthma. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 272:391-394.

Graves, P.E. Kabesch, M. Halonen, M. Holberg, C.J. Baldini, M. Fritzsche, C. Weiland, S.K. Erickson, R.P. von Mutius, E. et Martinez. F.D. 2000. A cluster of seven tightly linked polymorphisms in the IL-13 gene is associated with total serum IgE levels in three populations of white children. *J. Allergy Clin. Immunol.* 105: 506-513.

Gray, P.W. et Goeddel D.V. 1982. Structure of the human immune interferon gene. *Nature* 298:859–863.

Gross, N.J. Giembycz, M.A. et Rennard, S.I. 2010. Treatment of chronic obstructive pulmonary disease with roflumilast, a new phosphodiesterase 4 inhibitor. *COPD.* 7: 141–53.

Gudbjartsson, D.F. Bjornsdottir, U.S. Halapi, E. Helgadottir, A. Sulem, P. Jonsdottir, G.M. Thorleifsson, G. Helgadottir, H. Steinthorsdottir, V. Stefansson, H. Williams, C. Hui, J. Beilby, J. Warrington, N.M. James, A. Palmer, L.J. Koppelman, G.H. Heinzmann, A. Krueger, M. Boezen, H.M. Wheatley, A. Altmuller, J. Shin, H.D. Uh, S.T. Cheong, H.S. Jonsdottir, B. Gislason, D. Park, C.S. Rasmussen, L.M. Porsbjerg, C. Hansen, J.W. Backer, V. Werge, T. Janson, C. Jönsson, U.B. Ngn M.C. Chan, J. So, W.Y. Ma, R. Shah, S.H. Granger, C.B. Quyyumi, A.A. Levey, A.I. Vaccarino, V. Reilly, M.P. Rader, D.J. Williams, M.J. van Rij A.M. Jones, G.T. Trabetti, E. Malerba, G. Pignatti, P.F. Boner, A. Pescolliderung, L. Girelli, D. Olivieri, O. Martinelli, N. Ludviksson, B.R. Ludviksdottir, D. Eyjolfsson, G.I. Arnar, D. Thorgeirsson, G. Deichmann, K. Thompson, P.J. Wjst, M. Hall, I.P. Postma, D.S. Gislason, T. Gulcher, J. Kong, A. Jonsdottir, I. Thorsteinsdottir, U. et Stefansson K. 2009. Sequence variants affecting eosinophil numbers associate with asthma and myocardial infarction. *Nat. Genet.* 41: 342–7.

Guermaz, M. Ouslim, M. Guezza-Zirout, A.L. 1985. Asthme en milieu saharien. *Rev. Fr. Allergy*.1.

Gusbin, N. Garzaniti, N. et Louis R. 2006. Asthme et tabac. *Rev. Med. Lieg.* 61(2) : 81-86.

Gunnbjornsdottir, M.I. Omenaas, E. Gislason, T. et Norrman E. 2004. Obesity and nocturnal gastro- oesophageal reflux are related to onset of asthma and respiratory symptoms. *Eur. Respir. J.* 24:116-121.

Gyan, B.A. Goka, B. Cvetkovics, J.T. Kurtzhals, J.L. Adabayer, V. Perlmann, H. Lefvert, A.K. Akanmore, B.D. et Troye-blomberg M. 2004. Allelic polymorphisms in the repeat and promoter regions of the interleukin-4 gene and malaria severity in Ghanaian children. *Clin. Exp. Immunol.* 138: 145-150.

Hakonarson, H. Bjornsdottir, U.S. Ostermann, E. Arnason, T. et Adalsteinsdottir. A.E. 2001. Allelic frequencies and patterns of single nucleotide polymorphisms in candidate genes for asthma and atopy in Iceland. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 162: 2036-2044.

Hakonarson, H. et Halapi E. 2002. Genetic analyses in asthma: current concepts and future directions. *Am. J. Pharmacogenomics.* 2:155-166.

Halapi, E. Gudbjartsson, D.F. Jonsdottir, G.M. Bjornsdottir, U.S. Thorleifsson, G. Helgadottir, H. Williams, C. Koppelman, G.H. Heinzmann, A. Boezen, H.M. Jonasdottir, A. Blondal, T. Gudjonsson, S.A. Jonasdottir, A. Thorlacius, T. Henry, A.P. Altmueller, J. Krueger, M. Shin H.D. Uh, S.T. Cheong, H.S. Jonsdottir, B. Ludviksson, B.R. Ludviksdottir, D. Gislason, D. Park, C.S. Deichmann, K. Thompson, P.J. Wjst, M. Hall, I.P. Postma, D.S. Gislason, T. Kong, A. Jonsdottir, I. Thorsteinsdottir, U. et Stefansson K. 2010. A sequence variant on 17q21 is associated with age at onset and severity of asthma. *Eur. J. Hum. Genet.* 18: 902–8.

Hall, I.P. Wheatley, A. Christie, G. McDougall, C. Hubbard, R et Helms P.J. 1999. Association of CCR5 delta32 with reduced risk of asthma. *Lancet* 354:1264-1265.

Han, M. Yue, J. Lian Y.Y. Zhao, Y.L. Wang, H.X. et Liu L.R. 2011. Relationship between single nucleotide polymorphism of interleukin-18 and susceptibility to pulmonary tuberculosis in the Chinese Han population. *Microbiol. Immunol.* 55: 388-393.

Haas, L. Koch W.A. Schreiber S. Reinhard I. Koyama N. Singer M.V. et Bocker U. 2005. - 137 (G/C) IL-18 promoter polymorphism in patients with inflammatory bowel disease. *Scand. J. Gastroenterol.* 40:1438-1443.

Hall I.P. 1999. Genetics and pulmonary medicine 8: asthma. *Thorax.* 54 (1) : 65-69.

Halonen, M. Stern, D.A. Wright, A.L. Taussig, L.M. Martinez F.D. 1997. Alternaria as a major allergen for asthma in children raised in a desert environment. *Am J Respir Crit Care Med.* 155:1356–1361.

Hancock, D.B. Romieu, I. Shi, M. Sienra-Monge, J.J. Wu, H. Chiu, G.Y. Li, H. del Rio-Navarro, B.E. Willis-Owen, S.A. Weiss, S.T. Raby, B.A. Gao, H. Eng, C. Chapela, R. Burchard, E.G. Tang, H. Sullivan, P.F. et London S.J. 2009. Genome-wide association study implicates chromosome 9q21.31 as a susceptibility locus for asthma in mexican children. *PLoS Genet.* 5: e1000623.

Hargreave, F.E. Ryan, G. Thomson, N.C. O'Byrne, P.M. Latimer, K. et Juniper E.F. 1982. Bronchial responsiveness to histamine or methacholine in asthma: measurement and clinical significance. *Eur. J. Respir. Dis. Suppl.* 121:79-88.

Hayden, C. Pereira, E. Rye, P. Palmer, L. Gibson, N. Palenque, M. Hagel, I. Lynch, N. Goldblatt, J. et Lesouëf P. 1997. Mutation screening of interferon-gamma (IFN-g) as a candidate gene for asthma. *Clin. Exp. Allergy.* 27:1412-1416.

He, J.Q. Chan-Yeung, M. Becker, A.B. Dimich-Ward, H. Ferguson, A.C. Manfreda, J. Watson, W.T.A. et Sandford, A.J. 2003. Genetic variants of the IL13 and IL4 genes and atopic diseases in at-risk children. *Genes Immunit.* 4: 385-389.

Heinzmann, A. Mao, X.Q. Akaiwa, M. Kreomer, R.T. Gao, P.S. Ohshima, K. Umeshita, R. Abe, Y. Braun, S. Yamashita, T. Roberts, M.H. Sugimoto, R. Arima, K. Arinobu, Y. Yu, B. Kruse, S. Enomoto, T. Dake, Y. Kawai, M. Shimazu, S. Sasaki, S. Adra, CN. Kitaichi, M. Inoue, H. Yamauchi, K. Tomichi, N. Kurimoto, F. Hamasaki, N. Hopkin, JM. Izuhara, K. Shirakawa, T. et Deichmann K.A. 2000 a. Genetic variants of IL-13 signalling and human asthma and atopy. *Hum Mol Genet.* 9:549-559.

Heinzmann, A. Plesnar, C. Kuehr, J. Forster, J. et Deichmann K.A. 2000 b. Common polymorphisms in the CTLA-4 and CD28 genes at 2q33 are not associated with asthma or atopy. *Eur J Immunogenet.* 27:57-61.

Heinzmann, A. Gerhold, K. Ganter, K. Kurz, T. Schuchmann, L. Keitzer, R. Berner, R. Deichmann, KA. 2004. Association study of polymorphisms within interleukin-18 in juvenile idiopathic arthritis and bronchial asthma. *Allergy.* 59:845-849.

Hershey, G.K. Friedrich, M.F. Esswein, L.A. Thomas, M.L. et Chatila, T.A. 1997. The association of atopy with a gain-of-function mutation in the alpha subunit of the interleukin-4 receptor. *N. Engl. J. Med.* 337:1720-1725.

Higa, S. Hirano, T. Mayumi, M. Hiraoka, M. Oshima, L. Nambu, M. Yamaguchi, E. Hizawa, N. Kondo, N. Matsui, E. 2003. Association between interleukine-18 gene polymorphism 105A/C and asthma. *Clin. Exp. Allergy.* 33:1097-1102.

Himes, B.E. Hunninghake, G.M. Baurley, J.W. Rafaels, N.M. Sleiman, P. Strachan, D.P. Wilk, J.B. Willis-Owen, S.A. Klanderman B. Lasky-Su, J. Lazarus, R. Murphy, A.J. Soto-Quiros, M.E. Avila, L. Beaty, T. Mathias, R.A. Ruczinski, I. Barnes, K.C. Celedón, J.C. Cookson, W.O. Gauderman, W.J. Gilliland, F.D. Hakonarson, H. Lange, C. Moffatt, M.F. O'Connor, G.T. Raby, B.A. Silverman, E.K. et Weiss S.T. 2009.

Genomewide association analysis identifies PDE4D as an asthma susceptibility gene. *Am. J. Hum. Genet.* 84 (5): 581 – 593

Hirata, N. Konrogi, H. Iwagoe, H. Goto, E. Hamamoto, J. Fujii, K. Yamaguchi, T. Kawano, T. et Ando M. 1998. Allergen exposure induces the expression of endothelial adhesion molecules in passively sensitized human bronchus; time course and the role of cytokines. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 18:12-20.

Hirota, T. Harada, M. Sakashita, M. Doi, S. Miyatake, A. Fujita, K. Enomoto, T. Ebisawa, M. Yoshihara, S. Noguchi, E. Saito, H. Nakamura, Y. Tamari, M. 2008. Genetic polymorphism regulating ORM1-like 3 (*Saccharomyces cerevisiae*) expression is associated with childhood atopic asthma in a Japanese population. *J. Allergy Clin. Immunol.*; 121: 769–70.

Hizawa, N. Freidhoff, L.R. Ehrlich, E. Chiu. Y.F. Duffy, D.L. Schou, C. Dunston, G.M. Beaty, T.H. Marsh, D.G. Barnes, K.C. Huang, S.K. 1998. Genetic influences of chromosomes 5q31-q33 and 11q13 on specific IgE responsiveness to common inhaled allergens among African American families. Collaborative Study on the Genetics of Asthma (CSGA). *J. Allergy Clin. Immunol.* 102: 449-453.

Hoffjan, S. et Ober C. 2002. Present status on the genetic studies of asthma. *Curr. Opin. Immunol.* 14:709-717.

Hoffjan, S. Nicolae, D. et Ober C. 2003. Association studies for asthma and atopic diseases: a comprehensive review of the literature. *Respir. Res.* 4:14.

Hoffmann, S. Stanley, E.M. Cox, E.D. DiMercurio, B.S. Koziol, D.E. Harlan, D.M. Kirk, A.D. et Blair P.J. 2002. Ethnicity greatly influences cytokine gene polymorphism distribution. *Am. J. Transplant.* 2: 560-567.

Hoffmann, S. Park, J. Jacobson, L.M. Muehrer, R.J. Lorentzen, D. Klener, D. Becker, Y.T. Hullett, D.A. Mannon, R. Kirek, A.D. et Becker B.N. 2004. Donor genomics influence graft events: the effect of donor polymorphisms on acute rejection and chronic allograft nephropathy. *Kidney Inter.* 66: 1686-1693.

Hofstra, C.L. Van Ark, I. Hofman, G. Nijkamp, F.P. Jardieu, P.M. Van Oosterhout, A.J. 1998. Differential effects of endogenous and exogenous interferon-gamma on immunoglobulin E, cellular infiltration, and airway responsiveness in a murine model of allergic asthma. *Am. J Respir. Cell. Mol. Biol.* 19:826–35.

Holgate, S.T. et Polosa R. 2008. Treatment strategies for allergy and asthma. *Nature Rev. Immunol.* 8: 218-230.

Holloway, J.W. Beghe, B. Holgate, S.T. 1999. The genetic basis of atopic asthma. *Clin Exp Allergy.* 29(8):1023-1032

- Holloway, J.W. Beghé, B. Holgate, S.T. 1999. The genetic basis of atopic asthma. *Clin. Exp. Allergy*.9(8): 1023-1032.
- Homey, B et Zlotnik A. 1999. Chemokines in allergy. *Curr. Opin. Immunol.* 11:626-34.
- Hopper, J.L. Hannah, M.C. Macaskill, G.T. et Mathews J.D. 1990. Twin concordance for a binary trait: III. A bivariate analysis of hay fever and asthma. *Genet. Epidemiol.* 7 (4) : 277-289.
- Hou, J. Schindler, U. Henzel, W.J. Ho, T.C. Brasseur, M. et McKnight, S.L. 1994. An interleukin-4-induced transcription factor:IL-4 Stat. *Science* 265:1701–6.
- Howell, W.M. Turner, S.J. Theaker, J.M. et Bateman, A.C. 2003. Cytokine gene single nucleotide polymorphisms and susceptibility to an prognosis in cutaneous malignant melanoma. *Eur. J. Immunogenet.* 30: 409-414.
- Hsieh, Y.Y. Chang, C.C. Tsai, F.J. Hsu, Y. Tsai, H.D. et Tsai, C.H. 2002. Polymorphisms for interleukin-4 (IL-4) -590 promoter, IL-4 intron3, and tumor necrosis factor alpha -308 promoter: non-association with endometriosis. *J. Clin. Lab. Anal.* 16: 121-126.
- Htoon, J. Nadig, A. Hughes, T. Yavus, S. Direskeneli, H. . Saruhan-Direskeneli, G. Sawalha, A.H. 2011. *IL18* Polymorphism Is Associated with Behçet's Disease But Not Lupus Patients from Turkey. *J Rheumatol* . 38(5): 962-963.
- Hu, Z.W. Shi, X.Y. Lin, R.Z. et Hoffman B.B. 1996. Alpha1 adrenergic receptors activate phosphatidylinositol 3-kinase in human vascular smooth muscle cells. Role in mitogenesis. *J. Biol. Chem.* 271: 8977–8982.
- Hu, Y. Wu, L. Li, D. Zhao, Q. et Xu B. 2015. Association between cytokine gene polymorphisms and tuberculosis in a Chinese population in Shanghai: a case-control study. *BMC Immunol.* 16:8.
- Huang, S.L. Shiao, G. et Chou P. 1999. Association between body mass index and allergy in teenage girls in Taiwan. *Clin. Exp. Allergy.* 29(3):323-329.
- Huang, H.R. Zhong, Y.Q. et Wu J.F. 2012. The association between IFN- γ and IL-4 genetic polymorphisms and childhood susceptibility to bronchial asthma. *Gene.* 494: 96–101
- Huang, Y. Zhang, Y. Sun, W. Germ, K. Jiang, Y. Guo, W. Xu, C. et Li C. 2014. IFNG +874A/T polymorphism and IFNG CA repeat polymorphism associated with asthma in Asian- A meta analysis. *J. Asthma.* 51(10): 521-529.
- Hulin, M. et Annesi-Maesano I. 2010. Allergies et asthme chez l'enfant en milieu rural agricole. *Rev. maladies respir.* 27 : 1195-1220.

Hulkkonen J. 2002. Inflammatory cytokines and cytokine gene polymorphisms in chronic lymphocytic Leukaemia in primary Sjögren's syndrome and in healthy subjects. Faculté de médecine. Université de Tampere. Finland.

Hunt, P.J. Marshall, S.E. Weetman, A.P. Bell, J.I. Wass, J.A.H. et Welsh, K.I. 2000. Cytokine gene polymorphisms in autoimmune thyroid disease. *J. Clin. Endocrinol. Metabolism*. 85(5): 1984-1989.

Hussein, Y.M. Ahmad, A.S. Ibrahim, M.M. Tarhouny, S.A. Shalaby, S.M. Elshal, A.S. et Said A.E. 2009. Interferon gamma gene polymorphism as a biochemical marker in Egyptian atopic patients. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 19 (4): 292-298.

Ibrahim, G.H. ElTabbakh, M.T. . Gomaa, A.H. et Mohamed, E.A. 2012. *Interleukin-18* gene polymorphisms in Egyptian patients with allergic diseases. *Am. J. Rhinol. & Allergy*. 26(5) :385-389.

Ide, A. Kawasaki, E. Norio Abiru, N. Sunb, F. Kobayashi, M. Fukushima, T. Takahashi, R . Kuwahara, H. Kita, A. Oshima, K. Uotani, S. Yamasaki, H. Yamaguchi, Y. et Eguchi K. 2003. Association between IL-18 gene promoter polymorphisms and CTLA-4 gene 49A/G polymorphism in Japanese patients with type 1 diabetes. *J. Autoimmunity*. 22 :73-78.

Imboden, M. Nieters A, Bircher, A.J. Brutsche, M. Becher. N. Wjst, M. Ackermann-Librich, U. Berger, W. Probst-Hensch, N.M. et le groupe de Sapaldia. 2006 a. Cytokine gene polymorphisms and atopic disease in two European cohorts.(ECRHS-Basel and Sapaldia). *Clin.Mol. Allergy*. 4:1-9.

Imboden, M. Nicod, L. Nieters, A. Glaus, E. Matyas, S.G. Bircher, A.J. Ackermann-Liebrich, U. Berger, W. Probst-Hansch, N.M. et SAPALDIA team. 2006 b. The common G allele of interleukin-18 single nucleotide polymorphism is a genetic risk factor for atopic asthma. The SAPALDIA cohort study. *Clin. Exp. Allergy*. 36:211-218.

Immervoll, T. Loesgen, S. Dütsch, G. Gohlke, H. Herbon, N. Klugbauer, S. Dempfle, A. Bickeböller, H. Becker-Follmann, J. Rüschendorf, F. Saar, K. Reis, A. Wichmann, H.E. et Wjst M. 2001. Fine mapping and single nucleotide polymorphism association results of candidate genes for asthma and related phenotypes. *Human Mut.* 18: 327-336.

Imran, M. Manzoor, S. et Parvaiz F. 2014. Predictive potential of IL-18 -607 and osteopontin -442 polymorphism in interferon-based therapy of HCV infection in the Pakistani population. *Viral Immunol.* 27 (8): 404-411.

Ivansson, E.L. Juko-Pecirep, I. Gyllensten, U.B. 2010. Interaction of immunological genes on chromosome 2q33 and IFNG in susceptibility to cervical cancer. *Gynecol. Oncol.* 116: 544-548.

- Jacobson, N.G. Szabo, S.J. Weber-Nordt, R.M. Zhong. Z. Schreiber, R.D. et Darnell J.E. 1995. Interleukin 12 signaling in T helper type 1 (Th1) cells involves tyrosine phosphorylation of signal transducer and activator of transcription Stat3 and Stat4. *J. Exp. Med.* 181:1755–62.
- Jain, C. Das, S. Ramachandran, V.G. Saha, R. Bhattacharya, S.N. et Dar, S. 2017. Malassezia yeast and cytokine gene polymorphism in atopic dermatitis. *J. Clin. Diag. Res.* 11 (3): 1-5.
- Jang, W.C. Park, S.B. nam, Y.H. Lee, S.S. Kim, J.W. Chang, I.S. Kim, K.T. et Chang H.K. 2005. Interleukin-18 gene polymorphisms in Koreans patients with Behçet's disease. *Clin. Exp. Rheumatol.* 23: S59-S63.
- Janssen, R. Grutters, J.C. Ruven, H.J.T., Zsnen, P. Sato, H. Welsh, K.I. Du Bois, R.M. Van Den Bosch, J.M.M. 2004. No association between interleukin-18 gene polymorphisms and haplotypes in Dutch sacroidosis patients. *Tissue Antigens.* 63: 578-583.
- Jha, A.N. Singh, V.K. Kumari, N. Antony, J. van Tong, H. Singh, S. Pati, S.S. Patra, P.K. Singh, R. Toan, N.L. Song, L.H. Assaf, A. Messias-Reason, Velavan, T.P. Singh, L. thangaraj, K. 2012. IL-4 haplotype -590T, -34T and intron -3 VNTR R2 is associated with reduced Malaria risk among ancestral Indian tribal populations. *PLOSE ONE.* 7(10): e48136.
- Johnson, S.L. Pattemore, P.K. Sanderson, G. Smith, S. Lampe, F. et Josephs, L. 1995. Community study of the role virus infections in exacerbations of asthma in 9-11 year old children. *Br. Med. J.* 310: 1225.
- Johnson, S.L. Pattemore, P.K. et Sanderson, G. 1996. The association of upper respiratory with hospital admissions for asthma in children: a time trend analysis. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* 154:654
- Johnson, M.D. Plantinga, T.S. van de Vosse, E. Velez Edwards, D.R. Smith, P.B. Alexander, B.D. Yang, J.C. Kremer, D. Laird, G.M. Oosting, M. Joosten, L.A.B. van der Meer, J.W.M. van Dissel, J.T. Walsh, T.J. Perfect, J.R. Kullberg, B.J. Scott, W.K. et Mihai G. Netea M. 2012. Cytokine Gene Polymorphisms and the Outcome of Invasive Candidiasis: A Prospective Cohort Study. *Clin. Infect. Diseases.* 54(4):502–510.
- Jose, P.J. Adcock, I.M. Griffiths-Johnson, D.A. Collins, P.D. Walsh, D.T. Moqbel, R. Totty, N.F. Truong, O. Hsuan, J.J. et Williams T.J. 1994. Eotaxin: clon-ing of an eosinophil chemoattractant cytokine and increased mRNA expression in allergen- challenged guinea pig lungs. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 205:788-94.
- Jun, T.Y. Lee, K.U. Pae, C.U. Chae, J.H. Bahk, W.M. Kim, K.S. et Han, H. 2002. Polymorphisms of interleukin-4 promoter and receptor gene for schizophrenia in the Korean population. *Psych.Clin. Neurosci.* 53: 283-288.

- Just J. 2011. Impact de pollution sur l'asthme de la petite enfance. *Rev. Fr. Allergol.* 51 : 144-147.
- Kabesch, M. Tzotcheva, I. Carr, D. Hofler, C. Weiland, S.K. Fritzsche, C. von Mutius, E. et Martinez F.D. 2003. A complete screening of the IL4 gene: novel polymorphisms and their association with asthma and IgE in childhood. *J. Allergy Clin. Immunol.* 112(5):893-8.
- Kabesch, M. Schedel, M. Carr, D. Woitsch, B. Fritzsche, C. Weiland, S.K. et Mutius E.V. 2006. IL-4/IL-13 pathway genetics strongly influence serum IgE levels and childhood asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 117:269-274.
- Kalinski, P. Hilkens, C.M. Snijders, A., Snijder, F.G. et Kapsenberg M.L. 1997. IL-12-deficient dendritic cells, generated in the presence of prostaglandin E₂, promote type 2 cytokine production in maturing human naive T helper cells. *J. Immunol.* 159:28-35.
- Kamali-Sarvestani, E. Ghareh-Sard, B. et Alborzi A. 2002. Cytokine gene polymorphism in BCG lymphadenopathy. *IJMS.* 27(3): 125-130.
- Kamali-Sarvestani, E. Zolghadri, J. Ghareh-Sard, B. et Sarvari, J. 2005. Cytokine gene polymorphisms and susceptibility recurrent pregnancy loss in Iranian women. *J. reprod. Immunol.* 65: 171-178.
- Kamali-Sarvestani, E. Rasouli, M. Mortazavi, H. et Ghareh-Sard B. 2006. Cytokine gene polymorphisms and susceptibility to cutaneous leishmaniasis in Iranian patients. *Cytokine.* 35: 159-165.
- Kamali-Sarvestani, E. Ghayomi, M.A. et Nekoe A. 2007. Association of TNF- α -308G/A and IL-4 -589 C/T promoter polymorphisms with asthma susceptibility in the south of Iran. *J. Investig. Clin. Immunol.* 17(6): 361-366.
- Kaplan, M.H. Wurster, A.L. et Grusby M.J. 1998. A signal transducer and activator of transcription (Stat)4-independent pathway for the development of T helper type 1 cells. *J. Exp. Med.* 188:1191-6.
- Karaoglan, I. Pehlivan, S. Namiduru, M. Pehlivan, M. Kiliçarslan, C. Balkan, Y. et Baydar I. 2009. TNF- α , TGF- β , IL-10, IL-6 and IFN- γ gene polymorphisms as risk factors for brucellosis. *New Microbiol.* 32: 173-178.
- Karen Brophy, K. Ryan, A.W. Turner, G. Trimble, V. Patel, K.D. O'Morain, C. Kennedy, N.P. Egan, B. Close, E. Lawlor, G. MacMathuna, P. Stevens, F.M. Abuzakouk, M. Feighery, C. Kelleher, D. et McManus, R. 2010. Evaluation of 6 candidate genes on chromosome 11q23 for coeliac disease susceptibility: a case control study. *BMC Medical Genetics.* 11 :76-84.

Kawashima, T. Noguchi, E. Arinami, T. Yamakawa-Kobayashi, K. Nakagawa, H. Otsuka, F. et Hamaguchi H. 1998. Linkage and association of an interleukin 4 gene polymorphism with dermatitis in Japanese families. *J. Med. Genet.* 35: 502-504.

Keen, L.J. 2002. The extent and analysis of cytokine and cytokine receptor gene polymorphism. *Transplant. Immunol.* 10:143-146.

Kelley, Fabisiak, J.P. Hawes, K. et Abscher. 1991. Cytokine signaling in lung: Transforming growth factor- β secretion by lung fibro-blasts. *Am. J. Physiol.* 260: 123-128.

Kim, E. Lee, J.E. Namkung, J.H. Parl, J.H. Kim, S. Shin, E.S. Cho, E.Y. and Yang, J.M. 2007. Association of the single nucleotide polymorphism and haplotype of the interleukine 18 gene with atopic dermatitis in Koreans. *Clin. Exp. Allergy.* 37: 865-871.

Kim, S.K. Park, H.J. Chung, J.H. Kim, J.W. Seok, H. Lew, B.L. et Sim W.Y. 2014. Association Between Interleukin 18 Polymorphisms and Alopecia Areata in Koreans. *J. Interferon & Cytokine research.* 34(5): 349-353.

Kimura, K. Noguchi, E. Shibasaki, M. Arinami, T. Yokouchi, Y. Takeda, K. Yamakawa-Kobayashi, K. Matsui, A. et Hamaguchi H. 1999. Linkage and association of atopic asthma to markers on chromosome 13 in the Japanese population. *Hum. Mol. Genet.* 8:1487-1490.

Kips J.C. 2001. Cytokines in asthma. *Eur. Respir.* 34: 24S-33S.

Kodimuthali, A. Jabaris, S.S. et Pal M. 2008. Recent advances on phosphodiesterase 4 inhibitors for the treatment of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *J. Med. Chem.* 51: 5471-89.

Korachi, M. Ceran, N. Adaleti, R. Nigdelioglu, A. et Sökmen M. 2013. An association study of functional polymorphic genes IRF-1, IFNGR-1, and IFN- γ with disease progression, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, and viral load in chronic hepatitis B and C. *Int. J. Infect. Dis.* 17: 44-49.

Kordi, T.M.K. Sobti, R.C. Shekari, M. Mukesh, M. Suri V. 2008. Expression and polymorphism of IFN-gamma gene in patients with cervical cancer. *Exp. Oncol.* 30: 224-229.

Kraft, M. Hamid, Q. et Cassel, G.H. 1999. Mycoplasma and Chlamydia cause airway inflammation that is responsive to clarithromycin. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* 159: A517

Kretowski, A. Mironczuk, K. Karpinksa, A. Bojaryn, U. Kinalski, M. Puchalski, Z. et Kinaska, I. 2002. Interleukine-18 promoter polymorphisms in type one diabetes. *Diabetes.* 51: 3347-3349.

- Kruse S. Mao, X.Q. Heinzmann, A. Blattmann, S. Roberts, M.H. Braun, S. Gao, P.S. Forster, J. Kuehr, J. Hopkin, J.M. Shirakawa, T. et Deichmann K.A. 2000. The Ile198Thr and Ala379Val variants of plasmatic PAF-acetylhydrolase impair catalytical activities and are associated with atopy and asthma. *Am. J. Hum. Genet.* 66:1522-1530.
- Kruse, S. Kuehr, J. Moseler, M. Kopp, M.V. Kurz, T. Deichmann, K.A. Foster, P.S. et Mattes J. 2003. Polymorphisms in the IL18 gene are associated with specific sensitization to common allergens and allergic rhinitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 111(1):117-122.
- Kumano, K. Nakao, A. Nakajima, H. Hayashi, F. Kurimoto, M et Okamura H. 1999. Interleukin-18 enhances antigeninduced eosinophil recruitment into the mouse airways. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 160:873–8.
- Kurzwaski, M. Pawlik, A. Czerny, B. Domanski, L. Rozanski, J. et Drozdik M. 2005. Frequencies of the common promoter polymorphisms in cytokine genes in a Polish population. *Int. J. Immunogenet.* 32: 285-291.
- Lachheb, J. Chelbi, H. Ammar, T. Hamzaoui, K. et Hamzaoui A. 2007. Promoter polymorphism of the IL-18 gene is associated with atopic asthma in Tunisian children. *Int. J. Immunogen.* 35: 63-68.
- Lai, K.C. Chen, W.C. Jeng, L.B. Li, S.Y. Chou, M.C. et Tsai F.J. 2002. Association of genetic polymorphisms of MK, IL-4, p16, 21, p53 genes and human gastric cancer in Taiwan. *EJSO* 31: 1135-1140.
- Laing, I.A. Goldblatt, J. Eber, E. Hayden, C.M., Rye, P.J. Gibson, NA. Palmer, L.J. Burton, P.R. et Le Souef P.N. 1998. A polymorphism of the CC16 gene is associated with an increased risk of asthma. *J. Med. Genet.* 35:463-467.
- Laing, I.A. Hermans, C. Bernard, A. Burton, P.R. Goldblatt, J. et Le Souef P.N. 2000. Association between plasma CC16 levels» the A38G polymorphism, and asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 161:124-127.
- Lander, E.S. et Seork N.J. 1994. Genetic dissection of complex traits. *Science.* 266(5184):353.
- Lau, S. Illi, S. Sommerfeld, C. Niggemann, B. Bergmann. R. et von Mutius, E. . Early exposure to house-dust mite and cat allergens and development of childhood asthma : a cohort study. *The Lancet.* 356:1392-1397.
- Le Thi Thu, H. Nguyen Thi Van, A. Thuc Thanh, H. Nguyen Thi Dieu, T. Le Thi Minh H. 2014. Rôle des cytokines dans l'asthme. *J. Fran. Viet. Pneumol.* 5(14): 1-44

- Lee, H.M. Park, S.A. Chung, S.W. Woo. J.S. Chae, S.W. Lee, S.H. Kang, H.J. et Hwang, S.J. 2006a. Interleukin-18/-607 gene polymorphism in allergic rhinitis. *Int. J. ped. Otorhinolaryngol.* 70: 1085-1088.
- Lee, Y.J. Kang S.W. Park, J.J. Bae Y.D. Lee, E.Y. Lee E.B. et Song Y.W. 2006b. Interleukin-18 promoter polymorphisms in patients with Behçet's disease. *Hum. immunol.* 67:812-818.
- Lee, S.W. Chuang, T.Y. Huang, H.H. Lee, K.F. Chen, T.T.W., Kao, Y.H. et Wu, L.S.H. 2015. Interferon gamma polymorphisms associated with susceptibility to tuberculosis in a Han Taiwanese population. *Immunol.Infect.* 48: 376-380.
- Leigh, D. et Marley E. 1967. Branchial asthma. A genetic, population and psychiatric study. Oxford : Pergamon Press.
- Létuvé, S. et Taillé C. 2013. Physiopathologie de la réponse inflammatoire dans l'asthme de l'adulte. *EMC. Pneumol.* 10(2) : 1-8.
- Leung, W.K. Chan, M.C.W. To, K.F. Man, E.P. Ng, E.K.W. Chu, E.S.H. Lau, J.Y.W. Lin, S.R. et Sung, J.Y. 2006. H. Pylori genotypes and cytokine gene polymorphisms influence the development of gastric intestinal metaplasia in a Chinese population. *Am. J. Gastroenterol.* 101:714-720.
- Lévesque ,B. Auger, P.L. Bourbeau, J. Duchesne, J.F. Lajoie, P. et Menzie D. 2003. Qualité de l'air intérieur In : Environnement et santé publique- Fondements et pratiques. pp : 317-332.
- Li, K, Wa, T.C. Mansur, A.H. Britton, J. Williams, G. Pavord, I. Richards, K. Campbell, D.A. Morton, N. Holgate, S.T. et Morrison J.F. 1999. Association between -308 tumour necrosis factor promoter polymorphism and bronchial hyperreactivity in asthma. *Clin. Exp. Allergy.* 29:1204-1208.
- Li, Y. Wu, B. Xiong, H. Zhu, C. et Zhang, L. 2007. Polymorphisms of STAT-4 and IFN- γ genes and the risk of asthma in Chinese population. *Respir. Med.* 101: 1977-1981
- Li, Y. Guo, B. Zhang, L. Han, J. Wu, B. et Xiong H. 2008. Association between C-589T polymorphism of interleukin-4 gene promoter and asthma: A meta analysis. *Respir. Med.* 102: 984-992.
- Liang, X.H. Cheung, W. Heng, C.K. Wang, D.Y. 2005. Reduced transcriptional activity in individuals with IL-18 gene variants detected from functional but not association study. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 338: 736-741.
- Lilly, C.M. 2005. Diversity of asthma: Evolving concepts of pathophysiology and lessons from genetics. *J. Allergy. Clin. Immunogenet.* 34:27-33.

- Liu, X. Nickel, R. Beyer, K. Wahn, U. Ehrlich, E. Freidhoff, L.R. Bjorksten, B. Beaty, T.H. et Huang S.K. 2000. An IL13 coding region variant is associated with a high total serum IgE level and atopic dermatitis in the German multicenter atopy study (MAS-90). *J. Allergy Clin. Immunol.* 106:167-170.
- Liu, Z. Jifeng Guo, J. Wang, Y. Li, K. Kang, J. Wei, Y. Sun¹, Q. Xu, Q. Xu, C. Yan, X. et Tang, B. 2016. Lack of association between *IL-10* and *IL-18* gene promoter polymorphisms and Parkinson's disease with cognitive impairment in a Chinese population. *Scientific Rep.* 6: 19021-19027.
- Loisel, D.A. Tan, Z. Tisler, C.J. Evans, M.D. Gangnon, R.E. Jackson, D.J. Gern, J.E. Lemanske, R.F. et Ober C. 2011. *IFNG* genotype and sexe interact to influence risk of childhood asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 128 (3) 524-531.
- Loncle, D. Amaudrie, M. et Jacoty, C. 1993. Génie Génétique. Biosciences et Techniques. Doin éditeurs. 439 pages.
- Lopez-Maderuelo, D. Arnalich, F. Serantes, R. Gonzalez, A. Codoceo, R. Madero, R. Vazquez, J.J. et Montiel, C. 2003. Interferon-g and interleukin-10 gene polymorphisms in pulmonary tuberculosis. *Am .J. Respir. Crit. Care Med.* 167:970-9755.
- Lopez, K.I. Martinez, S.E.F. Mogel, M.CM. Romero, L.T. Figueroa, C.S. Pacheco, G.V. Ibarra, B. Corona, J.S. 2007. Genetic diversity of the IL-4, IL4 receptor and IL-13 loci in mestizos in the general population and in patients with asthma from three subpopulations in Mexico. *Int. J. Immunogenet.* 34:27-33.
- Lu, M.P. Cen, R.X. Wang, M.L. Zhu, X.J. Zhu, L.P. Yin, M. Zhang, Z.D. et Cheng, L. 2011. Association study on IL4, IL13 and IL4RA polymorphisms in mite-sensitized persistent allergic rhinitis in a Chinese population. *PLOSE ONE.* 6(11): e27363.
- Lu, Y. Wu, Z. Peng, Q. Ma, L. Zhang, X. Zhao, J. Qin, X. et Li S. 2014. Role of IL-4 gene polymorphisms in HBV-related hepatocellular carcinoma in Chinese population. *PLOSE ONE.* 9(10): e110061.
- Luster A.D. 1998. Chemokines: Chemotactic cytokines that mediate inflammation. *N. Engl. J. Med.* 338:436-45.
- Lwamoto, I. Nakajima, H. Endo, H. et Yoshida S. Interferon gamma regulates antigen-induced eosinophil recruitment into the mouse airways by inhibiting the infiltration of CD4⁺ T cells. *J. Exp. Med.* 177:573-576.
- Ma, Y. Zhang, B. Tang, R.K. Liu, Y. et Peng R.K. 2012. Interleukin-18 promoter polymorphism and asthma risk: a meta analysis. *Mol. Biol. Rep.* 39: 1371-1376
- Maddox, L. et Schwartz D.A. 2002. The pathophysiology of asthma. *Annu. Rev. Med.* 53:477-98.

Madore, A.M. Tremblay, K. Hudson, T.J. et Laprise, C. 2008. Replication of an association between 17q21 SNPs and asthma in a French- Canadian familial collection. *Hum. Genet.* 123: 93–5.

Madore, A.M. Perron, S. Turmel, V. Laviolette, M. Bissonnette, E.Y. et Laprise C. 2010. Alveolar macrophages in allergic asthma: an expression signature characterized by heat shock protein pathways. *Hum. Immunol.* 71: 144–50.

Magnan, A et Vervloet, D. 2000. Natural history of atopy. *Rev. Mal. Respir.* 17(1 Pt 2):235-244.

Malerba, G et Pignatti P.F. 2005. A review of asthma genetics : gene expression studies and recent candidates. *J.Appl. Genet.* 46(1): 93-104.

Mandour, M. Nemr, N. Kishk, R. et Ahmed E. 2014. Impact of the IL-18 gene polymorphism in response to antiviral therapy in chronic HCV genotype 4 patients. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 47 (2) : 137–142.

Marone, G. 1998. Asthma: recent advances. *Immunol. Today.* 19:5-10.

Marsh, D.G. Neely, J.D. Breazeale, D.R. Ghosh, B. Freidhoff, L.R. Ehrlich-Kautzky, E. Schou, C, Krishnaswamy, G. et Beaty T.H. 1994. Linkage analysis of IL4 and other chromosome 5q31.1 markers and total serum immunoglobulin E concentrations. *Science.* 264(5162): 1152-6.

Martinat, Y, Wallaert, B. Taillé, C. et Seferian, A. 2011. L’asthme est elle une maladie hormosensible ? is asthma a hormonodependent disease ? *rev. Mal. Respir.* 3(3) : 194-197

Martinez, F.D. Solomon, S. Holberg, C.J. Graves, P.E. Baldini, M. et Erickson R.P. 1998. Linkage of circulating eosinophils to markers on chromosome 5q. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 158:1739-1744.

Martinez F.D. 1999. Recognizing early asthma. *Allergy.* 54 Suppl 49:24-28.

Martinez F.D. 2000. Viruses and atopic sensitization in the first years of life. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 162(3 Pt 2):S95-S99.

Mathias, R.A. Grant, A.V. Rafaels, N. Hand, T. Gao, L. Vergara, C. Tsai, Y.J. Yang, M. Campbell, M. Foster, C. Gao, P. Togias, A. Hansel, N.N. Diette, G. Adkinson, N.F. Liu, M.C. Faruque, M. Dunston, G.M. Watson, H.R. Bracken, M.B. Hoh, J. Maul, P. Maul, T. Jedlicka, A.E. Murray, T. Hetmanski, J.B. Ashworth, R. Ongaco, C.M. Hetrick, K.N. Doheny, K.F. Pugh, E.W. Rotimi, C.N. Ford, J. Eng, C. Burchard, E.G. Sleiman, P.M. Hakonarson, H. Forno, E. Raby, B.A. Weiss, S.T. Scott, A.F. Kabesch, M. Liang, L. Abecasis, G. Moffatt, M.F. Cookson, W.O. Ruczinski, I. Beaty, T.H. et Barnes K.C. 2010. A genome-wide association study on African-ancestry populations for asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 125 (2): 336 - 346.

- Matricardi, P.M. Rosmini, F. Riondino, S. Fortini, M. Ferrigno, L. et Rapicetta M. 2000. Exposure to foodborne and orofecal microbes versus airborne viruses in relation to atopy and allergic asthma: epidemiological study. *BMJ*. 320(7232):412-417.
- Meyers, D.A. Postma, D.S. Panhuysen, C.I. Xu, J. Amelung, P.J. Levitt, R.C. et Bleecker E.R. 1994. Evidence for a locus regulating total serum IgE levels mapping to chromosome 5. *Genomics*. 23:464-470.
- Miaskowski, C. Cooper, B.A. Dhruva, A. Dunn, L.B. Langford, D.J. Cataldo, J.K. Bagoott, C.R. Merriman, J.D. Dodd, M. Lee, K. West, C. Paul, S.M. et Aouizzrat B.E. 2012. Evidence of association between cytokine genes and subjective reports of sleep disturbance in oncology patients and their family caregivers. *PLOSE ONE*. 7(7): e40560.
- Micheal, S. Minhas, K. Ishaque, M. Ahmed, F. et Ahmed, A. 2013. IL-4 gene polymorphisms and their association with atopic asthma and allergic rhinitis in Pakistani patients. *J. Allergol. Clin. Immunol.* 23: (2): 107-111.
- Migita, K. Miyazoe, S. Maeda, Y. Daikoku, M. Abiru, S. Ueki, T. Yano, K. Nagaoka, S. Matsumoto, T. Nakao, K. Hamasaki, K. Yatsushashi, H. Ishibashi, H. et Egushi, K. 2005. Cytokine gene polymorphisms in Japanese patients with hepatitis B virus infection—association between TGF-beta1 polymorphisms and hepatocellular carcinoma. *J. hepatol.* 42(4):505-510.
- Miller, S.A. Dykes, et D.D. Polesky, H.F. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic acids res.* 16: 1215.
- Ming, L. Wen, Q. Qiao H.L et Dong Z.M. 2011. Interleukin-18 and IL-18 -607C/A and -137G/C gene polymorphisms in patients with penicillin allergy. *J. Inter. Med. Res.* 39(2):388-398.
- Mitchell, T.J. Walley, A.J. Pease, J.E. Venables, P.J. Wiltshire, S. Williams, T.J. et Cookson W.O. 2000. Delta 32 deletion of CCR5 gene and association with asthma or atopy. *Lancet*. 356:1491-1492.
- Moffatt, M.F. Schou, C. Faux, J.A. et Cookson W.O. 1997. Germline TCR-A restriction of immunoglobulin E responses to allergen. *Immunogenetics*. 46:226-230.
- Moffatt, M.F. Kabesch, M. Liang, L. Dixon, A.L. Strachan, D. Heath, S. Depner, M. von Berg, A. Bufe, A. Rietschel, E. Heinzmann, A. Simma, B. Frischer, T. Willis-Owen, S.A. Wong, K.C. Illig, T. Vogelberg, C. Weiland, S.K. von Mutius, E. Abecasis, G.R. Farrall, M. Gut, I.G. Lathrop, G.M. et Cookson W.O. 2007. Genetic variants regulating ORMDL3 expression contribute to the risk of childhood asthma. *Nature*. 448: 470–3.
- Moffatt, M.F. Gut, I.G. Demenais, F. Strachan, D.P. Bouzigon, E. Heath, S. von Mutius, E. Farrall, M. Lathrop, M. Cookson, W.O. Gabriel, C. Consortium. 2010. A large-scale, consortium-based genomewide association study of asthma. *N. Engl. J. Med.* 363: 1211–21.

- Moffatt, M.F. et Cookson W.O. 1996. The genetics of specific allergy. *Monogr. Allergy*. 33:71-96.
- Moffatt, M.F. et Cookson W.O. 1997. Tumour necrosis factor haplotypes and asthma. *Hum. Mol. Genet* 6:551-554.
- Moffatt, M.F. et Cookson W.O. 1998. Gene identification in asthma and allergy. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 116:247-252.
- Morton, N.E. et Maclean C.J. 1974. Analysis of family resemblance . III. Complex segregation analysis of quantitative traits. *Am. J. Hum. Genet.* 26: 489-503.
- Mosaad, Y.M. Soliman, O.E. Tawhid, Z.E. et Sherif D.M. 2010. Interferon-gamma +874 T/A and Interleukin-10 -1082 A/G single nucleotide polymorphism in Egyptian Children with tuberculosis. *Scand. J. Immunol.* 72: 358-364.
- Moser, R. Fehr, J. et Bruijnzeel, P.L. 1992. IL-4 controls the selective endothelium-driven transmigration of eosinophils from allergic individuals. *J. Immunol.* 149: 1432-1438.
- Mosmann, T.R. Coffman, R.L. 1989. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu. Rev. Immunol.* 7: 145-173.
- Moumeni A. 1995. Prévalence de l'asthme bronchique et de la rhinite allergique dans deux régions côtières et rurales de l'Est Algérien. *Rev. Hop. Mil.* 72 : 38-42.
- Mullis, K. Faloona, F. Scharf, S. Saiki, R. Horn, G. et Erlich H. 1986. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 1: 263-273.
- Mullighan, C.G. Marshall, S.E. Bunce, M. et Welsh K.Y. Variation in immunoregulatory genes determines the clinical phenotype of common variable immunodeficiency. *Genes Immun.* 1:137-148.
- Munder, M. Mallo, M. Eichmann, K. et Modolell M. 2001. Direct stimulation of macrophages by IL-12 and IL-18 - a bridge built on solid ground. *Immunol. Lett.* 75:159-160.
- Murray, M. Webb, M.S.C. et O'callagan, C. 1992. Respiratory status and allergy after bronchiolitis. *Arch. Dis. Child.* 67:482.
- Myung, D.S. Lee, W.S., Park, Y.L. Nuri Kim, N. Oh, H.H. Kim, M.Y. Oak, C.Y. Chung, C.Y. Park, H.C. Kim, J.S. Cho, S.B. Kweon S.S. et Joo, Y.E. 2015. Association between interleukin-18 gene polymorphism and *Helicobacter pylori* infection in the Korean population. *Scientific Reports.* 5:11535-11543.

- Naeimi, S. Ghiam, A.F. Mojtahedi, Z. Dehaghani, A.S. Amani, D. et Ghaderi A. 2006. Interleukin-18 gene promoter polymorphisms and recurrent spontaneous abortion. *Eur. J. Obst. & Gynecol. Reprod. Biol.* 128:5-9.
- Nafti, S. Taright, S. El Ftouh, M. Yassine, N. Benkheder, A. Bouacha, H. Fakhfakh, H. Ali-Khoudja, M. Texier, N. El Hasnaoui, A. 2009. Prevalence of asthma in North Africa: the Asthma Insights and Reality in the Maghreb (AIRMAG) study. *Respir. Med.* 103(S2): S2-S11.
- Nakao, .F. Ihara, K. Kusuhara, K. Sasaki, Y. Kinukawa, N. Takabayashi, A. Nishima, S. et Hara T. 2001. Association of IFN-gamma and IFN regulatory factor 1 polymorphisms with childhood atopic asthma. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 107:499- 504.
- Nakayama, E.E. Hoshino, Y. Xin, X. Liu, H. Goto, M. Watanabe, N. Taguchi H. Hitani, A. Tachikawa, A.K. Fukushima, M. Yamada, K. Sigiura, W. Oka, S.I. Ajisawa, A. Sato, H. Takebe, Y. Nakamura, T. nagai, Y. Iwamoto, A. et Shioda, T. 2000. Polymorphisms in the interleukin-4 promoter affects acquisition of human immunodeficiency virus type 1 syncytium-inducing phenotype. *J. Virol.* 74: 5452-5459.
- Naylor, S.L. Sakaguchi, A.Y. Shows, T.B. Law, M.L. Goeddel, D.V. Gray P.W. 1983. Human immune interferon gene is located on chromosome 12. *J. Exp. Med.* 157:1020–1027.
- Nguyen, DP. Genc, M. Vardhana, S. Babula, O. Onderdonk, A. et Steven S. Witkin S.S.2004. Ethnic differences of polymorphisms in cytokine and innate immune system genes in pregnant woman. *Obstetrics Gynecol.* 104: 293-300.
- NHLBI. 2002. National Heart Lung and Blood Institute, World Health Organisation. Global strategy for asthma management and prevention, revised. NHLBI/WHO workshop report .
- Nickel, R. Wahn, U. Hizawa, N. Maestri, N. Duffy, D.L. Barnes, K.C. Beyer, K. Forster, J. Bergmann, R. Zepp, F. Wahn, V. Marsh, D.G. 1997. Evidence for linkage of chromosome 12q15-q24.1 markers to high total serum IgE concentrations in children of the German Multicenter Allergy Study. *Genomics.* 46:159-162.
- Nilson, L. Castor, O. Lofman, O. Magnusson, A. et Kjellman N.I. 1999. Allergic disease in teenagers in relation to urban and rural residence at various stages of childhood. *Allergy.* 54: 716-721.
- Nishiyama, C. Akizawa, Y. Nishiyama, M. Tokura, T. Kawada, H. et Mitsuishi K. 2004. Polymorphisms in the Fc epsilon RI beta promoter region affecting transcription activity: a possible promoter-dependant mechanism for association between Fc epsilon RI beta and atopy. *J. Immunol.* 173: 6458-6464.
- Nocent-Ejnaini C. 2016. Asthme et grossesse. *Rev. Fr. Allergol.* 56 : 194–195.

- Noguchi, E. Shibasaki, M. Arinami, T. Takeda, K. Maki, T. Myamoto, T. Kawashima, T. Kobayashi, K. et Hamagushi, H. 1997. Evidence for linkage between asthma/ atopy in childhood and chromosome 5q31-q33 in a Japanese population. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* 156: 1390-1393.
- Noguchi, E. Shibasaki, M. Arinami, T. Takeda, K. Yokouchi, Y. Kawashima, T. Yanagi, H. Matsui, A. et Hamaguchi, H. 1998. Association of asthma and the interleukin-4 promoter gene in Japanese. 28:449-453.
- Noguchi, E. Shibasaki, M. Arinami, T. Yamakawa-Kobayashi, K. Yokouchi, Y. Takeda K, Matsui, A. et Hamaguchi, H. 2000. Mutation screening of interferon regulatory factor 1 gene (IRF-1) as a candidate gene for atopy/asthma. *Clin. Exp. Allergy.* 30:1563-1567.
- Nolan, K., Greaves, D.R. et Waldmann, H. 1998. The human interleukin 18 gene IL18 maps to 11q22.2-q22.3, closely linked to the DRD2 gene locus and distinct from mapped IDDM loci. *Genomics.* 51:161-3.
- Nolard, N. et Detandt M. 2004. Rapport annuel. La saison pollinique. Institut scientifique de santé publique, Section Mycologie.
- Novak N, Kruse S, Potreck J, Maintz L, Jenneck C, Weidinger S, Fimmers R, Bieber T. 2005. Single nucleotide polymorphisms of the IL18 gene are associated with atopic eczema. *J. Allergy Clin. Immunol.* 115(4): 828-833.
- Novota, P. Kolstova, K. Pinterova, D. Novak, J. Treslova, L. Andel, M. et Cerna M. 2005. Interleukin-18 gene promoter polymorphisms in adult patient with type 1 diabetes mellitus and latent autoimmune diabetes in adults. *Immunol. Lett.* 96:247-251.
- Ober, C. Cox, N.J. Abney, M. Di Rienzo, A. Lander, E.S. Changyaleket, B. Gidley, H. Kurtz, B. Lee, J. Nance, M. Pettersson, A. Prescott, J. Richardson A, Schlenker E, Summerhill E, Willadsen, S. et Parry R. 1998. Genome-wide search for asthma susceptibility loci in a founder population. The Collaborative Study on the Genetics of Asthma. *Hum. Mol. Genet.* 7:1393-1398.
- Ober, C. Tsalenko, A. Willadsen, S. Newman, D. Daniel, R. Wu, X. Andal, J. Hoki, D. Schneider, D. True, K. Schou, C. Parry, R. et Cox N. 1999. Genome-wide screen for atopy susceptibility alleles in the Hutterites. *Clin. Exp. Allergy.* 29 (suppl 4):11-15.
- Ober, C. et Hoffjan, S. 2006. Asthma genetics : the long and winding road to gene discovery. *Genes Immunol.* 7: 95-100.
- O'Garra, A. Murphy, K. 1994. Role of cytokines in determining T-lymphocyte function. *Curr. Opin. Immunol.* 6: 458-466.

- O'Hollaren, M.T. Yunginger, J.W. Offord, K.P. Somers, M.J. O'Connell, E.J. et Ballard D.J. 1991 Exposure to an aeroallergen as a possible precipitating factor in respiratory arrest in young patients with asthma. *N. Engl. J. Med.* 324(6):359-363.
- Öhman, H. Tiitinen, A. Lehtinen, M. Paavonen, J. et Surcel H.M. 2009. Cytokine polymorphisms and severity of tubal damage in woman with chlamidia-associated infertility. *J. Infect. Dis.* 199: 1353-1359.
- Ohno, I. Nitta, Y. Yamauchi, K. Hoshi, ., Honma, M. Woolley, K. O'Byrne, P. Dolovich, J. Jordana, M. et Tamura, G. 1995. Eosinophils as a potential source of platelet derived growth factor B-chain (PDGF-B) in nasal polyposis and bronchial asthma. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 3:639-47.
- Oiso, N. Fukai, K. et Ishii M. 2000. Interleukin 4 receptor alpha chain polymorphism Gln551Arg is associated with adult atopic dermatitis in Japan. *Br. J. Dermatol.* 142:1003-1006.
- Oral, H.B. Budak, F. Uzaslan, E.K. Basturk, B. Bakar, A. Akalin, H. Ege, E. Ener, B. et Goral G. 2006. Interleukin-10 (IL-10) gene polymorphism as a potential host susceptibility factor in tuberculosis. *Cytokine.* 35: 143-147.
- Osawa, K. Etoh, T. Ariyoshi, N. Ishii, I Ohtani, M. Kariya, S. Uchino, K. et Kitada M. 2007. Relationship between Kaposi's varicelliform eruption in Japanese patients with atopic dermatitis treated with tacrolimus ointment and genetic polymorphisms in the *IL-18* gene promoter region. *J. Dermatol.* 34:531-536.
- Paffen, E. Medina, P. De Visser, M.C.H. Wijngaarden, A.V. Zorio, E. Estellés, A. Rosendaal, F.R. Espana, F. Bertina, R.M. et Doggen, C.J.M. 2008. The -589C>T polymorphism in the interleukin-4 gene (IL-4) is associated with a reduced risk of myocardial infarction in young individuals. *Int. Soc. Thrombosis Haemostasis.* 6: 1633-1638.
- Palmer, L.J. Daniels, S.E. Rye, P.J. Gibson, N.A. Tay, G.K. Cookson W.O. Goldblatt, J. Burton, P.R. et LeSouef P.N. 1998. Linkage of chromosome 5q and 11q gene markers to asthma-associated quantitative traits in Australian children. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* 158:1825-1830.
- Palmer, L.J. et Cookson W.O. 2000. Genomic approaches to understanding asthma. *Genome Res.* 10(9): 1280-1287.
- Palmer, L.J. et Cookson W.O. 2001. Using single nucleotide polymorphisms as a means to understanding the pathophysiology of asthma. *Respir. Res.* 2(2): 102-12.
- Palomino-Morales, R.J. Vazquez-Rodriguez, T.R. Torres, O. Morado, I.C. astañeda, S. Miranda-Fillooy, J.A. Callejas-Rubio, J.L. Fernandez-Gutierrez, B. Gonzalez-Gay, M.A. et Martin J. 2010. Association between IL-18 gene polymorphisms and biopsy-proven giant cell arteritis. *Arthritis Research & Therapy.* 12 : 51-58.

- Partti-Pellinen, K. Marttila, O. Makinen-Kiljunen, S. et Haahtela, T. 2000. Occurrence of dog, cat, and mite allergens in public transport vehicles. *Allergy*. 55(1):65-68.
- Pattenden, S. Hoek, G. Braun-Fahrlander, C. Forastiere, F. Kosheleva, A. et Neuberger, M. 2006 NO₂ and children's respiratory Symptoms in the PATY study. *Occup. Environ. Med.* 63: 828-835.
- Patuzzo, C. Trabetti, E. Malerba, G. Martinati, L.C. Boner, A.L. Pescolliderung, L. Zanoni, et Gignatt, P. 2000. No linkage or association of the IL-4Ralpha gene Q576R mutation with atopic asthma in Italian families. *J. Med. Genet.* 37:382-384.
- Paul W.E. 1991. Interleukin-4: a prototypic immunoregulatory lymphokine. *Blood*, 77(9): 1859-1870.
- Pawankar, R. Okuda, M. Yssel, H. Okumura, K. et Ra C. 1997. Nasal mast cells in perennial allergic rhinitis exhibit increased expression of the Fc epsilonRI, CD40L, IL-4, and IL-13, and can induce IgE synthesis in B cells. *J. Clin. Invest.* 99: 1492-1499.
- Pawlik, A. Wrzesniewska, J. Florezak, M. Gawronska-Szklarz, B. et Herezynska M. 2005. The -590 IL-4 promoter polymorphism in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol. Int.* 26: 48-51.
- Pawlik, A. Kaminski, M. Kusnierczyk, P. Kurzawski, M. Dziedziejko, V. Adamska, M. Safranow, K. et Gawronska-Szklarz B. 2007. Interleukin-18 promoter polymorphism in patients with atopic asthma. *Tissue antigens*. 70:314-318.
- Pawlik, A. Dziedziejko, V. Kurzawski, M. Edyta Paczkowska, E. Safranow, K. et Machalinski B. 2012. Association Between IL18 Gene Polymorphisms and the Release of Interleukin-18 from Stimulated Peripheral Blood Mononuclear Cells. *Biotechnol. & Biotechnol. Equ.* 26(3) :2987-2990.
- Pearce, N. Pekkanen, J. et Beasley R. 1999. How much asthma is really attributable to atopy? *Thorax*. 54(3):268-272.
- Pearce, N. Ait-Khaled, N. Beasley, R. Mallol, J. Keil, U. Mitchell, E. et Robertson C. 2007. Worldwide trends in the prevalence of asthma symptoms: phase III of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Thorax*. 62 :758-766.
- Pereira, E. Goldblatt, J. Rye, P. Sanderson, C. et Le Souef P. 1998. Mutation analysis of interleukin-5 in an asthmatic cohort. *Hum. Mutat.* 11:51-54.
- Perrin, L.F. 1998. Allergologie pratique. 3^{ème} édition. Masson.
- Pertovaara, M. Anttonen, J. et Hurme M. 2007. Th2 cytokine genotype are associated with a milder form of primary Sjögren's syndrome. *Annu. Rheum. Dis.* 65: 666-670.

- Pes, G.M. Lio, D. Carru, C. Deiana, L. Baggio, G. Franceschi, C. Ferrucci, L. Iliveri, F. Scola, L. Crivello, A. Candore, G. Colonna-Romano, G. et Cqarus, C. 2004. *Aging. Clin. Exp. Res.* 16(3): 244-248.
- Philit, F. Etienne, J. et Calver A. 1992. Agent infectieux associés aux décompensation s bronchopathies chroniques obstructive et aux attaques d'asthme. *Rev. Mal. Respir.* 9 :191-196
- Platts-Mills, T. Vaughan, J. Squillace, S. Woodfolk, J. Sporik, R. 2001. Sensitisation, asthma, and a modified Th2 response in children exposed to cat allergen: a population-based cross-sectional study. *The Lancet* 2001; 357(9258):752-756.
- Polosa R. 2008. Cigarette smoking is associated with a greater risk of incident asthma in allergic rhinitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 121:1428–34.
- Postna, D.S. Bleecker, E.R. Amelung, P.J. Holroyd, K.J. Xu, J. Panhuysen, C.I. Meyers, D.A. et Levitt R.C. 1995. Genetic susceptibility to asthma—bronchial hyperresponsiveness coinherited with a major gene for atopy. *N. Engl. J. Med.* 333:894-900.
- Pravica, V. Perrey, C. Stevens, A. Lee, J.H. Hutchinson, IV. 2000. A single nucleotide polymorphism in the first intron of the human IFN- γ gene: absolute correlation with a polymorphic CA microsatellite marker of high IFN- γ production. *Hum. Immunol.* 61(9):863–6.
- Prigoshin, N. Tambutti, M. Larriba, J. Gogorza, S. et Testa, R. 2004. Cytokine gene ôlymorphisms in reccurent pregnancy loss of unknown cause. *Am. J. Reprod.Immunol.* 52: 36-41.
- Puddu, M. Bayingana, K. et Tafforau, J. 2003. L'asthme et la pollution de l'air. Etat des conaissances et données disponibles pour le developpement d'une politique de santé en Belgique. *IPH/EPI Reports*.12.
- Pulendran, B. Smith, J.L. Caspary, G. Brasel, K. et Pettit D. 1999. Distinct dendritic cell subsets differentially regulate the class of immune response in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96: 1036-1041.
- Pullan, C.R. et Hey, E.N. 1991. Wheezing asthma and pulmory dysfunction 10 years after infection with respiratory syncytial virus in infancy. *Br. Med. J.* 303: 671.
- Pullat, J. Fleischer, R. Becker, N. Beier, M. Metspalu, A. et Hoheisel J. 2007. Optimization of candidate-gene SNP-genotyping by flexible oligonucleotide microarrays variations in immune regulator genes of hay-fever samples. *BMC Genomics.* 8: 282-293.
- Qiao, H.L. Yang, J. et Zhang, Y.W. 2005. Relationships between specific serum IgE cytokines and polymorphisms in the IL-4, IL4R α in patients with penecillins allergy. *Allergy.* 60: 1053-1059.

- Rad, I.A. Bagheri, M. Rahimi-Rad, M.H. et Moradi Z. 2010. IFN- γ +874 and IL-4 -590 polymorphisms and asthma Susceptibility in North West of Iran. *Tanaffos*. 9(4): 22-27.
- Raherison, C. Tunon de Lara, J.M. Taytard, A. Kopferschmitt-Kubler, C. Quoix, E. et
- Pauli G. 1997. Prévalence de l'asthme chez l'enfant. *Rev. Maladies Respir.* 14(14): s33-s39.
- Ramphul, K. Lv, J. Hua, L. Liu, Q.H. Fang, D.Z. Ji, R.X. et Bao Y.X. 2014. Single nucleotide polymorphisms predisposing to asthma in children of Mauritian Indian and Chinese Han ethnicity. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 47 (5) :394-397.
- Renaulds J.C. 2001. New insights into the role of cytokines in asthma. *J. Clin. Pathol.* 54: 577-589.
- Rigoli, L. Di Bella, C. Procopio, G. Barberi, I. Caminiti, L. La Grutta, S. Briuglia, S. Salpietro, C.D. Pajno, G.B. 2004. Molecular analysis of sequence variants in the Fc ϵ receptor I β Gene and IL-4 gene promoter in Italian atopic families. *Allergy*. 59: 213-218.
- Rincon, M. Anguita, J. Nakamura, T. Fikrig, E. et Flavell R.A. 1997. Interleukin (IL)-6 directs the differentiation of IL-4- producing CD4 $^{+}$ T cells. *J. Exp. Med.* 185:461-9.
- Risclin, B.P. Parsons, J.P. et Mastrorade, J.G. 2010. Treating silent reflux disease does not improve poorly controlled asthma. *Cleve. Clin. J. Med.* 77(3): 155-60.
- Risch, N. et Merikangas K. 1996. The future of genetic studies of complex human diseases. *Science*. 273:1516-1517.
- Rodriguez, D.A.L. Carmona, F.D. Echeverría, L.E. González, L.I. et Martin J. 2016. IL18 Gene Variants Influence the Susceptibility to Chagas Disease. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 10: 1371-1383.
- Romagnani S. 1997. The Th1/Th2 paradigm. *Immunol. Today*. 18:263-6.
- Rommens, J. Iannuzzi, M. Kerem, B. Drumm, M. Melmer, G. Dean, M. Rozmahel, R. Cole, J. Kennedy, D. et Hidaka N. 1989. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science*. 245:1059-1065.
- Rogers, A.J. Raby, B.A. Lasky-Su, J.A. Murphy, A. Lazarus, R. Klanderman, B.J. Sylvia, J.S. Ziniti, J.P. Lange, C. Cledón, J.C. Silverman, E.K. Weiss, S.T. 2009. Assessing the reproducibility of asthma candidate gene associations, using genomewide data. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 179: 1084-90.
- Rosenstreich, D. L. Eggleston, P. Kattan, M. Baker, D. Slavin, R.G. Gergen, P. Mitchell, H. McNiff-Morrimer, K. Lynn, H. Ownby, D. et Malveaux F. 1997. the role of cockroach allergy and exposure to cockroach allergen in causing morbidity among inner-city children with asthma. *New eng. J. Med.* 336 (19):1356-1363.

Rosenwasser, L.J. Klemm, D.J. Dresback, J.K. Inamura, H. Mascali, J.J. Klennert, M. et Borish L. 1995. Promoter polymorphisms in the chromosome 5 gene cluster in asthma and atopy. *Clin. Exp. Allergy*. 25(suppl 2):74-78.

Ross, O.A. Curran, M.D. Meenagh, H. Williams, F. Barnett, Y.A. Middleton, D. et Rea, I.M. 2003. Study of age-association with cytokine gene polymorphism in an aged Irish population. *Mechanisms. Ageing. Dev.* 124: 199-206.

Rossouw, M. Nel, H.J. Cooke, G.S. van Helden, P.D. et Hoal E.G. 2003. Association between tuberculosis and a polymorphic NF-kappaB binding site in the interferon- γ gene. *Lancet* 361(9372):1871-1872.

Sabah A. 1994. Allergologie. Editions médicales internationales. Lavoisier.

Safanova, A.V. Petrin, A.N. Arutyunov, S.D. Tsarev, V.N. Akulenko, L.A. Zorina, A.O. Rebrikov, D.V. Rubanovich, A.V. Borinskaya, S.A. et Yankovsk, N.K. 2010. Association of cytokine genes alleles with the inflammation of human periodontal tissue. *ACTA NATURAE* 3(8): 116-124.

Safonova, A.V. Petrin, A.N. Arutyunov, S.D. Tsarev, V.N. Akulenko, L.A. Zorina, A.O. Rebrikov, D.V. Rubanovich, A.V. Borinskaya, S.A. Yankovsky, N.K. 2011. Association of cytokine gene alleles with the inflammation of human periodontal tissue. *Actae Naturae*. 3(1): 116-124.

Sampson H.A. 1996. Epidemiology of food allergy (review). *Pediatr. Allergy Immunol.* 7: 542-50.

Sanak, M., Pierzchalska, M. Bazan-Socha, S. et Szczeklik A. 2000. Enhanced expression of the leukotriene C(4) synthase due to overactive transcription of an allelic variant associated with aspirin-intolerant asthma. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 23:290-296.

Sandford, A. Weir, T. et Paré P. 1996. The genetics of asthma », *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 153: 1749-1765.

Sandford, A. Chgani, T. Zhu, S. Weir, T.D. Bai, T.R. Spinelli, J.J. FitzGerald, M. Behbehani, N.A. tan, W.C. Et Paré, P.D. 2000. Polymorphisms in the *IL-4*, *IL-4RA*, and *FCER1B* genes and asthma severity. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 166(1): 135-140.

Santos, K.N. Almeida, M.K. Fecury, A.A. Costa C.A. et Martins L.C. 2015. Analysis of polymorphisms in the interleukin 18 gene promoter (-137G/C and -607C/A) in patients infected with hepatitis C virus from the Brazilian amazon. *Arq Gastroenterol.* 52(3): 222-227.

Sareneva, T., Pirhonen, J. Cantell, K. et Julkunen I. 1995. N-glycosylation of human interferon-gamma: glycans at Asn-25 are critical for protease resistance. *Bioch. J.* 308 (1):9-14.

Sad, S. et Mosmann. T.R. 1995. Interleukin (IL) 4, in the absence of antigen stimulation, induces an anergy-like state in differentiated CD8⁺ TC1 cells: loss of IL-2 synthesis and autonomous proliferation but retention of cytotoxicity and synthesis of other cytokines. *J. Exp. Med.* 182:1505-1515.

Scarel-Caminaga, R.M. Treivillatto, P.C. Souza, A.P. Brito, R.B. et Line, S.R. 2002. Frequencies of the -330(T/G) IL-2 and -590(T/C) IL-4 gene polymorphisms in a population from south-eastern Brazil. *J. Eur.J. Immunogenet.* 29: 293-296.

Schaub, B. Lauener, R. et von Mutius, E. 2006. The many faces of the hygiene hypothesis. *J. Allergy Clin.Immunol.*117: 969-977.

Schleimer, R.P. Sterbinsky, S.A. Kaiser, J. Bickel, C.A. Klunk, D.A. Tomioka, K. Newman, W. Luscinskas, F.W. Gimbrone, M.A. Jr.et McIntyre B.W. 1992. IL-4 induces adherence of human eosinophils and basophils but not neutrophils to endothelium. Association with expression of VCAM-1. *J. Immunol.* 148: 1086-1092.

Schwartz M. 1952. Heredity in branchial asthma. *Acta. Allergol.* 5 (suppl. 11) :21 28.

Schwarz, M.J. Krönig, H. Riedel, M. Dehning, S. Douhet, A. Spellmann, I. Ackenheil, M. Möller, H.J. et Müller N. 2006. IL-2 and IL-4 polymorphisms as candidate genes in schizophrenia. *Eur. Psychiatry Clin. Neurosci.* 256: 72-76.

Scorpil, N. Kolesar, L. Lardy, N.M. et Slavcev, A. 2007. Cytokine gene polymorphisms in the Dutch population. *Int. J. Immunogenet.* 34: 87-90.

Sears, M.R. 1991. Tendances évolutives de la mortalité par asthme à l'échelle mondiale. *Bull Union Int Tuberc. Ma.l Respir.* 66 : 85-90.

Sebelova, S. Izakovicova-Holla, L. Stejskalova, A. Schüller, M. Znojil, V. et Vasku A. 2007. Interleukin-18 and its three gene polymorphisms relating to allergic rhinitis. *J. Hum. Genet.* 52: 152-158.

Seder, R.A. Paul, W.E. Davis, M.M. et Fazekas de St Groth, B.1992. The presence of interleukin 4during in vitro priming determines the lymphokine-producing potential of CD4⁺ T cells from T cell receptor transgenic mice. *J. Exp. Med.* 176: 1091-1098.

Segat, L. Bevilacqua, D. Boniotto, M. Arraes, L.C. de Souza, P.R. de Lima Filho, J.L. et Crovella S. 2006. IL-18 gene promoter polymorphism is involved in HIV-1 infection in a Brazilian pediatric population. *Immunogen.* 58: 471-473.

Shaaban, H.H. Mohy, A.M. Abdel-Razek, A.H. et Abdel Waheb A. 2014. *Interleukin-18 - 607C/A* gene polymorphism in Egyptian asthmatic Children. *Mol. Diagn.Ther.* 18:427-434.

Shi, H.Z. Xiao, C.Q. et Zhong, D. 1998. Effect of inhaled interleukin-5 on airway hyperreactivity and eosinophilia in asthmatics. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 157: 204-209.

- Shiau, M.Y. Huang, C.N. Yang, T.P. Hwang, Y.C. Tsai, K.J. Chi, C.J. et Chang, Y.H. cytokine promoter polymorphisms in Taiwanese patients with graves diseases. *Chem. Biochemist.* 40: 213-217.
- Shin, H.D. Kim, L.H. Park, B.L.Y. H. Choi, Y.H. Park, H.S.. Hong, S.J. Choi, B.W. Lee, J.H. et Park C.S. 2005. Association of interleukin 18 (IL18) polymorphisms with specific IgE levels to mite allergens among asthmatic patients. *Allergy.* 60:900-906.
- Shirakawa, T Li, A. Dubowitz, M. Dekker J.W. Shaw, A.E. Faux, J.A. Ra, C. Cookson, W.O. et Hopkin J.M. 1994. Association between atopy and variants of the beta subunit of the high-affinity immunoglobulin E receptor. *Nat. Genet.* 7,125-129.
- Shirakawa, T. Mao, X.Q. Sasaki, S. Enomoto, T. Kawai, M. Morimoto, K. et Hopkin J. 1996. Association between atopic asthma and a coding variant of Fc epsilon RI beta in a Japanese population [letter]. *Hum. Mol. Genet.* 5:2068.
- Sibbald, B. Horn, M.E. Brain, E.A. Gregg I. 1980. Genetic factors in childhood asthma. *Thorax* 35(9):671-674.
- Silverman, E.K. et Palmer L.J. 2000. Case-control association studies for the Genetics of Complex respiratory diseases. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 22 ; 645-648.
- Siroux, V. Pin, I. Oryszczyn, M. P. Le Moual, N. et Kauffmann F. 2000. Relationships of active smoking to asthma and asthma severity in the EGEA study. Epidemiological study on the Genetics and Environment of Asthma. *Eur Respir J.* 15 : 470-7.
- Sivalingam, S.P. Yoon, KH. Koh D.R. et Fong K.Y. 2003. Single-nucleotide polymorphisms of the interleukin-18 gene promoter region in rheumatoid arthritis patients: protective effect of AA genotype. *Tissue antigens*, 62: 498-504.
- Sleiman, P.M. Annaiah, K. Imielinski, M. Bradfield, J.P. Kim, C.E. Frackelton, E.C. Glessner, J.T. Eckert, A.W. Otieno, F.G. Santa, E. Thomas, K. Smith, R.M. Glaberson, W. Garris, M. Gunnlaugsson, S. Chiavacci, R.M. Allen, J. Spergel, J. Grundmeier, R. Grunstein, M.M. Magnusson, M. Bisgaard, H. Grant, S.F. et Hakonarson H. 2008. ORMDL3 variants associated with asthma susceptibility in North Americans of European ancestry. *J. Allergy Clin. Immunol.* 122: 1225–7.
- Sleiman, P.M. Flory, J. Imielinski, M. Bradfield, J.P. Annaiah, K. Willis-Owen, S.A. Wang, K. Rafaels, N.M. Michel, S. Bonnelykke, K. Zhang, H. Kim, C.E. Frackelton, E.C. Glessner, J.T. Hou, C. Otieno, F.G. Santa, E. Thomas, K. Smith, R.M. Glaberson, W.R. Garris, M. Chiavacci, R.M. Beaty, T.H. Ruczinski, I. Orange, J.S. Allen, J. Spergel, J.M. Grundmeier, R. Mathias, R.A. Christie, J.D. von Mutius, E. Cookson W.O. Kabisch, M. Moffatt, M.F. Grunstein, M.M. Barnes, K.C. Devoto, M. Magnusson, M. Li, H. Grant, S.F. Bisgaard, H. et Hakonarson, H. 2010. Variants of DENND1B associated with asthma in children. *N. Engl. J. Med.* 362: 36–44.

- Snyder, R. Collipp, P. et Green J. 1967. Growth and ultimate height of children with asthma. *Clin. Pediatr.* 6 : 389-92 .
- Sperber, K. Kendler, D. Yu, M., Nayak, H. et Pizzimenti A. 1993. Prevalence of atopy in inner-city asthmatic population. *Mont. Sinai. J. Med.* 60,3:227-231.
- Stavric, K. Peova, S. Trajkov, D. et Spiroski M. 2012. Gene polymorphisms of 22 cytokines in Macedonian children with atopic dermatitis. *Iran. J. Allergy Asthma Immunol.* 11:37-50
- Steinke, J.W. et Borish L. 2001. Th2 cytokines and asthma. Interleukin-4: its role in the pathogenesis of asthma, and targeting it for asthma treatment with interleukin-4 receptor antagonists. *Respir. Res.* 2(2):66-70.
- Stenius-Aarniala, B. Poussa, T. Kvarnstrom, J. Gronlund, EL. Ylikahri, M. et Mustajoki P. 2000. Immediate and long term effects of weight reduction in obese people with asthma: randomised controlled study. *BMJ.* 320(7238):827-832.
- Studnicka, M. Hack, I.E. Pischinger, J. Fangmeyer, C. Haschke, N. et Kühr, J. 1997. Traffic-related NO₂ and the prevalence of asthma and respiratory symptoms in seven year olds. *Eur. Respir. J.* 10:2275-2278.
- Su, M.W. Tunh, K.Y. Liang, P.H. Tsai, C.H. Kuo, N.W. et Lee Y.L. 2012. Gene-Gene and Gene-Environmental interactions of childhood asthma: a multifactor dimension reduction approach. *PLoS ONE.* 7(2): e30694.
- Sunyach, C. et Checler, F. 2005. Combined pharmacological, mutational and cell biology approaches indicate that p53-dependent caspase 3 activation triggered by cellular prion is dependent on its endocytosis. *J. Neurochem.* 92: 1399-407.
- Suzuki, I. Hizawa, N. Yamaguchi, E. et Kawakami, Y. 2000. Association between a C+33T polymorphism in the IL-4 promoter region and total serum IgE levels. *Clin. Exp. Allergy.* 30(12):1746-1749.
- Szczeklik, A. Nizankowska, E. et Duplaga M. 2000. On behalf of the AIAE investigators : natural history of aspirin-induced asthma. *Eur. J. Respir.* 16: 432-436.
- Szeszko, J.S. Howson, J.M.M Cooper, J.D. Walker, N.M. Twells, R.C.J Stevens, H.E. Nutland, S.L. et Todd J.A. 2006. Analysis of Polymorphisms of the Interleukin-18 Gene in Type 1 Diabetes and Hardy-Weinberg Equilibrium Testing. *DIABETES.* 55 : 559-562.
- TAHINA. 2005. Transition épidémiologique et système de santé. Enquête Nationale Santé. Institut national de santé publique. Algérie.
- Takeda, K. Kishimoto, T. et Akira S. 1997. STAT6: its role in interleukin 4-mediated biological functions. *J. Mol. Med.* 75:317-26.

- Takada, T. Suzuki, E. Morohhashi.K. Gejyo, F. 2002. Association of single nucleotide polymorphisms in the IL-18 gene with sarcoidosis in a Japanese population. *Tissue Antigens* 60: 36-42.
- Takeda, K. et Akira S. 2000 STAT family of transcription factors in cytokine-mediated biological responses. *Cytokine. Growth. Factor. Rev.* 11:199–207.
- Tanaka, K. Sugiura, H. Uehary, M. Hashimoto, Y. Donnelly, C. et Montgomery D.S. 2001. Lack of association between atopic eczema and the genetic variants of interleukin-4 and interleukin-4 receptor α chain gene: heterogeneity of genetic background in atopic eczema patients. *Clin. Exper. Allergy.* 31: 1522-1527.
- Tanaka, K. Roberts, M.H. Yamamoto, N. Sugiura, H. Uehara, M. Mao, X.Q. Shirakawa, T, et Hopkin J. 2002. Genetic variants of receptors for thromboxane A2 and IL-4 in atopic dermatitis. *Biochem. Biophys Res. Commun.* 292: 776-780.
- Tang, L. Lin, H.G. et Cen, B.F. 2014. Association of IL-4 promoter polymorphisms with asthma : a meta-anaysis. *Genet. Mol. Res.* 13(1): 1383-1394.
- Tavendale, R. Macgregor, D.F. Mukhopadhyay, S. et Palmer C.N. 2008. A polymorphism controlling ORMDL3 expression is associated with asthma that is poorly controlled by current medications. *J.Allergy Clin. Immunol.* 121: 860–3.
- Teichtah,l , Buckmaster, N. et Pertnikov, E. 1997. The incidence of respiratory tract infection in adults requiring hospitalization for asthma. *Chest.* 112(3):591-596.
- To, T. Stanojevic, S. Moores, G. Gershon, A.S. Bateman, E.D. Cruz, A.A. et Boulet A.P. 2012. Global asthma prevalence in adult: finding from the cross-sectional world health survey. *BMC Public Health.* 12: 204.
- Torres-Poveda, K. Burgette-Garcia, A.I. Bahena-Roman ,Méndez-Martinez, R. Zuita-Diaz, M.A. Lopez-estrada, G. Delgado-romero, K. Perlata-Zaragoza , O. Bermudez-Morales, Cantu, D. Garcia-carrenca A. et Madride-Marina, V. 2016. Risk allelic load in Th2 and Th3 cyttokines genes biomarker of susceptibility to HPV-16 positive cervical cancer: a case control study. *BMC cancer.* 16:330-344.
- Toure, O. Konate, S. Sissoko, S. Niangaly, A. Barry, A. Sall, A.H. Diarra, E. Poudiougou, B. Sepulveda, N. Campino, S. Rockett, K.A. Clarck, Tera, .G. Thera, M.A. Doumbo, en collaboration avec “le consortium MallariaGEN”. Candidate polymorphisms and severe malaria in a Malian population. *PLOSE ONE.* 7(9): e43987.
- Trajkov, D. Mirkovska-Stojkovikj J. Arsov, T. Petlichkovski, A. Strezova, A. Efinska-Mladenvska, O. Gogusev, J. et Spiroski, M. 2008. Association of cytokine gene polymorphisms with bronchial asthma in Macedonians. *Iran. J. Allergy. Asthma. Immunol.* 7(3): 143-156.

- Trajkov, D. Mirkovska-Stojkovikj J. Petlichkovask, A. Sterzova, A. Efinska-Mladenovska, O. Sandveska, E. Sibinovka, O. Hristomanova, Djulejic, E. Petrov, J. Gogusev, J. et Spiroski, M. 2009. Association of cytokine gene polymorphisms with chronic obstructive pulmonary disease in Macedonians. *Iran. J. Allergy asthma immunol.* 8(1): 31-42.
- Tsai, H.T. Hsin, C.H. Hseih Y.H. Tang, C.H. Yang, S.F. Lin, C.W. et Chen M.K.. 2013. Impact of Interleukin-18 Polymorphisms -607A/C and -137G/C on Oral Cancer Occurrence and Clinical Progression. *Plose one.* 83572-83580.
- Uboldi de Capei, M. Dametto, E. Fasano, M.E. Rendine, S. et Curtoni E.S. 2003. Genotyping for cytokine polymorphisms : allele frequencies in the italien population. *Eur. J. Immunogenet.* 30:5-10.
- Urcelay, E. Santiago, J.L. Mas, A. Martinez, A. de las Heras, V. Arroyo, R. et de la Concha, E.G. 2005. Role of interleukin 4 in spanish multiple sclerosis patients. *J. Neuroimmunol.* 168: 164-167.
- Ushio, S. Namba, M. Okura T. Hattori, K. Nukada, Y. et Akita K. 1996. Cloning of the cDNA for human IFN-gamma-inducing factor, expression in Escherichia coli, and studies on the biologic activities of the protein. *J. Immunol.* 156:4274-9.
- Vairaktaris, E. Yannopoulos, A. Vassiliou Stavros, Serefoglou, Z. Nkenke, E. Critselis, E. Avogoustidis, D. Yapijakis, C. Neukam, F.W. et Patsouris E. 2006. Strong association of interleukin-4 (-590C/T) polymorphism with increased risk for oral squamous cell carcinoma in Europeans. *Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol Oral. Adiol Endod.* (article in press).
- van Boxel-Dezaire, A.H.H. et Star G.R. 2007. Cell type-specific signaling in response to interferon-gamma. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 316:119-154.
- van der Pouw Kraan, T.C. van Veen, A. Boeijs, L.C. van Tuyl, S.A. de Groot, E.R. Stapel, S.O. Bakker, A. Verweij, C.L. Aarden, L.A. et van der Zee J.S. 1999. An IL-13 promoter polymorphism associated with increased risk of allergic asthma. *Genes Immun.* 1:61-65.
- van Sambeek, R. Stevenson, D.D. Baldasaro, M. Lam, B., Zhao, J. Yoshida, S. Yandora, C. Drazen, J.M. et Penrose J.F. 2000. 5' flanking region polymorphism of the gene encoding leukotriene C4 synthase does not correlate with the aspirin-intolerant asthma phenotype in the United States. *J. Allergy Clin. Immunol.* 106:72- 76.
- van Schayek, C.P. Van Der Heijden, F.M. van Den Boom, G. Tirrimanna, P.R. van, et Herwaden C.L. 2000. under diagnosis of asthma: is doctor or patient to blame? The DIMCA project. *Thorax.* 55(7): 562-565.
- Variations in the prevalence of respiratory symptoms, self-reported asthma attacks, and use of asthma medication in the European Community Respiratory Health Survey (ECRHS). 1996. *Eur. Respir. J.* 9 : 687-695.

- Vercelli D. 2008. Discovering susceptibility genes for asthma and allergy. *Nature rev. Immunol.* 8:169-182.
- Verra, F. Luoni, G. Calissano, C. Blomberg, M.T. Perlmann, P. Arceà, B. Sirima, B.S. Konaté, A. Coluzzi, M. Kwiatkowski, D. et Modiano, D. 2004. IL-4 -589C/T polymorphism and IgE levels in severe malaria. *Acta Tropica.* 90: 205-209.
- Vidyardani, M. Selvaraj, P. Prabhu Anand, S. Jawahar, M.S. Adhilakshmi, A.R. et Narayanan, P.R. Interferon gamma (IFN- γ) and interleukin-4 (IL-4) gene variants and cytokine levels in pulmonary tuberculosis. *Indian. J. Med. Res.* 124: 403-410.
- Visentainer, J.E. Lieber, S.B. Persoli, L.B.L. Marques, S.B.D. Vigorito, A.C. Aranha, F.J.P. Eid K.A. Oliveira, G.B. Miranda, E.C.M. Bragotto, L. et Souza C.A. 2005. Relationship between cytokine gene polymorphisms and graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation in a Brazilian population. *Cytokine.* 32: 171-177.
- von Mutius E.2000. The environmental predictors of allergic disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* 105(1): 9-19.
- von Ohly V. 2006. L'hypothèse commune variante / maladie commune en utilisant l'exemple de l'allergie. Institut d'immunologie clinique et de médecine transfusionnelle. Université Justus Liebig Giessen. Francfort. Allemagne.
- Walley, A.J. et Cookson W.O.C.M. 1996, Investigation of an interleukin-4 promoter polymorphism for association with asthma and atopy. *J. Med. Genet.* 33: 689-692.
- Wang, Q. Zhang, C. Walayat, S. Chen, H.W. Wang Y. 2011. Association between cytokine gene polymorphisms and cervical cancer in a Chinese population. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 158: 330-333.
- Wang, D. Zhong, X. Huang, D. Chen, R. Bai, G. Li, Q. Yu, B. Fan, Y. and Sun, X. 2014. Functional polymorphisms of interferon-gamma affect pneumonia induced sepsis. *PLOS ONE.* 9(1): e87049.
- Wastowski, I.J. Sampaio-Barros, P.D. Martelli-Palomino, G. Marques-Neto, J.F Crispim, J.C.O. Rassi, D.M. et Donadi, E.A. 2009. Association of Interferon-gamma gene polymorphism (+874T/A) with systemic sclerosis. *Dis. Markers.* 27: 93-95.
- Wechsler, M.E. Grasemann, H. Deykin, A. Silverman, E.K. Yandava, C.N. Israel, E. Wand, M. et Drazen J.M. 2000. Exhaled nitric oxide in patients with asthma. Association with nos1 genotype. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 162:2043-2047.
- Wen, D. Liu, J. Du, X. Dong. J.Z. et Ma C.S. 2014. Association of interleukin- 18 (-137G/C) polymorphism with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus: a meta analysis. *Inter. Rev. Immunol.* 33: 34-44.
- Wenzel, S. 2003. Mechanisms of severe asthma. *Clin. Exp. Allergy.* 33: 1622-1628.

- Weiss, K.B. et Wagener D.K. 1990. Changing patterns of asthma mortality : identifying target populations at high risk. *JAMA*. 264: 1683-1687.
- Wiesch, D.G. Meyers, D.A. et Bleecker, E.R. 1990. Genetics of asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 104(5):895-901.
- Wild, J.S. Sigounas, A. Sur, N. Siddiqui, M.S. Alam, R. et Kurimoto, M. 2000 IFN-gamma-inducing factor (IL-18) increases allergic sensitization, serum IgE, Th2 cytokines, and airway eosinophilia in a mouse model of allergic asthma. *J. Immunol.* 164:2701–10.
- William, W. Busse, M.D. Robert, F. et Lemanske Jr. 2001. Asthma. *N. Eng. J. Med.* 344: 350-362.
- Wjst, M. et Wichmann H.E. 1995. Collaborative study on the genetics of asthma in Germany. *Clin. Exp. Allergy*. 25(suppl 2):23-25.
- Wjst, M. Fischer, G. Immervoll, T. Jung, M. Saar, K. Rueschendorf, F. Reis, A. Ulbrecht, M. Gomolka, M. Weiss, E.H. Jaeger, L. Nickel, R. Richter, K. Kjellman, N.I. Griese, M. von Berg, A. Gappa, M., Riedel, F. Boehle, M. van Koningsbruggen, S. Schoberth, P. Szczepanski, R. Dorsch, W. Silbermann, M. et Wichmann H.E. 1999. A genome-wide search for linkage to asthma. German Asthma Genetics Group. *Genomics*. 58:1-8.
- Wong, M.Y. Day, N.E. Luan, J.A. et Wareham N.J. 2004. Estimation of magnitude in gene-environment interactions in the presence of measurement error. *Stat. Med.* 23:987-998.
- World Health Organization. 1975 Epidemiology of chronic non-specific respiratory diseases. *Bull WHO*. 52 (25): 1-9.
- Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema. 1998. ISAAC. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. *Lancet*. 351 : 1225-32.
- Wu, S.F. Chang, J.S. Wan, C.L. Tsai, C.H. et Tsai, F.J. 2005. Association of IL-1Ra gene polymorphism, but not association of IL- β and IL-4 gene polymorphisms, with Kawasaki disease. *J. Clin. Lab. Analysis*. 19: 99-102.
- Wu, H. I. Romieu, H.I. Sienra-Monge, H. Li, H. del Rio-Navarro, B.E. et London S.J. 2009. Genetic variation in ORM1-like 3 (ORMDL3) and gasdermin-like (GSDML) and childhood asthma. *Allergy*. 64: 629–35.
- Wu, H. Romieu, I. Shi, M. Hancock, D.B. Li, H. Sienra-Monge, J.J. Chiu, G.Y. Xu, H. del Rio-Navarro, B.E. et London S.J. 2010. Evaluation of candidate genes in a genome-wide association study of childhood asthma in Mexicans. *J. Allergy Clin. Immunol.* 125: 321–7 e13.
- Wu, S.Q. Liang, W. Wang, G.L. Li, L.Y. Wang, D.L. et Chen C. 2012. Polymorphisms of the IL-18 promoter and bronchial asthma. *Mol. Med. Rep.* 6:1385-1388.

- Wu, Y. Wu, Z. Peng, Q. Ma, L. Zhang, X. Zhao, J. Qin, X. et Li, S. 2014. Role of IL-14 polymorphism in HBV-related hepatocellular carcinoma in a chinese population. *Ploze One*. 9(10): 110061-11070.
- Wuthrich, B. 1996. Epidemiology and natural history of asthma. *Allergy Clin. Immunol. Inter*. 8: 77-82.
- Xu, Q. Tin, S.K. Paramalingam, S.S. Thumboo, J. Koh, D.R. et Fong K.Y. 2007. Interleukin-18 promoter gene olymorphisms in Chinese patients with systemic lupus erythematosus: association with CC genotype at position -607. *Annals Academemy Med*. 36: 91-96.
- Xu, I. Li, W. Fu, H. et Jiang, G. 2014. Interferon-Gamma gene polymorphism (+874 A/T) in chinese children with Henoch-Schönlein purpura. *Iran. J. Allergy Asthma Immunol*. 13(3): 184-189.
- Yang, Y. et Liu, H. 2015. Association between interleukin-18 gene promoter (-607C/A and -137G/C) polymorphisms and chronic hepatitis C virus infection: A meta analysis. *Meta gene*. 5: 21-31.
- Yao, Y. Li, J. Jin, Y. He, L. Chang, W. Chen, Y. Ding, L. Lu, W. et Li, C. 2015. Association between Fc ϵ RI β and IFN- γ polymorphisms and asthma in asian population: a meta analysis. *Iran. J. Allergy Asthma Immunol*. 14(1): 1-11.
- Yokouchi, Y. Nukaga, Y. Shibasaki, M. Noguchi, E. Kimura, K. Ito, S Nishihara, M. Yamakawa-Kobayashi, K. Takeda, K. Imoto, N. Ichikawa, K. Matsui, A. Hamaguchi, H. et Arinami T. 2000. Significant evidence for linkage of mite-sensitive childhood asthma to chromosome 5q31-q33 near the interleukin 12 B locus by a genome-wide search in Japanese families. *Genomics*. 66:152-160.
- Yoshizawa, X. Nomaguchi, H. izaki, S. Kitamura, K. 2002. Serum cytokine levels in atopic dermatitis. *Clin. Exp. Dermatol*. 27: 225-229.
- Young, R.P. Sharp, P.A. Lynch, J.R. Faux, J.A. Lathrop, G.M. Cookson, W.O. et Hopkin J.M. 1992. Confirmation of genetic linkage between atopic IgE responses and chromosome 11q13. *J. Med. Genet*. 29:236-238.
- Yung-Chang, S. 2006. Immune regulation in mouse models of allergic asthma. Faculté de medecine. Université de Nouvelle Galles du Sud, Australie.
- Zaegel, R. Saxe ,N. et Blamoutier . 1990. Allergie aux moisissures. Semaine des hôpitaux de paris. 66 :2205-2208.
- Zeiger, R.S. et Heller S. 1995. The development and production of atopy in high-risk children: follow up at seven years in a prospective randomized study of combined maternal and infant food allergen avoidance. *J. Allergy Clin. Immunol* . 95: 1179-1190.

- Zhang, J. Hu, W. Wei, F. Wu, G. Korn, L.R. et Chapman R.S. 2002. Children's respiratory morbidity prevalence in relation to air pollution in four Chinese cities. *Environ. Health. Perspect.* 110:961-967.
- Zhang, N. Yu, J.T. Yu, N.N. Lu, R.C. Ma, T. Wang, N.D. Miao, D. Song, J.H. et Tan, L. 2010. Interleukin-18 promoter polymorphisms and risk of ischemic stroke. *Brain Res. Bull.* 81, 590-594.
- Zhu, S. Chan-Yeung, M. Becker, A.B. Dimich-Ward, H. Ferguson, A.C. Manfreda, J. Watson, W.T.A. Paré, D. et Sandford, A.J. 2000. Polymorphisms of the IL-4, TNF- α and Fc ϵ RI β genes and the risk of allergic disorders in at-risk infants. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 161: 1655-1659.
- Ziani, M et Baba Hamed M.B. the impact of two promoter polymorphisms -590 C/T of the IL-4 gene and -1112C/T of the IL-13 gene on asthma in the Algerian population. *SYLWAN.* 160 (11): 358-370.
- Zidi, S. Benothmen, Y. Sghaier, I. Ghazoueni, E. Mezlini, A. Slimen, B. et Yacoubi-Loueslati B. 2014. Association of IL-10 -1082 and IFN- γ polymorphisms with cervical cancer among Tunisian population. *ISRN Genet.* 2014: 7065-6.
- Zureik, M. Neukirch, C. Leynaert, B. Liard, R. Bousquet, J. et Neukirch F. 2002. Sensitisation to airborne moulds and severity of asthma: cross sectional study from European Community respiratory health survey. *Bmj.* 325: 411-414

ANNEXES

Annexe 1 : Publications



Merit Research Journal of Medicine and Medical Sciences (ISSN: 2354-323X) Vol. 4(6) pp. 317-322, June, 2016
 Available online <http://www.meritresearchjournals.org/mms/index.htm>
 Copyright © 2016 Merit Research Journals

Original Research Article

Association study between-137 G/C IL-18 polymorphism and asthma in a sample of Algerian population

Khadidja Attab^{1*}, Mohamed Bey Baba Hamed¹ and Sidahmed Chawki Lamara¹

Abstract

Department of Biotechnology, Faculty of Sciences of Nature and Life, Oran1 – Ahmed Ben Bella University, Oran, Algeria

*Corresponding Author's Email: attabkhadidja@gmail.com

Like other allergic diseases, asthma results from multiple conditions. Its susceptibility and severity are mediated by both environmental and genetic factors. In asthma studies, the important work is realization of the genetic background and identification of genetic factors resulting in asthma development and phenomena. Here, we investigated whether the single nucleotide polymorphism IL-18 (-137G/C) is associated with asthma in Algerian population. IL-18 (-137G/C) SNP was detected by polymerase chain reaction with sequence specific primers analysis (PCR-SSP) in 170 patients with asthma and 170 normal controls. Our results showed a significant difference in the genotype distribution of IL-18 SNP between asthma patients and controls ($\chi^2 = 10.80$, $P = 0.005$). The Allelic frequency of the G allele was significantly higher in the asthma group compared to the controls ($\chi^2 = 10.468$, $P = 0.001$, OR = 1.694, 95% CI (1.230-2.335). The results revealed that there is a possible association of IL-18 (-137G/C) with asthma in the studied population. This polymorphism can be considered as a marker of susceptibility to asthma. More studies in larger populations are needed to confirm our results.

Key words: Algerian population, Asthma, Cytokines, Polymorphism, IL-18 (-137 G/C)

INTRODUCTION

Asthma is a multifactorial respiratory disease caused by a interaction of multiple susceptibility genetic and environmental factors, which is associated with Th2 and Th1 cytokines (Ma et al., 2012).

Whole-genome scan analyses have revealed that SNP in chromosomal regions 11p15, 11q13, 11q12-13 (Daniels et al., 1996) and 11q22 (Koppelman et al., 2002) are possibly linked to asthma and atopy (Liang et al., 2005). Besides, interleukin 18 (IL-18), located on chromosome 11q22, 2-22.3, it regulates the Th1/Th2 balance, and it is considered as a candidate asthma susceptibility gene (Lachheb et al., 2007). IL-18 is a pro-inflammatory cytokine that is produced by a wide range of cells such as monocytes, macrophages and dendritic

cells (Sivalingam et al., 2003). IL-18 is a member of the IL-1 family that was originally described as IFN- γ -inducing factor; it is generally considered to be involved in the T-helper type 1 mediated immune response and it inhibits IgE synthesis, usually by acting synergistically with IL-12. IL-18 is essential for the host's defense against bacteria, fungi, protozoa and viruses through the induction of host-derived IFN- γ . On the other hand, IL-18 might also initiate Th2 responses with production of IgE via the stimulation of IL-4 and IL-13 synthesis in mast cells and basophils under certain conditions, as measured by Th2 cytokine production (Kim et al., 2007). Being involved in the pro-inflammatory cytokine network, IL-18 could have an important role in the development of inflammatory

diseases including asthma. The involvement of this cytokine in atopic disorders was supported by clinical and epidemiological observations of increased circulating IL-18 levels in the serum of patients during acute phase of asthma (Giedraitis et al., 2001). It has been also suggested that IL-18 may play a potential role to activate immunologic responses and may reflect disease activity in mild and moderate asthma exacerbation (Mahajan and Mehta, 2006).

IL-18 gene promoter polymorphism genotypes have been associated with variable levels of IL-18 mRNA production and thus IFN- γ production (Stassen et al., 2003). The search for nucleotide variations in the promoter region of the gene, able to affect IL-18 synthesis and IFN- γ production, resulted in the discovery of several new polymorphisms. One of them is (-137G>C) transversion, which modifies a transcription binding site influencing the quantity of transcribed mRNA (Boniotto et al., 2005). This SNP has been shown to be associated with asthma in several populations (Liang et al., 2005; Arimitsu et al., 2006; Novak et al., 2005), but no previous study has reported the association between this polymorphism and asthma in Algeria. Because of that, the aim of this work was to study the status IL-18 (-137G>C) polymorphism and its potential association with asthma in Algerian population.

SUBJECTS AND METHODS

Subjects

A total of 170 diagnosed asthmatic patients (68 males and 102 females) and a total of 170 control subjects (108 males and 62 females) were included in this study. All subjects were chosen from those visiting CHUO hospital in western Algeria.

The asthmatic subjects are patients who suffer from cough, wheezing and shortness of breath, and they are visiting the emergency unit for nebulization with typical symptoms of asthma. The controls are healthy subjects who don't have any history of asthma and do not suffer from any chronic disease and did not have any allergic disease. Written informed consent was obtained from all participating subjects.

Blood collection

5 milliliters of peripheral blood samples were collected by specialized nurses in the hospital and stored at -20°C until DNA extraction.

Genomic DNA extraction

The genomic DNA from the blood subjects was extracted

using a genomic DNA extraction kits (StratageneInc, Canada) as per manufacturer procedure. The quality of the extracted DNA was verified by running on 1.5% agarose gel and detected by standard ethidium bromide staining. The DNA samples were then stored at 4 °C until needed.

Genotyping

The IL-18 (-137G>C) genotyping was performed using polymerase chain reaction with specific primers (PCR-SSP) assay, which uses identical amplification and detection conditions, enabling rapid and cost-efficient analysis of polymorphisms (Bagheri et al., 2006). This technique utilizes sequence specific primers with 3'-end mismatches and identifies the presence of specific allelic variants through the PCR amplifications (Janssen et al., 2004). a common reverse primer, 5'-AGG AGG GCA AAA TGC ACT GG-3', and two sequence-specific forward primers, 5'-CCC CAA CTT TTA CGG AAG AAA AG-3' and 5'-CCC CAA CTT TTA

CGG AAG AAA AAC-3' were used to amplify a 261 bp PCR product. A control forward primer, 5'-CCA ATAGGA CTG ATT ATT CCG CA-3', was used to amplify a 446 bp fragment covering the polymorphic site as an internal positive amplification control (Boraska et al., 2006). All PCR reactions were performed in a total volume of 25 μ l, containing 2 μ l genomic DNA, 2.5 μ l of 10X Taq polymerase buffer, 2U of taq polymerase, 200 μ M of dNTPs, 0.25 μ M of the control forward primer and each sequence specific primer and 0.5 μ M of common reverse primer. PCR reactions were performed in thermocycler (Eppendorf, Germany) according to the following cycling conditions:

2 min at 94 °C, followed by five cycles for 20 s at 94 °C, 1 min at 68 °C and 25 cycles of 20 s at 94 °C, 40 s at 62 °C, 40 s at 72 °C and a final elongation at 72 °C for 5 min. All PCR products were separated in 1.5 % agarose gels stained with ethidium bromide. Gels were visualized under UV transillumination.

Statistical analysis

Data were analyzed with SPSS 21.0 software. All genotype frequencies were tested for the Hardy-Weinberg equilibrium the fit to the equilibrium was tested by calculating the χ^2 test. Comparison of allelic frequencies and genotypes among groups, and association of this polymorphism with asthma were examined for statistical significance with Chi square (χ^2) test. The quantification of the relative risk, the odds ratio (OR) and the confidence interval (CI) were calculated at the 95% level. Statistical significance was assumed for *P* values less than 0.05

Table 1. Baseline characteristics of all the subjects.

Parameters	Case (n=170) N(%)	control (n=170) N(%)	P-value
Gender, M/F	68/102 (40/60)	108/62 (64/36)	NS
Age Parental	45.35±14.326 45 (26)	35.62±12.033 28 (16)	P<0.05
consanguinity			
Personnal history	144 (85)	46 (27)	P<0.05
Professional	65 (38)	31 (18)	P<0.0001
Pollution			
Air pollution	107 (63)	25 (15)	P<0.0001
Professional pollution	108 (64)	47 (28)	P<0.0001
Humidity	129 (76)	90 (53)	P<0.0001
Tobacco smoke	41 (24)	78 (46)	P<0.0001
Passive smoke	54 (32)	94 (55)	P<0.0001
Urban / Rural	151/19 (89/11)	146/24 (86/14)	NS
Environment Presence	40 (24)	22 (13)	P<0.01
Animals at home			
Parental history asthma	70 (41)	35 (21)	P<0.0001

Table 2. The genotype and allele frequencies of IL-18 (-137G>C) polymorphism in asthma patients and healthy controls

polymorphism	Controls N=170 (%)	Asthma Patients N= 170 (%)	χ^2	P value	OR (95% CI)
Genotype					
GG	59 (35%)	87 (51%)	10.80	0.005	
GC	86 (50%)	70 (41%)			
CC	25 (15%)	13 (8%)			
Allele					
G	204 (60%)	244 (72%)	10.468	0.001	1.694 (1.230-2.335)
C	136 (40%)	96 (28%)			

RESULTS

Baseline characteristics

Patients and healthy controls characteristics are shown in Table 1. The mean age of patients was 45.35±1.099 Versus 35.62±0.923 in the control group, and it was statistically different between the two groups ($p<0.005$). There was no statistical difference between asthma patients and controls in term of gender and the environment (rural or urban) factors. However there was a significant difference with respect to the other characteristics.

Detection of the IL-18 (-137 G>C) polymorphism

Genotype and allele frequencies for IL-18 (-137G>C) polymorphism are summarized in table 2. The genotype

frequencies were in agreement with the Hardy-Weinberg equilibrium.

The frequencies of the three genotypes among control subjects were as follows: GG in 59 patients (35%), GC in 86 patients (50%) and CC in 25 patients (15%).

Whereas the frequencies among asthma patients were: GG in 87 subjects (51%), GC in 70 subjects (41%) and CC in 13 subjects (8%).

Genotypes frequencies distribution was significantly different in asthma patients and controls ($\chi^2 = 10.80$, $P = 0.005$). The homozygous genotype GG was significantly higher in asthmatic patients compared to the control group. Carriers of the G allele were significantly more frequent in asthmatic group than in controls ($\chi^2 = 10.468$, $P = 0.001$). We can suggest that the asthma patients carrying the -137 G allele exhibited an increased risk of developing asthma than controls (OR = 1.694, 95% CI

(1.230 -2.335))(table 2).

DISCUSSION

In the current study we investigated the association of one promoter SNP of the IL-18, which is -137G/C with asthma in Algerien population.

IL-18 is a proinflammatory cytokine that have a promoting or inhibitory effect on the pathogenesis of asthma (Okamura et al., 1995; Dinarello, 1999). IL-18 acts synergistically with IL-12 to promote immune responses of the Th1 cell to produce IFN- γ and to inhibit IgE production (Kim et al., 2007). However, in the absence of IL-12, IL-18 can induce IL-4, IL-13, and histamine release by basophils and mast cells, Th2 differentiation by T cells, and IL-4 production by NK cells and NKT cells (Yoshimoto et al., 1999; Yoshimoto et al., 2000). It was also shown that IL-18 causes Th1 cells to produce IL-13, eotaxin, GM-CSF, and RANTES, which led to eosinophilic inflammation and bronchial hyper-reactivity in a mouse (Sugimoto et al., 2004). It has been suggested that IL-18 may play an important role in the pathophysiology of patients with asthma. Higher serum levels of IL-18 have been previously identified in asthmatic subjects in comparison to healthy control subjects (Giedraitis et al., 2001; Wong et al., 2001). IL-18 gene maps to the chromosomal region 11q22.2-q22.3 in a region suggested in many studies to be associated with allergic diseases (Koppelman et al., 2002; Ober and Moffatt, 2000). The promoter region of IL-18 gene contains multiple transcription initiation sites. It was reported that IL-18 gene promoter polymorphisms could influence IL-18 mRNA expression and thus affect its serum levels (Giedraitis et al., 2001; Wong et al., 2001; Wen et al., 2014). Position -137 of IL-18 gene promoter fall within a potential histone H4 gene transcription factor 1 (H4TF-1) binding site, with the C allele possibly demolishing the binding site of H4TF-1, as the resulting sequence is similar to a binding site for unknown found in the granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) promoter (Takada et al., 2002). The functional consequence of the resulting -137 allele is a dramatic repression of the IL-18 promoter, as well as activation of immune cells and inflammatory response (Giedraitis et al., 2001; Wen et al., 2014). IL-18 (-137G/C) polymorphism has been reported to contribute to a variety of inflammatory diseases including asthma, however, conflicting results have been observed in various populations. Indeed, Berbian et al studied the association of IL-18 (-137G/C) polymorphism with asthma in Indian population, the authors found a significant association of this polymorphism with asthma in the studied population (Birbian et al., 2013). Additionally, in a German study, a population suffering from atopic eczema was genotyped for IL-18 _137G/C promoter 1 polymorphism

revealing significant association, with the highest allelic frequency in patients with intrinsic and non-atopic eczema, especially in patients with low serum IgE levels (Novak et al., 2005). In the same population, the SNPs in exon 1 (+133T/G and +127C/T), promoter 1 (-137G/C) and in promoter 2 (_133C/G), showed significant associations with high IgE levels ($p < 0.005$) conferring increased risk towards allergic rhinitis (Kruse et al., 2003). Also in a Japanese population, IL-18- 137G/C was positively associated with asthma and it was inferred that there was genetic tendency to produce higher levels of IL-18 cytokine by monocytes with _137G/C genotype, which may contribute to the development of asthma and allergic phenotypes (Arimitsu et al., 2006). The association between _137G/C polymorphism has also been confirmed with atopic asthma in a Swiss study (Imboden et al., 2006b).

On the contrary, some studies report no association of the -137 G/C polymorphism with asthma, as in a Jordanian (Attab et al., 2008), German [30], and Singaporean Chinese Malays populations (Liang et al., 2005). Further, a meta-analysis conducted in the people republic of china on five studies including 1883 cases and 6645 controls reported no significant association between asthma risk and the -137G/C polymorphism (Ma et al., 2012).

In the present study a comparison of the genotype frequencies of the -137 G/C polymorphism between patients with asthma and controls reveals a significant differences ($\chi^2 = 10.80$, $P = 0.005$), moreover allelic frequency of the C allele was significantly higher in asthmatic group ($\chi^2 = 10.468$, $P = 0.001$). our finding are in concordance with observations by Novak et al, which revealed a significant association of this SNP with atopic eczema in a German population ($p < 0.001$, OR= 4.2824, 95% CI (1.2413-14.7716) (Novak et al., 2005), similarly Pawlik et al showed a significant association of -137 C allele with the mild and moderate asthma in a Polish population ($p = 0.006$) (Pawlik et al., 2007). Kruse et al investigated the relationship between IL-18 (-137G>C) polymorphism and specific sensitization to common allergens and allergic rhinitis, the authors observed a significant association of this polymorphism and IgE levels and specific sensitization ($p < 0.005$) (Kruse et al., 2003).

CONCLUSION

Our results suggest that the C allele might be a risk factor for asthma in this population. However, since our sample size was relatively small, association or linkage study in larger sample size is needed to confirm the obtained results. Also, future studies should include the relatives of asthma patients to be certain the association between this SNP and the disease. Moreover, it may be interesting to investigate the implication of other polymorphisms in IL-18 gene that are in linkage disequilibrium with the IL-

18 (-137G/C) polymorphism and that might be responsible for the noted association.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors are grateful to the precious help of Mr Berrabah Y, Professor and headmaster of Pneumology service at the University Hospital of Oran (CHUO) and his assistant- Dr Oujidi, without their scientific help, this work would be incomplete.

Conflict of Interest

The author(s) declare(s) that there is no conflict of interest regarding the publication of this article

REFERENCES

- Arimitsu J, Hirano T, Higa S, Kawai M, Naka T, Ogata A, Shima Y, Fujimoto M, Yamadori T, Hagiwara K, Ohgawara T, Kuwabara Y, Kawase I, Tanaka T. (2006). IL-18 gene polymorphisms affect IL-18 production capability by monocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 342: 1413-1416.
- Attab K, Al-Quaoud K, Al-Bataineh K, Ajlouni M. (2008). Association of SNP in the IL-4, IL-18 and eotaxin genes with asthma in a Jordanian population. *Inter. J. Integrative Biol.* 4 (2): 86-91.
- Bagheri M, Abdi-Rad I, Omrani D, Khalkhali H R. (2006). Heterogeneity of cytokine single-nucleotide polymorphisms among the Iranian and the other East-South Asian populations. *Transfusion Med.* 16: 192-199.
- Birblian N, Singh J, Jindal SK. (2013). Protective role of IL-18 -137 G/C polymorphism in a north Indian population with asthma: a pilot study. *Cytokine*. 61:188- 193.
- Boniotto M, Segat L, Milanesi M, Crovella S. (2005). Detection of two functional polymorphisms in the promoter region of the IL-18 gene by single-tube allele specific PCR and melting temperature analysis. *J. Immunol. Methods*. 304: 184-188.
- Boraska V, Terzić J, Škrabić V, Čačev T, Bučević-Popović V, Peruzović M, Markotić A, Zemunik T. (2006). NeuroD1 gene and interleukin-18 gene polymorphisms in type 1 diabetes in Dalmatian population in Southern Croatia. *Croat. Med. J.* 47: 571-578.
- Daniels SE, Bhattacharya S, James A, Leaves NI, Young A, Hill MR, Faux JA et al. (1996) A genome wide search for quantitative trait loci underlying asthma. *Nature*, 383 :247.
- Dinarello CA. (1999). IL-18: a TH1-inducing, proinflammatory cytokine and new member of the IL-1 family. *J. Allergy Clin. Immunol.* 103: 11-24.
- Giedraitis V, He B, Huang WX, Hillert J. (2001). Cloning and mutation analysis of the human IL-18 promoter: a possible role of polymorphisms in expression regulation. *J.*
- Heinzmann A, Gerhold K, Ganter K, Kurz T, Schuchmann L, Keitzer R, Berner R, Deichmann KA. (2004). Association study of polymorphisms within interleukin-18 in juvenile idiopathic arthritis and bronchial asthma. *Allergy*. 59:845-849.
- Heinzmann A, Gerhold K, Ganter K, Kurz T, Schuchmann L, Keitzer R, Berner R, Deichmann KA. (2004). Association study of polymorphisms within interleukin-18 in juvenile idiopathic arthritis and bronchial asthma. *Allergy*. 59:845-849.
- Imboden M, Nieters A, Bircher AJ, Brutsche M, Becher N, Wjst M, Ackermann-Librich U, Berger W, Probst-Hensch NM, and Sapidia team. 2006b. Cytokine gene polymorphisms and atopic disease in two European cohorts. (ECRHS-Basel and Sapidia). *Clin. Molec. Allergy* 4:1-9.
- Janssen R, Grutters JC, Ruwen HJT, Zsnen P, Sato H, Welsh KI, Du Bois RM Van Den Bosch JMM. (2004). No association between interleukin-18 gene polymorphisms and haplotypes in Dutch sarcoidosis patients. *Tissue Antigens*. 63: 578-583.
- Kim E, Lee JE, Namkung JH, Parl JH, Kim S, Shin ES, Cho E Y, Yang JM, (2007). Association of the single-nucleotide polymorphism and haplotype of the interleukin 18 gene with atopic dermatitis in Koreans. *Clin. Exp. Allergy*. 37: 865-871.
- Koppelman GH, Stine OC, Xu J, Howard TD, Zheng SL, Kauffman HF, Bleecker ER, Meyers DA, Postma DS. (2002) Genome-wide search for atopy susceptibility genes in Dutch families with asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 109: 498.
- Kruse S, Kuehr J, Moseler M, Kopp MV, Kurz T, Deichmann KA, Foster PS, Mattes J. (2003). Polymorphisms in the IL18 gene are associated with specific sensitization to common allergens and allergic rhinitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 111(1):117-122.
- Lachheb J, Chelbi H, Ammar J, Hamzaoui K, Hamzaoui A. (2007). Promoter polymorphism of the IL-18 gene is associated with atopic asthma in Tunisian children. *Inter. J. Immunog.* 35: 63-68.
- Liang XH, Cheung W, Heng CK, Wang DY. (2005). Reduced transcriptional activity in individuals with IL-18 gene variants detected from functional but not association study. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 338: 736-741.
- Ma Y, Zhang B, Tang RK, Liu Y, Peng RK. (2012). Interleukin-18 promoter polymorphism and asthma risk: a meta analysis. *Mol. Biol. Rep.* 39: 1371-1376.
- Mahajan S, Mehta AA. (2006). Role of cytokines in pathophysiology of asthma. *Iran. J. Pharmacol.* 5:1-14.
- Neuroimmunol. 112: 146-152
- Novak N, Kruse S, Potreck J, Maintz L, Jenneck C, Weidinger S, Fimmers R, Bleber T. (2005). Single nucleotide polymorphisms of the IL18 gene are associated with atopic eczema. *J. Allergy Clin. Immunol.* 115(4): 828-833.
- Ober C, Moffatt ML. (2000). Contributing factors to the pathophysiology. The genetics of asthma. *Clin. Chest. Med.* 21: 245-261.
- Okamura H, Tsutsui H, Komatsu T, Yutsudo M, Hakura A, Tanimoto T, Torigoe K, Okura T, Nakada Y, Konishi K, Fukuda S, Kurimoto T. (1995). Cloning of a new cytokine that induces INF- γ production by T cells. *Nature*. 378:88-91.
- Pawlik A, Kaminski M, Kusnierczyk P, Kurzawski M, Dziedzicjo V, Adamska M, Safranow K, Gawronska-Szklarz B. (2007). Interleukin-18 promoter polymorphism in patients with atopic asthma. *Tissue antigens*. 70:314-318.
- Sivalingam SP, Yoon KH, Koh DR, Fong KY. (2003) Single-nucleotide polymorphisms of the interleukin-18 gene promoter region in rheumatoid arthritis patients: protective effect of AA genotype. *Tissue antigens*, 62: 498-504.
- Stassen NA, Brett CM, Norfleet LA, Polk HC. (2003). IL-18 promoter polymorphisms correlate with the development of post-injury sepsis. *Surgery*. 134:351-356.
- Sugimoto T, Ishikawa Y, Yoshimoto T, Hayashi N, Fujimoto J, Nakanishi K. (2004). Interleukin 18 acts on memory T helper cells type 1 to induce airway inflammation and hyper-responsiveness in a naive host mouse. *J. Exp. Med.* 199: 535- 545.
- Takada T, Suzuki E, Morohashi K, Gejyo F. (2002). Association of single nucleotide polymorphisms in the IL-18 gene with sarcoidosis. *Tissue Antigens*. 60: 36-42.
- Wen D, Liu J, Du X, Dong JZ, Ma CS. (2014). Association of interleukin-18 (-137G/C) polymorphism with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus: a meta analysis. *Inter. Rev. Immunol.* 33: 34-44.
- Wong CK, Ho CY, Ko FW, Chan CH, Ho AS, et al. (2001). Proinflammatory cytokines (IL-17, IL-6, IL-18 and IL-12) and Th cytokines (IFN- γ , IL-4, IL-10 and IL-13) in patients with allergic asthma. *Clin. Exp. Immunol.* 125: 177-183.

322 Merit Res. J. Med. Med. Sci.

Yoshimoto T, Mizutani H, Tsutsui H, Noben-Trauth N, Yamanaka K, Tanaka M, Izumi S, Okamura H, Paul WE, Nakanishi K. (2000). IL-18 induction of IgE: dependence on CD4+ T cells, IL-4 and STAT6, *Nat. Immunol.* 1: 132–137.

Yoshimoto T, Tsutsui H, Tominaga K, Hoshino K, Okamura H, Akira S, Paul WE, Nakanishi K. (1999). IL-18, although antiallergic when administered with IL-12, stimulates IL-4 and histamine release by basophils, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96 : 13962–13966.

Annexe 2 : Questionnaire

Questionnaire

Date du jour :

1-Etat civil :

-Nom et Prénom :

-Date de naissance :

-Sexe :

-Profession :

-Adresse :

-Téléphone (facultatif) :

2- Facteurs de risques personnels :

-Antécédents personnels allergiques : Oui ☐ Non ☐

-Dermatite atopique : Oui ☐ Non ☐

-Bronchite répétitive et sifflante : Oui ☐ Non ☐

- Rhinite Allergique : Oui ☐ Non ☐

-Allergie médicamenteuse : Oui ☐ Non ☐

Si oui, quel médicament :

-Allergie alimentaire : Oui ☐ Non ☐

Si oui, quel aliment :

-Antécédents familiaux allergiques : Oui ☐ Non ☐

-Consanguinité Parental : Oui ☐ Non ☐

3- Facteurs de risques environnementaux :

-Environnement : Urbain ☐ rural ☐

- Pollution atmosphérique :

-Pollution domestique (par la poussière, blattes, moisissures...) :

-Pollution professionnelle (organique/chimique) :

-Humidité : Oui ☐ Non ☐

-Tabagisme : Oui ☐ Non ☐

-Tabagisme passif : Oui ☐ Non ☐

-Animaux à domicile : Oui ☐ Non ☐

-effort : Oui ☐ Non ☐

3- Symptômes:

-Age de début de manifestation des symptômes :

-les symptômes les plus fréquents :

-Difficulté respiratoire

-respiration sifflante

-toux

-Crachats

-autres symptômes :

-Le moment de manifestation des symptômes :

Le petit matin pendant la journée pendant la nuit

Le printemps l'hiver l'été l'automne

loisirs, scolarité ou travail perturbé

La fréquence de crises:

-Par jour :

-par semaine :

-par mois :

4-Exploration:

-Dosage des IgE spécifiques :

- Fonctionnels :

-Formule :

-Tests cutanés : Oui Non

Sensibilisations retenues : Oui Non

Si oui, contre quels allergènes :

5-Traitements:

-

-

-

-

-Durée :

- Efficacité du traitement :

-Très :

-moyenne :

-ça dépend :

Pas du tout :

Résultat :

Annexe 3 : Consentement du prélèvement sanguin

Consentement éclairé

Je soussigné (e) :

Nom :

Prénom :

Age :

Autorise des prélèvements de sang sur ma personne et des études scientifiques sur ce matériel.

Je désire connaître les résultats me concernant

Oui

☐

Non

☐

Je ne souhaite pas connaître les résultats

Oui

☐

Non

☐

Signature du patient

Signature du médecin

Signature du chercheur

Signature du chef du projet

Annexe 4 :

Extraction de l'ADN génomique :

1- TE 10/10, pH= 8

- EDTA 10 mM
- Tris-HCl 10mM.

2- TE 10/1, pH= 8

- Tris-HCl 10 mM
- EDTA 1 mM

3- Solution de lyse des globules blancs, pH= 8.

- Tris-HCl 10 mM
- EDTA 1 mM
- SDS 0,5%

2- Electrophorèse sur gel d'agarose

- **Préparation du gel d'agarose (0,8%)**

- Préparation du dispositif de coulage du gel d'agarose : Placer les joints fournis avec la cuve pour fermer le support de gel et positionner le peigne à 1 mm du fond et à environ 1 cm de l'extrémité du support.

- Mélanger, dans un Erlenmeyer, 0,8 g d'agarose à 100 ml de tampon TBE;

- Faire fondre l'agarose au four à micro-ondes (ou au bain marie) en surveillant pour éviter les projections. Agiter de temps à autre pour homogénéiser le mélange. Le gel doit devenir limpide et transparent ;

- Laisser refroidir jusqu'à ce qu'il devienne possible de saisir le flacon à main nue ;

- Ajouter 5 µl de BET concentré à 200 µg/ml au gel d'agarose et bien mélanger ;

- Couler lentement le gel sur 3 à 5 mm d'épaisseur, en évitant toute formation de bulles, chasser les éventuelles bulles avec un cône ;

- Laisser le gel polymérisé (15 à 30 minutes), enlever le peigne et les joints ;

- Le gel est prêt pour le dépôt des échantillons.

- **Dépôt des échantillons et condition de migration :**

- Placer le support avec le gel dans la cuve d'électrophorèse en positionnant les puits du côté de la cathode (pôle noir) ;

- Remplir la cuve de tampon TBE 1X pour qu'il recouvre légèrement le gel ;

- Pour le remplissage de chaque puits, mélanger 4 μL de colorant de charge avec 10 μL d'ADN sur un morceau de parafilm et prélever le mélange avec une micropipette réglée sur le volume approprié;
- Remplir les puits en faisant attention de ne pas toucher le fond du gel avec la pointe de la pipette. Le premier puits sera rempli par le marqueur de taille (**2 μL** + 4 μL de tampon de charge) ;
- Fermer la cuve, brancher les fils et mettre sous tension (100V).
- Laisser migrer jusqu'à ce que le colorant de charge arrive approximativement à la moitié du gel.

➤ **Tampon Tris Borate EDTA 10X (TBE 10X) pH=8, V= 1litre.**

- 109g Tris-HCl
- 5,5g acide borique
- 9,3g EDTA

➤ **Tampon Tris Borate EDTA 1X (TBE 1X), pH= 8, V= 1 litre.**

100ml de TBE10X + 900 ml d'H₂O distillée.

Annexe 5: Résultats du dosage par spectrophotométrie des ADN extraits à partir des asthmatiques.

Echantillons	DO à 260nm	DO à 280nm	R	Concentrations
A1	0.055	0.025	2,2	825
A2	0.029	0.019	1,55	435
A3	0.061	0.032	1,9	915
A4	0.072	0.045	1,6	1080
A5	0.086	0.039	2,2	1290
A6	0.093	0.045	2,1	1395
A7	0.070	0.03	2,1	1050
A8	0.048	0.029	1,65	720
A9	0.198	0.094	2,10	2970
A10	0.075	0.026	2,88	1125
A11	0.079	0.033	2,39	1185
A12	0.111	0.049	2,26	1665
A13	0.063	0.025	2,52	945
A14	0.045	0.016	2,81	675
A15	0.093	0.039	2,38	1395
A16	0.037	0.02	1,85	555
A17	0.085	0.035	2,42	1275
A18	0.06	0.025	2,4	900
A19	0.070	0.032	2,18	1050
A20	0.082	0.039	2,10	1230
A21	0.088	0.034	2,58	1320
A22	0.041	0.016	2,56	615
A23	0.093	0.032	2,9	1395
A24	0.066	0.025	2,64	990
A25	0.150	0.069	2,17	2250
A26	0.063	0.026	2,42	945
A27	0.088	0.045	1,95	1320
A28	0.075	0.033	2,2	1125
A29	0.135	0.06	2,25	2025
A30	0.065	0.021	3,09	975
A31	0.059	0.026	2,03	885
A32	0.034	0.015	2,26	510
A33	0.075	0.049	1,53	1125
A34	0.077	0.032	2,4	1155
A35	0.093	0.04	2,32	1395
A36	0.07	0.047	1,48	1050
A37	0.073	0.033	2,21	1095
A38	0.088	0.028	3,14	1320
A39	0.095	0.041	2,31	1425
A40	0.093	0.041	2,26	1395
A41	0.065	0.03	2,16	975
A42	0.054	0.027	2	810
A43	0.045	0.022	2,04	675
A44	0.092	0.054	1,7	1380
A45	0.101	0.049	2,06	1515
A46	0.088	0.065	1,35	1320

A47	0.067	0.036	1,86	1005
A48	0.057	0.025	2,28	855
A49	0.058	0.034	1,7	870
A50	0.063	0.040	1,57	945
A51	0.060	0.035	1.71	900
A52	0.045	0.020	2.25	675
A53	0.069	0.036	1,92	1035
A54	0.055	0.033	1,67	825
A55	0.090	0.042	2,14	1350
A56	0.092	0.049	1,88	1380
A57	0.069	0.045	1.53	1035
A58	0.096	0.053	1,81	1440
A59	0.098	0.041	2,24	1470
A60	0.078	0.034	2,29	1170
A61	0.092	0.040	2,3	1380
A62	0.111	0.051	2,17	1665
A63	0.075	0.028	2,67	1125
A64	0.085	0.036	2,36	1275
A65	0.093	0.044	2,11	1395
A66	0.068	0.032	2,12	1020
A67	0.101	0.055	1,84	1515
A68	0.066	0.023	2,86	990
A69	0.075	0.042	1.78	1125
A70	0.096	0.04	2,4	1440
A71	0.082	0.029	2,82	1230
A72	0.041	0.020	2,05	615
A73	0.093	0.032	2,9	1395
A74	0.069	0.028	2,46	1035
A75	0.142	0.075	1,89	2130
A76	0.089	0.033	2,70	1335
A77	0.092	0.045	2,04	1380
A78	0.123	0.046	2,67	1290
A79	0.132	0.072	1.83	1980
A80	0.210	0.102	2.05	3150
A81	0.059	0.021	2,80	885
A82	0.1034	0.075	1.38	1551
A83	0.095	0.049	1,93	1425
A84	0.077	0.038	2,02	1155
A85	0.123	0.057	2.15	1845
A86	0.07	0.041	1,71	1050
A87	0.097	0.033	2,94	1455
A88	0.088	0.039	2.25	1320
A89	0.111	0.081	1.37	1665
A90	0.095	0.045	2,11	1425
A91	0.082	0.038	2,10	1230
A92	0.074	0.037	1.96	1110
A93	0.085	0.032	2,66	1275
A94	0.192	0.081	2.37	2880
A95	0.105	0.044	2,38	1575
A96	0.088	0.059	1,49	1320

A97	0.069	0.031	2.22	1035
A98	0.093	0.045	2,06	1395
A99	0.150	0.084	1,78	2250
A100	0.084	0.040	2.1	1260
A101	0.122	0.095	1.28	1830
A102	0.079	0.039	2.02	1185
A103	0.061	0.029	2.10	915
A104	0.09	0.045	2	1053
A105	0.097	0.056	1.73	1455
A106	0.093	0.042	2,21	1395
A107	0.085	0.039	2,17	1275
A108	0.055	0.025	2.2	825
A109	0.118	0.084	1.40	1770
A110	0.075	0.031	2,41	1125
A111	0.102	0.043	2,37	1530
A112	0.096	0.049	1.95	1440
A113	0.075	0.035	2,14	1125
A114	0.145	0.086	1,68	2175
A115	0.083	0.036	2,30	1245
A116	0.086	0.042	2.04	1290
A117	0.095	0.065	1,46	1425
A118	0.079	0.045	1.66	1185
A119	0.068	0.041	1.65	1020
A120	0.086	0.059	1.45	1290
A121	0.088	0.043	2,04	1320
A122	0.045	0.022	2,04	675
A123	0.108	0.072	1.5	1620
A124	0.066	0.036	1.83	990
A125	0.102	0.069	1.48	1530
A126	0.087	0.036	2,42	1305
A127	0.081	0.044	1,84	1215
A128	0.093	0.046	2,02	1395
A129	0.135	0.081	1.66	2025
A130	0.091	0.060	1.51	1365
A131	0.078	0.036	2,16	1170
A132	0.089	0.041	2,11	1335
A133	0.085	0.049	1,12	1275
A134	0.077	0.035	2,2	1155
A135	0.062	0.04	1.55	930
A136	0.09	0.032	2.81	1350
A137	0.085	0.033	2,57	1320
A138	0.088	0.028	3,14	1320
A139	0.056	0.031	1.81	840
A140	0.065	0.041	1.58	975
A141	0.088	0.045	1.95	1320
A142	0.056	0.037	1.51	840
A143	0.045	0.025	1.8	675
A144	0.075	0.054	1,38	1125
A145	0.120	0.089	1.35	1800
A146	0.081	0.065	1,26	1215

A147	0.070	0.031	2.25	1050
A148	0.076	0.045	1.68	1140
A149	0.098	0.054	2.43	1470
A150	0.073	0.030	1,57	1095
A151	0.113	0.076	1.49	1695
A152	0.185	0.085	2.18	2775
A153	0.091	0.073	1.25	1365
A154	0.077	0.028	2,75	1155
A155	0.146	0.103	1.42	2190
A156	0.065	0.039	1,67	975
A157	0.093	0.053	1.75	1395
A158	0.088	0.056	1.57	1320
A159	0.097	0.046	2,10	1455
A160	0.093	0.035	2,65	1395
A161	0.112	0.09	1.24	1680
A162	0.073	0.027	2.7	1095
A163	0.045	0.019	2,36	675
A164	0.136	0.084	1,61	2040
A165	0.101	0.06	1.68	1515
A166	0.096	0.065	1,45	1440
A167	0.142	0.076	1,86	2130
A168	0.088	0.045	1.95	1320
A169	0.123	0.084	1,46	1845
A170	0.093	0.040	2.32	1395
A171	0.188	0.092	2.04	2820
A172	0,095	0,049	1.93	1425
A173	0,125	0,078	1.60	1875
A174	0.201	0.132	1.52	3015
A175	0.136	0.082	1.65	2040
A176	0.196	0.097	2.02	2940

Annexe 6: Résultats du dosage par spectrophotométrie des ADN extraits à partir des témoins.

Echantillons	DO à 260nm	DO à 280nm	R	Concentrations
T1	0.085	0.050	1.7	1275
T2	0.061	0.027	2.4	915
T3	0.077	0.032	2.4	1155
T4	0.047	0.028	1.67	705
T5	0.049	0.031	1.58	735
T6	0.041	0.019	2.2	615
T7	0.035	0.020	1.75	525
T8	0.054	0.022	2.6	810
T9	0.030	0.013	2.5	450
T10	0.075	0.036	1.9	1125
T11	0.080	0.038	2.2	1200
T12	0.030	0.012	2.7	450
T13	0.055	0.023	2.4	815
T14	0.076	0.033	2.5	1140
T15	0.070	0.032	2.4	1050
T16	0.087	0.04	2.2	1305
T17	0.093	0.054	1.7	1395
T18	0.062	0.027	2.4	930
T19	0.055	0.025	2.2	825
T20	0.045	0.019	2.4	675
T21	0.065	0.028	2.3	975
T22	0.055	0.021	2.4	825
T23	0.061	0.029	2.1	915
T24	0.076	0.035	2.01	1140
T25	0.084	0.043	1.9	1260
T26	0.059	0.024	2.5	885
T27	0.083	0.038	2.2	1245
T28	0.079	0.037	2.1	1185
T29	0.101	0.055	1.9	1515
T30	0.065	0.022	2.95	975
T31	0.179	0.089	2.01	1685
T32	0.141	0.068	2.07	2115
T33	0.190	0.073	2.6	2850
T34	0.204	0.103	1.9	3060
T35	0.095	0.033	2.99	1425
T36	0.185	0.70	2.64	2775
T37	0.193	0.087	2.21	2895
T38	0.090	0.042	2.14	1350
T39	0.075	0.023	3.26	1125
T40	0.088	0.036	2.44	1320
T41	0.082	0.035	2.73	1200
T42	0.077	0.021	3.66	1155
T43	0.082	0.039	2.10	1230
T44	0.098	0.044	2.22	1470
T45	0.069	0.023	3	1035
T46	0.102	0.065	1.56	1530
T47	0.087	0.03	2.9	1305
T48	0.112	0.054	2.07	1680

T49	0.092	0.033	2.78	1380
T50	0.071	0.023	3.08	1065
T51	0.029	0.012	2.3	435
T52	0.075	0.045	1.66	1125
T53	0.096	0.062	1.54	1440
T54	0.057	0.023	2.47	855
T55	0.056	0.033	1.69	840
T56	0.045	0.022	2.04	675
T57	0.047	0.018	2.5	675
T58	0.098	0.035	2.8	1470
T59	0.077	0.054	1.42	1155
T60	0.079	0.04	1.97	1185
T61	0.09	0.052	1.73	1350
T62	0.065	0.023	2.82	975
T63	0.074	0.031	2.38	1110
T64	0.085	0.035	2.43	1275
T65	0.064	0.039	1.64	960
T66	0.102	0.082	1.24	1530
T67	0.193	0.085	12.27	2895
T68	0.094	0.035	2.68	1410
T69	0.130	0.075	1.73	1950
T70	0.048	0.022	2.18	720
T71	0.096	0.056	1.71	1440
T72	0.103	0.049	2.1	1545
T73	0.096	0.038	2.52	1440
T74	0.112	0.079	1.41	1680
T75	0.188	0.077	2.44	2820
T76	0.120	0.044	2.72	1800
T77	0.092	0.04	2.3	1380
T78	0.152	0.067	2.26	2280
T79	0.107	0.05	2.14	1125
T80	0.140	0.049	2.85	2100
T81	0.186	0.069	2.69	1970
T82	0.095	0.045	2.11	1425
T83	0.077	0.035	2.2	1155
T84	0.155	0.1	1.55	2325
T85	0.096	0.045	2.13	1440
T86	0.255	0.145	1.75	3825
T87	0.079	0.031	2.54	1185
T88	0.130	0.088	1.47	1950
T89	0.085	0.034	2.5	1275
T90	0.126	0.058	2.17	1890
T91	0.095	0.035	2.71	1425
T92	0.098	0.042	2.33	1470
T93	0.251	0.101	2.48	3765
T94	0.091	0.032	2.84	1365
T95	0.069	0.031	2.22	1035
T96	0.135	0.065	2.07	2025
T97	0.079	0.035	2.25	1185
T98	0.096	0.042	2.28	1440

T99	0.105	0.072	1.45	1575
T100	0.071	0.038	1.86	1065
T101	0.095	0.036	2.66	1425
T102	0.125	0.075	1.66	1875
T103	0.084	0.042	2	1260
T104	0.065	0.034	1.91	975
T105	0.197	0.071	2.77	2955
T106	0.093	0.034	2.73	1395
T107	0.072	0.032	2.25	1080
T108	0.205	0.11	1.86	3057
T109	0.146	0.085	1.72	2190
T110	0.097	0.036	2.69	1455
T111	0.080	0.029	3.2	1200
T112	0.097	0.032	3.03	1455
T113	0.075	0.034	2.2	1125
T114	0.156	0.073	2.13	2340
T115	0.285	0.111	2.56	4275
T116	0.093	0.048	1.93	1395
T117	0.104	0.074	1.40	1560
T118	0.095	0.055	1.73	1425
T119	0.201	0.115	1.47	3015
T120	0.145	0.072	2.01	2175
T121	0.091	0.036	2.53	1365
T122	0.122	0.066	1.84	1830
T123	0.106	0.059	1.8	1590
T124	0.123	0.052	2.36	1845
T125	0.084	0.041	2.04	1260
T126	0.063	0.029	2.17	945
T127	0.099	0.046	2.15	1485
T128	0.095	0.052	1.83	1425
T129	0.123	0.065	1.89	1840
T130	0.165	0.074	2.23	2475
T131	0.082	0.066	1.24	1230
T132	0.205	0.109	1.88	3075
T133	0.090	0.037	2.43	1350
T134	0.204	0.122	1.64	3060
T135	0.095	0.033	2.99	1425
T136	0.145	0.066	2.20	2175
T137	0.191	0.088	2.17	2865
T138	0.152	0.064	2.37	2280
T139	0.158	0.073	2.16	2370
T140	0.205	0.101	2.02	3075
T141	0.182	0.073	2.49	2730
T142	0.117	0.061	1.19	1755
T143	0.161	0.078	2.06	2415
T144	0.108	0.050	2.16	1620
T145	0.069	0.027	2.55	1035
T146	0.172	0.085	2.03	2580
T147	0.214	0.101	2.11	3220
T148	0.103	0.051	2.01	1545

T149	0.292	0.100	2.92	4380
T150	0.071	0.023	3.08	1065
T151	0.065	0.029	2.2	975
T152	0.125	0.048	2.6	1875
T153	0.146	0.055	2.65	2190
T154	0.201	0.097	2.07	3015
T155	0.204	0.103	1.9	3060
T156	0.095	0.033	2.99	1425
T157	0.175	0.067	2.61	2625
T158	0.093	0.047	1.97	1395
T159	0.050	0.022	2.27	750
T160	0.175	0.080	2.18	2625
T161	0.267	0.136	1.96	4005
T162	0.100	0.048	2.08	1500
T163	0.077	0.032	2.40	1155
T164	0.145	0.087	1.66	2175
T165	0.128	0.064	2.84	1920
T166	0.204	0.087	2.34	3060
T167	0.202	0.082	2.46	3030
T168	0.192	0.074	2.59	2880
T169	0.189	0.098	1.92	1835
T170	0.244	0.113	2.15	3660
T171	0.187	0.096	1.94	2805
T172	0.095	0.04	2.37	1425
T173	0.155	0.079	1.96	2325
T174	0.301	0.136	2.21	4515
T175	0.134	0.086	0.59	2010
T176	0.148	0.053	2.79	2220
T177	0.094	0.039	2.41	1410
T178	0.226	0.1	2.26	3390
T179	0.173	0.085	2.03	2595
T180	0.162	0.074	2.18	2430
T181	0.196	0.095	2.06	2940
T182	0.142	0.084	1.69	2130

Original Research Article

Association study between-137 G/C IL-18 polymorphism and asthma in a sample of Algerian population

Khadidja Attab^{1*}, Mohamed Bey Baba Hamed¹ and Sidahmed Chawki Lamara¹

Abstract

Department of Biotechnology, Faculty of Sciences of Nature and Life, Oran1
– Ahmed Ben Bella University, Oran, Algeria

*Corresponding Author's Email:
attabkhadidja@gmail.com

Like other allergic diseases, asthma results from multiple conditions. Its susceptibility and severity are mediated by both environmental and genetic factors. In asthma studies, the important work is realization of the genetic background and identification of genetic factors resulting in asthma development and phenomena. Here, we investigated whether the single nucleotide polymorphism IL-18 (-137G/C) is associated with asthma in Algerian population. IL-18 (-137G/C) SNP was detected by polymerase chain reaction with sequence specific primers analysis (PCR-SSP) in 170 patients with asthma and 170 normal controls. Our results showed a significant difference in the genotype distribution of IL-18 SNP between asthma patients and controls ($\chi^2 = 10.80$, $P = 0.005$). The Allelic frequency of the G allele was significantly higher in the asthma group compared to the controls ($\chi^2 = 10.468$, $P = 0.001$, OR = 1.694, 95% CI (1.230-2.335). The results revealed that there is a possible association of IL-18 (-137G/C) with asthma in the studied population. This polymorphism can be considered as a marker of susceptibility to asthma. More studies in larger populations are needed to confirm our results.

Key words: Algerian population, Asthma, Cytokines, Polymorphism, IL-18 (-137 G/C)

INTRODUCTION

Asthma is a multifactorial respiratory disease caused by a interaction of multiple susceptibility genetic and environmental factors, which is associated with Th2 and Th1 cytokines (Ma et al., 2012).

Whole-genome scan analyses have revealed that SNP in chromosomal regions 11p15, 11q13, 11q12–13 (Daniels et al., 1996) and 11q22 (Koppelman et al., 2002) are possibly linked to asthma and atopy (Liang et al., 2005). Besides, interleukin 18 (IL-18), located on chromosome 11q22, 2-22,3, it regulates the Th1/Th2 balance, and it is considered as a candidate asthma susceptibility gene (Lachheb et al., 2007). IL -18 is a pro-inflammatory cytokine that is produced by a wide range of cells such as monocytes, macrophages and dendritic

cells (Sivalingam et al., 2003). IL-18 is a member of the IL-1 family that was originally described as IFN- γ -inducing factor; it is generally considered to be involved in the T-helper type 1 mediated immune response and it inhibits IgE synthesis, usually by acting synergistically with IL-12. IL-18 is essential for the host's defense against bacteria, fungi, protozoa and viruses through the induction of host-derived IFN- γ . On the other hand, IL-18 might also initiate Th2 responses with production of IgE via the stimulation of IL-4 and IL-13 synthesis in mast cells and basophils under certain conditions, as measured by Th2 cytokine production (Kim et al., 2007). Being involved in the pro-inflammatory cytokine network, IL-18 could have an important role in the development of inflammatory

diseases including asthma. The involvement of this cytokine in atopic disorders was supported by clinical and epidemiological observations of increased circulating IL-18 levels in the serum of patients during acute phase of asthma (Giedraitis et al., 2001). It has been also suggested that IL-18 may play a potential role to activate immunologic responses and may reflect disease activity in mild and moderate asthma exacerbation (Mahajan and Mehta, 2006).

IL-18 gene promoter polymorphism genotypes have been associated with variable levels of IL-18 mRNA production and thus IFN- γ production (Stassen et al., 2003). The search for nucleotide variations in the promoter region of the gene, able to affect IL-18 synthesis and IFN- γ production, resulted in the discovery of several new polymorphisms. One of them is (-137G>C) transversion, which modifies a transcription binding site influencing the quantity of transcribed mRNA (Boniotto et al., 2005). This SNP has been shown to be associated with asthma in several populations (Liang et al., 2005; Arimitsu et al., 2006; Novak et al., 2005), but no previous study has reported the association between this polymorphism and asthma in Algeria. Because of that, the aim of this work was to study the status IL-18 (-137G>C) polymorphism and its potential association with asthma in Algerian population.

SUBJECTS AND METHODS

Subjects

A total of 170 diagnosed asthmatic patients (68 males and 102 females) and a total of 170 control subjects (108 males and 62 females) were included in this study. All subjects were chosen from those visiting CHUO hospital in western Algeria.

The asthmatic subjects are patients who suffer from cough, wheezing and shortness of breath, and they are visiting the emergency unit for nebulization with typical symptoms of asthma. The controls are healthy subjects who don't have any history of asthma and do not suffer from any chronic disease and did not have any allergic disease. Written informed consent was obtained from all participating subjects.

Blood collection

5 milliliters of peripheral blood samples were collected by specialized nurses in the hospital and stored at -20°C until DNA extraction.

Genomic DNA extraction

The genomic DNA from the blood subjects was extracted

using a genomic DNA extraction kits (StratageneInc, Canada) as per manufacturer procedure. The quality of the extracted DNA was verified by running on 1.5% agarose gel and detected by standard ethidium bromide staining. The DNA samples were then stored at 4 °C until needed.

Genotyping

The IL-18 (-137G>C) genotyping was performed using polymerase chain reaction with specific primers (PCR-SSP) assay, which uses identical amplification and detection conditions, enabling rapid and cost-efficient analysis of polymorphisms (Bagheri et al., 2006). This technique utilizes sequence specific primers with 3'-end mismatches and identifies the presence of specific allelic variants through the PCR amplifications (Janssen et al., 2004). a common reverse primer, 5'-AGG AGG GCA AAA TGC ACT GG-3', and two sequence-specific forward primers, 5'-CCC CAA CTT TTA CGG AAG AAA AG-3' and 5'-CCC CAA CTT TTA

CGG AAG AAA AAC-3' were used to amplify a 261 bp PCR product. A control forward primer, 5'-CCA ATAGGA CTG ATT ATT CCG CA-3', was used to amplify a 446 bp fragment covering the polymorphic site as an internal positive amplification control (Boraska et al., 2006). All PCR reactions were performed in a total volume of 25 μ l, containing 2 μ l genomic DNA, 2.5 μ l of 10X Taq polymerase buffer, 2U of taq polymerase, 200 μ M of dNTPs, 0.25 μ M of the control forward primer and each sequence specific primer and 0.5 μ M of common reverse primer. PCR reactions were performed in thermocycler (Eppendorf, Germany) according to the following cycling conditions:

2 min at 94 °C, followed by five cycles for 20 s at 94 °C, 1 min at 68 °C and 25 cycles of 20 s at 94 °C, 40 s at 62 °C, 40 s at 72 °C and a final elongation at 72 °C for 5 min. All PCR products were separated in 1.5 % agarose gels stained with ethidium bromide. Gels were visualized under UV transillumination.

Statistical analysis

Data were analyzed with SPSS 21.0 software. All genotype frequencies were tested for the Hardy-Weinberg equilibrium the fit to the equilibrium was tested by calculating the χ^2 test. Comparison of allelic frequencies and genotypes among groups, and association of this polymorphism with asthma were examined for statistical significance with Chi square (χ^2) test. The quantification of the relative risk, the odds ratio (OR) and the confidence interval (CI) were calculated at the 95% level. Statistical significance was assumed for *P* values less than 0.05

Table 1. Baseline characteristics of all the subjects.

Parameters	Case (n=170) N(%)	control (n=170) N(%)	P-value
Gender, M/F	68/102 (40/60)	108/62 (64/36)	NS
Age Parental	45.35±14.326 45 (26)	35.62±12.033 28 (16)	P<0.05
consanguinity			
Personnal history	144 (85)	46 (27)	P<0.05
Professional	65 (38)	31 (18)	P<0.0001
Pollution			
Air pollution	107 (63)	25 (15)	P<0.0001
Professional pollution	108 (64)	47 (28)	P<0.0001
Humidity	129 (76)	90 (53)	P<0.0001
Tobacco smoke	41 (24)	78 (46)	P<0.0001
Passive smoke	54 (32)	94 (55)	P<0.0001
Urban / Rural	151/19 (89/11)	146/24 (86/14)	NS
Environment Presence	40 (24)	22 (13)	P<0.01
Animals at home			
Parental history asthma	70 (41)	35 (21)	P<0.0001

Table 2. The genotype and allele frequencies of IL-18 (-137G>C) polymorphism in asthma patients and healthy controls

polymorphism	Controls N=170 (%)	Asthma Patients N= 170 (%)	χ^2	<i>P</i> value	OR (95% CI)
Genotype					
GG	59 (35%)	87 (51%)	10.80	0.005	
GC	86 (50%)	70 (41%)			
CC	25 (15%)	13 (8%)			
Allele					
G	204 (60%)	244 (72%)	10.468	0.001	1.694 (1.230-2.335)
C	136 (40%)	96 (28%)			

RESULTS

Baseline characteristics

Patients and healthy controls characteristics are shown in Table 1. The mean age of patients was 45.35±1.099 Versus 35.62±0.923 in the control group, and it was statistically different between the two groups ($p<0.005$). There was no statistical difference between asthma patients and controls in term of gender and the environment (rural or urban) factors. However there was a significant difference with respect to the other characteristics.

Detection of the IL-18 (-137 G>C) polymorphism

Genotype and allele frequencies for IL-18 (-137G>C) polymorphism are summarized in table 2. The genotype

frequencies were in agreement with the Hardy-Weinberg equilibrium.

The frequencies of the three genotypes among control subjects were as follows: GG in 59 patients (35%), GC in 86 patients (50%) and CC in 25 patients (15%).

Whereas the frequencies among asthma patients were: GG in 87 subjects (51%), GC in 70 subjects (41%) and CC in 13 subjects (8%).

Genotypes frequencies distribution was significantly different in asthma patients and controls ($\chi^2 = 10.80$, $P = 0.005$). The homozygous genotype GG was significantly higher in asthmatic patients compared to the control group. Carriers of the G allele were significantly more frequent in asthmatic group than in controls ($\chi^2 = 10.468$, $P = 0.001$). We can suggest that the asthma patients carrying the -137 G allele exhibited an increased risk of developing asthma than controls (OR = 1.694, 95% CI

(1.230 -2.335))(table 2).

DISCUSSION

In the current study we investigated the association of one promoter SNP of the IL -18, which is -137G/C with asthma in Algerien population.

IL-18 is a proinflammatory cytokine that have a promoting or inhibitory effect on the pathogenesis of asthma (Okamura et al., 1995; Dinarello, 1999). IL-18 acts synergistically with IL-12 to promote immune responses of the Th1 cell to produce IFN- γ and to inhibit IgE production (Kim et al., 2007). However, in the absence of IL-12, IL-18 can induce IL-4, IL-13, and histamine release by basophils and mast cells, Th2 differentiation by T cells, and IL-4 production by NK cells and NKT cells (Yoshimoto et al., 1999; Yoshimoto et al., 2000). It was also shown that IL-18 causes Th1 cells to produce IL-13, eotaxin, GM-CSF, and RANTES, which led to eosinophilic inflammation and bronchial hyper-reactivity in a mouse (Sugimoto et al., 2004). It has been suggested that IL-18 may play an important role in the pathophysiology of patients with asthma. Higher serum levels of IL-18 have been previously identified in asthmatic subjects in comparison to healthy control subjects (Giedraitis et al., 2001; Wong et al., 2001). IL-18 gene maps to the chromosomal region 11q22.2-q22.3 in a region suggested in many studies to be associated with allergic diseases (Koppelman et al., 2002; Ober and Moffatt, 2000). The promoter region of IL-18 gene contains multiple transcription initiation sites. It was reported that IL-18 gene promoter polymorphisms could influence IL-18 mRNA expression and thus affect its serum levels (Giedraitis et al., 2001; Wong et al., 2001; Wen et al., 2014). Position -137 of IL-18 gene promoter fall within a potential histone H4 gene transcription factor 1 (H4TF-1) binding site, with the C allele possibly demolishing the binding site of H4TF-1, as the resulting sequence is similar to a binding site for unknown found in the granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) promoter (Takada et al., 2002). The functional consequence of the resulting -137 allele is a dramatic repression of the IL-18 promoter, as well as activation of immune cells and inflammatory response (Giedraitis et al., 2001; Wen et al., 2014). IL-18 (-137G/C) polymorphism has been reported to contribute to a variety of inflammatory diseases including asthma, however, conflicting results have been observed in various populations. Indeed, Berbian et al studied the association of IL-18 (-137G/C) polymorphism with asthma in Indian population, the authors found a significant association of this polymorphism with asthma in the studied population (Birbian et al., 2013). Additionnaly, in a German study, a population suffering from atopic eczema was genotyped for IL-18 -137G/C promoter 1 polymorphism

revealing significant association, with the highest allelic frequency in patients with intrinsic and non-atopic eczema, especially in patients with low serum IgE levels (Novak et al., 2005). In the same population, the SNPs in exon 1 (+133T/G and +127C/T), promoter 1 (-137G/C) and in promoter 2 (-133C/G), showed significant associations with high IgE levels ($p < 0.005$) conferring increased risk towards allergic rhinitis (Kruse et al., 2003). Also in a Japanese population, IL-18- 137G/C was positively associated with asthma and it was inferred that there was genetic tendency to produce higher levels of IL-18 cytokine by monocytes with -137G/C genotype, which may contribute to the development of asthma and allergic phenotypes (Arimitsu et al., 2006). The association between -137G/C polymorphism has also been confirmed with atopic asthma in a Swiss study (Imboden et al., 2006b).

On the contrary, some studies report no association of the -137 G/C polymorphism with asthma, as in a Jordanian (Attab et al., 2008), German [30], and Singaporean Chinese Malays populations (Liang et al., 2005). Further, a meta-analysis conducted in the people republic of china on five studies inducing 1883 cases and 6645 controls reported no significant association between asthma risk and the -137G/C polymorphism (Ma et al., 2012).

In the present study a comparison of the genotype frequencies of the -137 G/C polymorphism between patients with asthma and controls reveals a significant differences ($\chi^2 = 10.80$, $P = 0.005$), moreover allelic frequency of the C allele was significantly higher in asthmatic group ($\chi^2 = 10.468$, $P = 0.001$). our finding are in concordance with observations by Novak et al, which revealed a significant association of this SNP with atopic eczema in a German population ($p < 0.001$, OR= 4.2824, 95% CI (1.2413-14.7716) (Novak et al., 2005), similarly Pawlik et al showed a significant association of -137 C allele with the mild and moderate asthma in a Polish population ($p = 0.006$) (Pawlik et al., 2007). Kruse et al investigated the relationship between IL-18 (-137G>C) polymorphism and specific sensitization to common allergens and allergic rhinitis, the authors observed a significant association of this polymorphism and IgE levels and specific sensitization ($p < 0.005$) (Kruse et al., 2003).

CONCLUSION

Our results suggest that the C allele might be a risk factor for asthma in this population. However, since our sample size was relatively small, association or linkage study in larger sample size is needed to confirm the obtained results. Also, future studies should include the relatives of asthma patients to be certain the association between this SNP and the disease. Moreover, it may be interesting to investigate the implication of other polymorphisms in IL-18 gene that are in linkage disequilibrium with the IL-

18 (-137G/C) polymorphism and that might be responsible for the noted association.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors are grateful to the precious help of Mr Berrabah Y, Professor and headmaster of Pneumology service at the University Hospital of Oran (CHUO) and his assistant- Dr Oujidi, without their scientific help, this work would be incomplete.

Conflict of Interest

The author(s) declare(s) that there is no conflict of interest regarding the publication of this article

REFERENCES

- Arimitsu J, Hirano T, Higa S, Kawai M, Naka T, Ogata A, Shima Y, Fujimoto M, Yamadori T, Hagiwara K, Ohgawara T, Kuwabara Y, Kawase I, Tanaka T. (2006). IL-18 gene polymorphisms affect IL-18 production capability by monocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 342: 1413-1416.
- Attab K, Al-Quaoud K, Al-Bataineh K, Ajlouni M. (2008). Association of SNP in the IL-4, IL-18 and eotaxin genes with asthma in a Jordanian population. *Inter. J. Integrative Biol.* 4 (2): 86-91.
- Bagheri M, Abdi-Rad I, Omrani D, Khalkhali H R. (2006). Heterogeneity of cytokine single-nucleotide polymorphisms among the Iranian and the other East-South Asian populations. *Transfusion Med.* 16: 192-199.
- Birbian N, Singh J, Jindal SK. (2013). Protective role of IL-18 -137 G/C polymorphism in a north Indian population with asthma: a pilot study. *Cytokine*.61:188- 193.
- Boniotto M, Segat L, Milanese M, Crovella S. (2005). Detection of two functional polymorphisms in the promoter region of the IL-18 gene by single-tube allele specific PCR and melting temperature analysis. *J. Immunol. Methods*.304: 184-188.
- Boraska V, Terzić J, Škrabić V, Čačev T, Bučević-Popović V, Peruzović M, Markotić A, Zemunik T. (2006). NeuroD1 gene and interleukin-18 gene polymorphisms in type 1 diabetes in Dalmatian population in Southern Croatia. *Croat. Med. J.*47: 571-578.
- Daniels SE, Bhattacharya S, James A, Leaves NI, Young A, Hill MR, Faux JA *et al.* (1996) A genome wide search for quantitative trait loci underlying asthma. *Nature*, 383 :247.
- Dinarello CA. (1999). IL-18: a TH1-inducing, proinflammatory cytokine and new member of the IL-1 family, *J. Allergy Clin. Immunol.*103: 11–24
- Giedraitis V, He B, Huang WX, Hillert J. (2001). Cloning and mutation analysis of the human IL-18 promoter: a possible role of polymorphisms in expression regulation. *J.*
- Heinzmann A, Gerhold K, Ganter K, Kurz T, Schuchmann L, Keitzer R, Berner R, Deichmann KA. (2004). Association study of polymorphisms within interleukin-18 in juvenile idiopathic arthritis and bronchial asthma. *Allergy*.59:845-849. Heinzmann A, Gerhold K, Ganter K, Kurz T, Schuchmann L, Keitzer R, Berner R, Deichmann KA. (2004). Association study of polymorphisms within interleukin-18 in juvenile idiopathic arthritis and bronchial asthma. *Allergy*.59:845-849.
- Imboden M, Nieters A, Bircher, AJ, Brutsche M, Becher, N, Wjst M, Ackermann- Librich U, Berger W, Probst-Hensch NM, and Sapaldia team. 2006b. Cytokine gene polymorphisms and atopic disease in two European cohorts.(ECRHS-Basel and Sapaldia). *Clin. Molec. Allergy*4:1-9.
- Janssen R, Grutters JC, Ruven HJT, Zsnen P, Sato H, Welsh KI, Du Bois RM Van Den Bosch JMM. (2004). No association between interleukin-18 gene polymorphisms and haplotypes in Dutch sarcoidosis patients. *Tissue Antigens*.63: 578-583.
- Kim E, Lee JE, Namkung JH, Parl JH, Kim S, Shin ES, Cho E Y, Yang JM, (2007). Association of the single-nucleotide polymorphism and haplotype of the interleukin 18 gene with atopic dermatitis in Koreans. *Clin. Exp. Allergy*.37: 865-871.
- Koppelman GH, Stine OC, Xu J, Howard TD, Zheng SL, Kauffman HF, Bleecker ER, Meyers DA, Postma DS. (2002) Genome-wide search for atopy susceptibility genes in Dutch families with asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*,109: 498.
- Kruse S, Kuehr J, Moseler M, Kopp MV, Kurz T, Deichmann KA, Foster PS, Mattes J, (2003). Polymorphisms in the IL18 gene are associated with specific sensitization to common allergens and allergic rhinitis. *J. Allergy Clin. Immunol.*111(1):117-122.
- Lachheb J, Chelbi H, Ammar J, Hamzaoui K, Hamzaoui A. (2007). Promoter polymorphism of the IL-18 gene is associated with atopic asthma in Tunisian children. *Inter. J. Immunog.* 35: 63-68.
- Liang XH, Cheung W, Heng CK, Wang DY. (2005). Reduced transcriptional activity in individuals with IL-18 gene variants detected from functional but not association study. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 338: 736-741.
- Ma Y, Zhang B, Tang RK, Liu Y, Peng RK. (2012). Interleukin-18 promoter polymorphism and asthma risk: a meta analysis. *Mol. Biol. Rep.* 39: 1371-1376.
- Mahajan S, Mehta AA. (2006). Role of cytokines in pathophysiology of asthma. *Iran. J. Pharmacol.* 5:1-14.
- Neuroimmunol. 112: 146-152
- Novak N, Kruse S, Potreck J, Maintz L, Jenneck C, Weidinger S, Fimmers R, Bieber T.(2005). Single nucleotide polymorphisms of the IL18 gene are associated with atopic eczema. *J. Allergy Clin. Immunol.*115(4): 828-833.
- Ober C, Moffatt MI. (2000). Contributing factors to the pathophysiology. The genetics of asthma. *Clin. Chest. Med.*21: 245-261.
- Okamura H, Tsutsui H, Komatsu T, Yutsudo M, Hakura A, Tanimoto T, Torigoe K, Okura T, Nakada Y, Konishi K, Fukuda S, Kurimoto T. (1995). Cloning of a new cytokine that induces INF- γ production by T cells. *Nature*. 378:88–91.
- Pawlik A, Kaminski M, Kusnierczyk P, Kurawski M, Dziedzicko V, Adamska M, Safranow K, Gawronska-Szklarz B. (2007). Interleukin-18 promoter polymorphism in patients with atopic asthma. *Tissue antigens*.70:314-318.
- Sivalingam SP, Yoon KH, Koh DR, Fong KY. (2003) Single-nucleotide polymorphisms of the interleukin-18 gene promoter region in rheumatoid arthritis patients: protective effect of AA genotype. *Tissue antigens*, 62: 498-504.
- Stassen NA, Breit CM, Norfleet LA, Polk HC. (2003). IL-18 promoter polymorphisms correlate with the development of post-injury sepsis. *Surgery*.134:351-356.
- Sugimoto T, Ishikawa Y, Yoshimoto T, Hayashi N, Fujimoto J , Nakanishi K. (2004). Interleukin 18 acts on memory T helper cells type 1 to induce airway inflammation and hyper-responsiveness in a naive host mouse, *J. Exp. Med.* 199: 535– 545.
- Takada T, Suzuki E, Morohashi K, Gejyo F. (2002). Association of single nucleotide polymorphisms in the IL-18 gene with sarcoidosis. *Tissue Antigens*.60: 36-42.
- Wen D, Liu J, Du X, Dong JZ, Ma CS. (2014). Association of interleukin-18 (-137G/C) polymorphism with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus: a meta analysis. *Inter. Rev. Immunol.* 33: 34-44.
- Wong CK, Ho CY, Ko FW, Chan CH, Ho AS, *et al.* (2001). Proinflammatory cytokines (IL-17, IL-6, IL-18 and IL-12) and Th cytokines (IFN- γ , IL-4, IL-10 and IL-13) in patients with allergic asthma. *Clin. Exp. Immunol.* 125: 177–183.

Yoshimoto T, Mizutani H, Tsutsui H, Noben-Trauth N, Yamanaka K, Tanaka M, Izumi S, Okamura H, Paul WE, Nakanishi K. (2000). IL-18 induction of IgE: dependence on CD4+ T cells, IL-4 and STAT6, *Nat. Immunol.* 1: 132–137.

Yoshimoto T, Tsutsui H, Tominaga K, Hoshino K, Okamura H, Akira S, Paul WE, Nakanishi K. (1999). IL-18, although antiallergic when administered with IL-12, stimulates IL-4 and histamine release by basophils, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96 : 13962–13966.

Association of SNP in the IL-4, IL-18 and eotaxin genes with asthma in a Jordanian population

Khadija A Attab¹, Khaled M Al-Qaoud^{1,*}, Khalid Al-Bataieneh¹,
Mohammed J Ajlouni²

¹Department of Biological Sciences, Yarmouk University, Irbid, Jordan

²Princess Rahma Teaching Hospital, MOH, Irbid, Jordan

Submitted: 12 Oct. 2008; Accepted: 25 Nov. 2008

Abstract

The association of polymorphisms in IL-4 (Th2 cytokine), IL-18 (Th1 cytokine) and eotaxin (eosinophil chemoattractant) with asthma and allergic diseases genes is thoroughly investigated. This study aimed to reveal the single nucleotide polymorphisms (SNPs) in IL-4 (-590C>T), IL-18 (-137G>C), and eotaxin (-384A>G) genes and their possible association with asthma in Jordanian population. Results showed that GG homozygous genotype of the eotaxin gene promoter at -384 position as well as the frequency of the mutant allele were significantly higher among asthma patients compared to control subjects. However, no significant differences in either the genotype distribution or the allelic frequencies of the IL-4 and IL-18 gene polymorphism were observed between asthma patients and controls. From the genotypes of IL-4, IL-18 and eotaxin polymorphisms, 27 genotypes were deduced, of which only 13 combinations appeared in the study. The genotype combination frequencies of asthma patients are quite similar to those observed in healthy controls. Only the genotype combination CT GG GG which is composed of the heterozygous genotype of IL-4 CT, the normal genotype of IL-18 GG and the homozygous genotype of eotaxin GG was preferentially transmitted to the asthmatic children. The results of this study suggest a possible association of asthma with the eotaxin -384A>G. Moreover, the genotype combination CT GG GG, may be one of the factors that participate in the pathogenesis of asthma or its intermediary phenotypes.

Keywords: IL-4; IL-8; eotaxin; asthma.

INTRODUCTION

Asthma is one of the most common chronic disorders affecting children and young adults in industrialized countries (Palmer *et al.*, 2001). There has been a dramatic increase in the prevalence of asthma over the last few decades (Arshad, 2005). It has become an epidemic affecting 155 million individuals in the world. The cost of this disease is substantial, and the market for the pharmaceutical industry is estimated at 5.5 \$ billion/year (Palmer and Cookson, 2000). Both environmental and genetic factors contribute to the inception and evolution of asthma (Renaulds 2001). Although environmental factors are known to contribute to development of the disease, epidemiological studies point towards a strong genetic influence (Busse and Lemanske, 2001).

It is a commonly held view that asthma is caused by multiple interacting genes, where some have a protective effect and others contribute to the pathogenesis of disease, however, each gene has its own tendency to be influenced by the environment. Thus, the complex nature of the asthma phenotype, together with substantial locus heterogeneity and environmental influence has made it difficult to unravel the genetic factors that underline asthma (Hakonarson *et al.*, 2002). More than 100 linkage and association studies have reported more than 500 atopy and asthma loci throughout the genome. However, none of the linkage studies found loci that meet reasonable criteria for significance and only a few of the association studies reported, qualify for possible significance (Hakonarson *et al.*, 2001). At least five regions in the human genome (chromosomes 5, 6, 11, 12 and 13) contain genes consistently found to be associated with asthma, but several other regions (chromosomes 2, 7, 14, 19, 17 and 21) could also contain candidate genes (Hakonarson *et al.*, 2001).

*Corresponding author:

Khaled M. Al-Qaoud, Ph.D.
Dept. of Biological Sciences,
Yarmouk University, Irbid, Jordan
Email: akhaled@yu.edu.jo

Asthma and allergic diseases are thought to be due to an imbalance between Th1 and Th2 branches of the immune system, which are responsible for allergic inflammatory reactions and delayed hypersensitivity reactions respectively (Peters, 2003). Cytokines play a crucial role in the balance between Th1 and Th2 immune responses (Renaulds, 2001). In recent years polymorphisms in various cytokine genes have been identified and an indication of functional relevance exists for some of them. They have been associated with atopic disorders such as hay fever, asthma, eczema or elevated IgE level (Liang *et al.*, 2005; Imboden, 2006a; Raby, *et al.*, 2006).

Numerous studies have shown the association of polymorphisms in IL-4 (Th2 cytokine), IL-18 (Th1 cytokine) and eotaxin (eosinophil chemoattractant) genes with asthma and allergic diseases in many populations (Bagheri *et al.*, 2006), but no previous study has reported the association between these polymorphisms and asthma in Jordan. Because of that, the aim of this work was to study the status of IL-4 (-590C>T), IL-18 (-137G>C), and eotaxin (-384A>G) polymorphisms and their potential association with asthma in Jordanian population.

SUBJECTS AND METHODS

Subjects

A total of 40 diagnosed asthmatic children (22 males and 18 females) and a total of 40 age matched control subjects (25 males and 15 females) were included in this study. All children were chosen from those visiting the pediatric clinic at Princess Rahmah hospital in northern Jordan. The asthmatic children are patients who suffer from cough, wheezing and shortness of breath, and they are visiting the emergency unit for nebulization with typical symptoms of asthma. The control subjects are healthy children who don't have any history of asthma and do not suffer from any diseases at the time of visit and blood collection. Families were informed about the study and gave consent to be involved in the study.

Blood collection

Two to 5 milliliters of peripheral blood samples were collected by specialized nurses in the children clinic and stored at -20°C until DNA extraction.

Genomic DNA extraction

The genomic DNA from the blood subjects was extracted using a genomic DNA extraction kits; Generation Capture Column Kit (Gentra, USA) as per manufacturer procedure. The quality of the extracted DNA was verified by running on 1.5% agarose gel and

detected by standard ethidium bromide staining. The DNA samples were then stored at 4°C until needed.

Polymerase chain reaction with sequence-specific primers (PCR-SSP)

IL-4 (-590C>T) and IL-18 (-137G>C) genotyping was performed using polymerase chain reaction with specific primers (PCR-SSP) assay, which uses identical amplification and detection conditions, enabling rapid and cost-efficient analysis of polymorphisms (Bagheri *et al.*, 2006). This technique utilizes sequence specific primers with 3'-end mismatches and identifies the presence of specific allelic variants through the PCR amplifications (Janssen, *et al.*, 2004). For the IL-4 (-590C>T) SNP, PCR was performed using a common reverse primer, 5'-TTT GCA TAG AAG GGA GAG GCC-3', and two sequence specific forward primers, 5'-CTA AAC TTG GGA GAA CAT TGT CC-3' and 5'-CTA AAC TTG GGA GAA CAT TGT CT-3'. PCR gives an amplification product of 251 bp. A control forward primer, 5'-AAC TAG GCC TCA CCT GAT ACG-3', was used to amplify a 291 bp fragment covering the polymorphic site to serve as an internal positive amplification control (Mullighan, 1999). PCR for the polymorphism IL-18 (-137G>C) was performed using a common reverse primer, 5'-AGG AGG GCA AAA TGC ACT GG-3', and two sequence-specific forward primers, 5'-CCC CAA CTT TTA CGG AAG AAA AG-3' and 5'-CCC CAA CTT TTA CGG AAG AAA AAC-3' were used to amplify a 261 bp PCR product. A control forward primer, 5'-CCA ATAGGA CTG ATT ATT CCG CA-3', was used to amplify a 446 bp fragment covering the polymorphic site as an internal positive amplification control (Boraska *et al.*, 2006). All PCR reactions were performed in a total volume of 25 µl, containing 2 µl genomic DNA, 12.5 µl 2X PCR Master Mix (Go Taq® Green Master mix, Promega, USA), 0.25 µM of the control forward primer and each sequence specific primer and 0.5 µM of common reverse primer. PCR reactions were performed in thermocycler (Biometra, Germany) according to the following cycling conditions:

For IL-4 (-590C>T) SNP were 1 min at 95 °C, followed by five cycles for 25 s at 95 °C, 45 s at 70 °C, 45 s at 72 °C, and 21 cycles of 25 s at 95 °C, 45 s at 65 °C, and 50 s at 72 °C, followed by four cycles of 95 °C for 25 s, 55 °C for 60 s and 72 °C for 2 min. The cycling conditions for IL-18 (-137G>C) SNP were 2 min at 94 °C, followed by five cycles for 20 s at 94 °C, 1 min at 68 °C and 25 cycles of 20 s at 94 °C, 40 s at 62 °C, 40 s at 72 °C and a final elongation at 72 °C for 5 min. All PCR products generated for the two polymorphisms were separated in 1.5% agarose gels stained with ethidium bromide. Gels were visualized under UV transillumination and documented by BioDocAnalyze (Biometra, Germany) imaging system.

Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP)

The subjects were genotyped for eotaxin (-384 A>G) polymorphism by means of PCR-RFLP. This involved a combination of PCR amplification and digestion with restriction endonuclease Taq I (Promega, USA) followed by gel electrophoresis analysis.

The region of interest was amplified with a primer pair (5'-GGT TTC CTT GCT CCT TTC CTC-3' (forward), and 5'-GCA GAA CAG AAG AGA GAG GCA A-3' (reverse) and the resulting PCR product was 204bp (Tsunemi *et al.*, 2002). The original sequence at position -410–387 upstream the eotaxin promoter for the forward primer is 5'-GGT TTC CTT GCT CCT TTC CCC-3'. The mismatch 5'-GGT TTC CTT GCT CCT TTC CTC-3' was introduced in the upstream primer in order to obtain the restriction site for Taq I, which can cleave the PCR product into two fragments: 187bp and 17bp. The presence of polymorphism (G allele) abolishes the cleavage site for TaqI (Tsunemi *et al.*, 2002). This establishes an efficient and simple RFLP method to detect the -384 A>G polymorphism in the eotaxin gene.

The PCR reactions were carried out in a total volume of 50 µl containing 4 µl of genomic DNA, 12.5 µl 2X PCR Master Mix and 0.2 µM of each primer. The cycle conditions consisted of an initial 5 min denaturation at 94°C, and then 40 cycles at 95°C, 1 min annealing at 55°C, and 1 min extension at 72°C followed by 7 min extension at 72°C. The resulted PCR product was verified using a 1.5% agarose gel after electrophoresis and ethidium bromide staining. The remaining PCR product was digested with TaqI. The restriction mixture was prepared by mixing 20 µl of PCR product, 0.5 µl (5U) of restriction enzyme, 2.5 µl of restriction enzyme 10X buffer F, 0.5 µl of acetylated BSA, 13.5 µl of nuclease free water and 10 U of the restriction enzyme. The restriction digestion was then allowed to proceed for 3 h at 65 °C. The generated fragments were separated on 15% acrylamide gel with ethidium bromide staining and visualized in UV light.

Statistical analysis

Data were analyzed with SPSS 13.0 software. Comparison of allelic frequencies and genotypes among groups, and association of the three polymorphisms with asthma were examined for statistical significance with Chi square (χ^2) test. The quantification of the relative risk, the odds ratio (OR) and the confidence interval (CI) were calculated at the 95% level. Statistical significance was assumed for *P* values less than 0.05.

RESULTS

Detection of the IL-4 (-590C>T) polymorphism

The frequencies of the different genotypes for IL-4 (-590C>T) among asthma patients and healthy control subjects are summarized in Table 1 [Supplementary data]. As shown in the Table, the genotype frequencies for the -590 bp SNP in asthma patients were as follows: CC in 31 patients (77.5%) and CT in 9 patients (22.5%). Whereas in control subjects the genotype frequencies were: CC in 33 subjects (82.5%) and CT in 7 subjects (17.5%). The homozygous genotype TT was missing among the population under study. The frequency of the heterozygous genotype tended to be higher in asthma patients compared to control subjects but this was not statistically significant ($\chi^2 = 0.313$, *P* = 0.390). Distribution of allelic frequencies of IL-4 (-590C>T) among the asthma patients and the healthy control subjects are presented in Table 2 [Supplementary data]. The T allele frequencies were slightly higher in the asthmatic group (11.25%) than the control group (8.75%), which was not statistically significant ($\chi^2 = 0.278$, *P* = 0.397). Representative PCR products of the IL-4 gene at the position -590 is shown in figure 1.

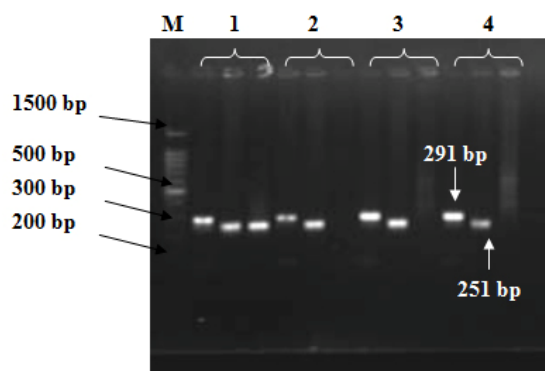


Figure 1: 1.5% agarose gel electrophoresis of PCR products of IL-4 gene at the position -590. The 291 bp bands represent the PCR internal control amplified using the forward control primer and the common reverse primer. The 251 bp represent the PCR amplification product of the alleles C and T amplified using the sequence specific primers with the common reverse primers. M: 100bp DNA ladder; 1: heterozygous genotype CT; 2,3 and 4: normal genotype CC.

Detection of the IL-18 (-137 G>C) polymorphism

The frequencies of the three genotypes for IL-18 (-137 G>C) among asthma patients were as follows: GG in 21 patients (52%), GC in 18 patients (45%) and CC in 1 patient (2.5%). Whereas the frequencies among control subjects were: GG in 26 patients (65%), GC in 14 patients (35%). The homozygous genotype for the mutant allele did not appear in this group (Table 1). Since only one asthma patient exhibited the

homozygous genotype for the mutant allele (C allele) it was included in the group of heterozygous for purposes of statistical analysis and calculations of OR. The prevalence of heterozygous was higher in asthmatic patients compared to the control subjects but this difference did not reach the statistical significance ($\chi^2 = 2.032$, $P = 0.362$). The C allele was higher in asthma patients compared to controls, but it was not statistically significant ($\chi^2 = 1.345$, $P = 0.167$) (Table 2). The PCR amplification products of the IL-18 gene at the position -137 from some representative samples are shown in figure 2.

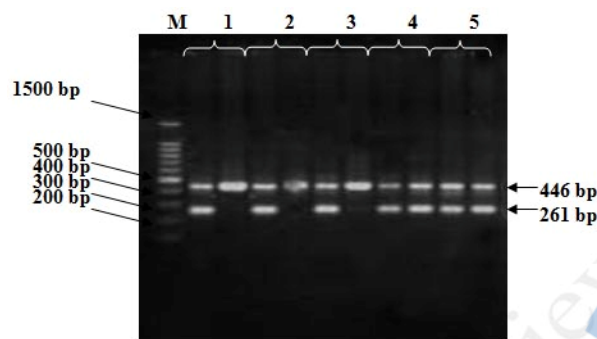


Figure 2: 1.5% agarose gel electrophoresis of PCR products of IL-18 gene at the position -137. The 446 bp bands represent the PCR internal control amplified using the forward control primer and the common reverse primer. The 261 bp represent the PCR amplification product of the alleles G and C amplified using the sequence specific primers with the common reverse primers. M: 100bp DNA ladder; 1,2 and 3: normal genotype GG; 4 and 5: heterozygous genotype GC.

Detection of the Eotaxin (-384 A>G) polymorphism

The PCR amplification of the eotaxin gene at the position -384 produced a product of 204 bp that is cleaved into 187 bp and 17 bp fragments after TaqI treatment in wild type allele (Figure 3).

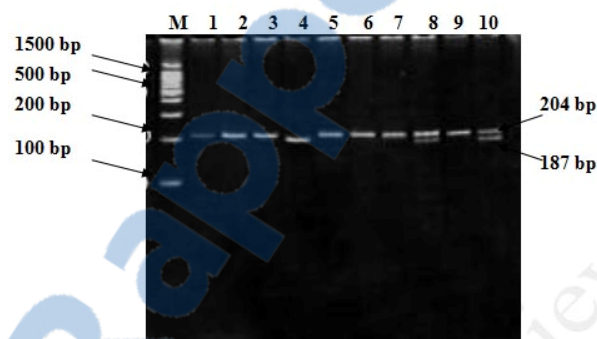


Figure 3: TaqI restriction digestion of the eotaxin -384A>G PCR products from the representative samples separated by 15% native polyacrylamide gel electrophoresis. The size of PCR product is 204 bp and digested fragments derived from the A-384 allele are 187 bp and 17 bp (invisible in gel). The PCR products from the G-384 allele are not cut with TaqI. Lane M: 100 bp DNA ladder; 1, 3, 5, 7, 9: negative controls; 4: normal genotype AA; 2 and 6: homozygous genotype GG; 8 and 10: heterozygous genotype AG.

The frequencies of the different genotypes among the group of asthmatics were AA in 4 patients (10%), AG in 12 patients (30%) and GG in 24 patients (60%). However in the group of controls the frequencies of the three genotypes were AA in 10 subjects (25%), AG in 14 subjects (35%) and GG in 16 subjects (40%) (Table 1).

The frequency of the homozygous genotype was significantly higher in asthma patients than in control subjects ($\chi^2 = 4.103$, $P = 0.043$, OR = 3.750, 95% confidence interval (CI) = 1.001-14.05). The heterozygous genotype AG tended to be slightly lower in asthma patient compared with the group of controls, but this was not statistically significant ($\chi^2 = 1.172$, $P = 0.230$). When the Eotaxin -384 allele frequencies were analyzed, the frequency of the G allele was found to be significantly higher in asthma patients than in control subjects ($\chi^2 = 5.479$, $P = 0.015$, OR = 2.217, 95% confidence interval (CI)=1.132-4.345). The distribution of allelic frequencies of eotaxin (-384 A>G) among asthma patients and the healthy control subjects is shown in Table 2.

Genotype combinations of IL-4 (-590C>T), IL-18 (-137G>C) and eotaxin (-384A>G)

Each SNP had two alleles and three genotypes. When combining the genotypes of the three SNPs (IL-4 (-590C>T), IL-18 (-137G>C) and Eotaxin (-384A>G)), 27 genotype combinations were possible, from which only 13 combinations appeared in the study groups (Table 3 [Supplementary data]). The genotype combination frequencies of asthma patients are quite similar to those observed in healthy controls, no statistically significant differences are reported between subjects and asthma patients. One exception is for the genotypes combination CT GG GG, which was preferentially transmitted to the asthmatic children ($\chi^2 = 5.238$, $P = 0.045$). This genotype combination is composed of the heterozygous genotype of IL-4 CT, the normal genotype of IL-18 GG and the homozygous genotype of eotaxin GG.

DISCUSSION

In the current study, the association of three different promoter SNPs of the IL-18, IL-4 and eotaxin, which are respectively -137G/C, -590C/T and -384A/G with asthma in Jordanian population was investigated. These three SNPs were selected in this study for their frequent investigation worldwide.

To date there have been several reports about polymorphisms of the IL-4 gene and their association with asthma. So far, IL-4 promoter polymorphism C/T at position -590 counting from the first ATG codon is the only reported polymorphism of the IL-4 gene

promoter (Lai *et al.*, 2006). It is known that the specific genotype (C or T) at position -590 of the open reading frame of IL-4 gene is correlated with the expression of IL-4 as well as with IL-4 mediated activity as this polymorphism results in the transition from a weak binding site for transcription factor NF-AT1 (GGAGAA) to a strong binding site (GGAAAA) and thus mediates a transcriptional up-regulation of IL-4 (Nguyen *et al.*, 2004). Such a functional polymorphism in the IL-4 gene may elevate IL-4 levels and thereby influences the IL-4 dependant events which determines disease progression. Several recent studies have demonstrated an association of the allele T at the position -590 from the open reading frame of the IL-4 gene with asthma and atopy in different populations and ethnic groups (Rosenwasser *et al.*, 1995; Walley and Cookson, 1996; Zhu *et al.*, 2000; Noguchi *et al.*, 2001; Beghe *et al.*, 2005).

Results from the present study showed that IL-4 promoter polymorphism at position -590 do not seem to be associated with asthma in the Jordanian population. Our findings are not in accordance with the previous reports. They support many studies on different populations which failed to find strong association of this polymorphism with asthma. In a Kuwaiti cohort, Hijazi and Haidar (2000) failed to find significant association of IL-4 -590 polymorphism with asthma. This SNP was not associated with asthma also in Australian population (Elliott *et al.*, 2001) and in Mexican population (Lopez *et al.*, 2006).

The IL-18 promoter polymorphism (-137G>C) was suggested in many studies to impair IL-18 expression (Jang *et al.*, 2005; Xu *et al.*, 2007). This SNP was predicted to fall within a potential histone H4 gene transcription factor 1 (H4TF-1) binding site, with the C allele possibly demolishing the binding site of H4TF-1. The functional consequence of the resulting -137 haplotype is a dramatic repression of the IL-18 promoter (Naeimi *et al.*, 2006). Consistently, it was shown that this polymorphism has reached significant impact on asthma pathophysiology in German (Kruse *et al.*, 2003) and in Japanese populations (Yoshizawa *et al.*, 2002).

In the current study, we failed to detect significant associations between IL-18 (-137G>C) polymorphism and susceptibility to asthma. This is consistent with many previous studies that showed no association with asthma in many population as German (Heinzmann, 2004), Swiss (Imboden *et al.*, 2006b), and Korean populations (Lee *et al.*, 2006). Our negative association study cannot exclude the significance if IL-18 variants on the atopic diseases but might be just influenced by the opposing effects of IL-18. IL-18 represents a pleiotropic cytokine with varying and sometimes opposing effects in the pathogenesis of asthma (Liang *et al.*, 2005).

G to A single nucleotide substitution at position -384 was detected in the promoter region of eotaxin gene. This SNP has been associated with asthma and allergic phenotypes in many populations (Tsunemi *et al.*, 2002; Chang *et al.*, 2005; Raby *et al.* 2006; Batra *et al.*, 2007). The presence of -384G allele was shown to be associated with increased eotaxin expression (Raby *et al.*, 2006). Chang *et al.*, (2005) have reported that the eotaxin promoter region around -384A>G may be the binding site for a transcription factor, and the factor that binds to this locus may be a negative regulator of eotaxin expression. The presence of -384G allele seems to decrease the affinity of this DNA-binding factor and consequently increase the eotaxin expression.

In the present study we found that the frequency of asthmatic patients with the homozygous genotype for eotaxin GG was significantly higher compared with that of the controls ($P = 0.043$, OR = 3.75), also frequency of the mutant allele was significantly higher in the asthma group than in controls ($P = 0.015$, OR = 2.217). These results are in agreement with previous studies (Miyamasu *et al.*, 2001; Chang *et al.*, 2005; Batra *et al.*, 2007), and suggest that the G allele might be a risk factor for asthma in this population. However, since our sample size was relatively small, association or linkage study in larger sample size is needed to confirm the obtained results. Also, future studies should include the relatives of asthma patients to be certain the association between this SNP and the disease.

It has been previously suggested that these three SNPs (IL-4 -590C>T, IL-18 -137G>C and eotaxin A>G) contribute to susceptibility to asthma or atopic asthma. But no previous study has investigated the association of combination of these three SNPs with asthma and allergic disorders. In the present study we found some association of the genotypes combination CT GG GG with asthma in this Jordanian population. As long as this study was performed in a small population, more studies in other or larger population are needed to confirm these results.

In conclusion, the genetic study of cytokines is likely to provide relevant information on their polymorphisms and a possible relationship between these polymorphisms and diverse diseases including asthma. Our understanding of this relationship may help both to explain the biological events and to indicate to clinician's ways of predicting, preventing or managing harmful situations in diseases with immunological components. Moreover, our findings are not only of interest to asthma, but may also be of relevance to other inflammatory and autoimmune diseases. Further examination of polymorphisms in cytokine genes should enhance our understanding of the cytokine network and provides clues to the pathogenesis of multiple diseases.

References

- Arshad SH (2005) Primary prevention of asthma and allergy. *J. Allergy. Clin. Immunol.* **116**: 3-14.
- Bagheri M., Abdi-Rad I, *et al.* (2006) Heterogeneity of cytokine single-nucleotide polymorphisms among the Iranian and the other East-South Asian populations. *Transfusion. Med.* **16**: 192-199.
- Batra J, Reenu R, *et al.* (2007) A hexanucleotide repeat upstream of eotaxin gene promoter is associated with asthma, serum total IgE and plasma eotaxin levels. *J. Med. Genet.* **1**: 11-36.
- Beghe B, Bartonw S, *et al.* (2003) Polymorphisms in the interleukin-4 and interleukin-4 receptor α chain genes confer susceptibility to asthma and atopy in a Caucasian population. *Clin. Exp. Allergy.* **33**: 1111-1117.
- Boraska V, Terzic J, *et al.* (2006) NeuroD1 gene and interleukin-18 gene polymorphisms in type 1 diabetes in Dalmatian population in Southern Croatia. *Croat. Med. J.* **47**: 571-578.
- Busse WW, and Lemanske RF (2001) Asthma. *The Engl. J. Med.* **344**(5): 350-362.
- Chang HS, Kim JS, *et al.* (2005) A single nucleotide polymorphism on the promoter of *eotaxin 1* associates with its mRNA expression and asthma phenotypes. *J. Immunol.* **174**: 1525-1535
- Elliott K, Fitzpatrick E, *et al.* (2001) The -590C/T and -34C/T interleukin-4 promoter polymorphisms are not associated with atopic eczema in childhood. *J. Allergy Clin. Immunol.* **108**: 285-287.
- Hakonarson H, *et al.* (2001) Allelic frequencies and patterns of single-nucleotide polymorphisms in candidate genes for asthma and atopy in Iceland. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **164**: 2036-2044.
- Hakonarson H, Bjornsdottir US *et al.* (2002) A major susceptibility gene for asthma maps to chromosome 14q24. *Am. J. Hum. Genet.* **71**:483-491
- Heinzmann A, Gerhold K, *et al.* (2004) Association study of polymorphisms within interleukine-18 in juvenile idiopathic arthritis and bronchial asthma. *Allergy* **59**: 845-849.
- Hijazi Z, Haider MZ (2000) Interleukin-4 gene promoter polymorphism (C590T) and asthma in Kuwaiti Arabs. *Int. Arch. Allergy Immunol.* **122**: 190-194.
- Imboden M, Nicodz L, *et al.* (2006a) The common G-allele of interleukin-18 single-nucleotide polymorphism is a genetic risk factor for atopic asthma. The SAPALDIA Cohort Study. *Clin. Exp. Allergy.* **36**: 211-218.
- Imboden M, Nieters A, *et al.* (2006b) Cytokine gene polymorphisms and atopic disease in two European cohorts. (ECRHS-Basel and Sapaldia). *Clin. Molec. Allergy.* **4**:1-9.
- Jang WC, Park SB, *et al.* (2005) Interleukin-18 gene polymorphisms in Koreans patients with Behçet' s disease. *Clin. Exp. Rheumatol.* **23**: S59-S63.
- Janssen R, Grutters JC, *et al.* (2004) No association between interleukin-18 gene polymorphisms and haplotypes in Dutch sacroidosis patients. *Tiss. Antig.* **63**: 578-583.
- Kong A, Gulcher JR *et al.* (2002) A major susceptibility gene for asthma maps to chromosome 14q24. *Am. J. Hum. Genet.* **71**:483-491.
- Kruse S, Kuehr J, *et al.* (2003) Polymorphisms in the IL18 gene are associated with specific sensitization to common allergens and allergic rhinitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* **111**(1):117-122.
- Lai KC, Chen WC, *et al.* (2006) Association of genetic polymorphisms of MK, IL-4, p16, p21, p53 genes and human gastric cancer in Taiwan. *EJSO.* 1135-1140.
- Lee HM, park SA, *et al.* (2006) Interleukin-18/ -607 gene polymorphism in allergic rhinitis. *Inter. J. Ped. Otorhinolaryngol.* **70**: 1085-1088.
- Liang XH, Cheung W, *et al.* (2005) Reduced transcriptional activity in individuals with IL-18 gene variants detected from functional but not association study. *Biochem Biophy Res Commun.* **338**: 736-741.
- Miyamasu M., Saeki H. *et al.* 2001. Variations in the human CC chemokine eotaxin gene. *Genes. Immun.* **2**: 461-463.
- Mullighan CG, Marshall SE, *et al.* (1999) Variation in immunoregulatory genes determines the clinical phenotype of common variable immunodeficiency. *Genes. Immunity.* **1**: 137-148.
- Naeimi S, *et al.* (2006) Interleukin-18 gene promoter polymorphisms and recurrent spontaneous abortion. *Reprod. Biol.* **128**: 5-9.
- Nguyen DP, Genc M, *et al.* (2004) Ethnic Differences of polymorphisms in cytokine and innate immune system genes in pregnant women. *Obstetrics Gynecol.* **104**: 293-300.
- Noguchi E, Nukaga-Nichio Y *et al.* (2001) Haplotypes of the 5' region of the IL-4 gene and SNPs in the intergene sequence between the IL-4 and IL-13 genes are associated with atopic asthma. *Human Immunol.* **62**: 1251-1257.
- Palmer LJ, Cookson WO (2000) Genomic approaches to understanding asthma. *Genome Res.***10**: 1280-1287.
- Palmer LJ, Cookson WO (2001) Using single nucleotide polymorphisms as a means to understanding the pathophysiology of asthma. *Respir. Res.* **2**: 102-112.
- Peters SP (2003) Heterogeneity in the pathology and treatment of asthma. *Am. J. Med.* **115**: 49-54.
- Raby BA, *et al.* (2006). Eotaxin polymorphisms and serum total IgE levels in children with asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **117**(2): 298-305.
- Renaulds JC (2001) New insights into the role of cytokines in asthma. *J. Clin. Pathol.* **54**: 577-589.
- Rosenwasser LJ, *et al.* (1995). Promoter polymorphisms in the chromosome 5 gene cluster in asthma and atopy. *Clin Exp Allergy.* **25**: 74-78.
- Tsunemi Y, *et al.* (2002) Eotaxin gene single nucleotide polymorphisms in the promoter and exon regions are not associated with susceptibility to atopic dermatitis, but two of them in the promoter region are associated with serum IgE levels in patients with atopic dermatitis. *J. Dermatol. Sci.* **29**: 222-228.
- Walley AJ and Cookson WO (1996) Investigation of an Interleukin-4 promoter polymorphism for associations with asthma and atopy. *J. Med. Genet.* **33**:689-692.
- Xu Q, *et al.* (2007) Interleukin-18 promoter gene polymorphisms in Chinese patients with systemic lupus erythematosus: association with CC genotype at position -607. *Annals Academy Med.* **36**: 91-96.
- Yoshizawa X, Nomaguchi H, *et al.* (2002) Serum cytokine levels in atopic dermatitis. *Clin. Exp. Dermatol.* **27**: 225-229.
- Zhu S, Yeung MC, *et al.* (2000) Polymorphisms of the IL-4, TNF- α , and Fc ϵ RI β genes and the risk of allergic disorders in at-risk infants. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **161**: 1655-1659.



Résumé

L'asthme est une maladie chronique du système respiratoire qui touche toutes tranches d'âges, sa prévalence est en constante augmentation dans tous les pays du monde. Cette maladie et d'autres maladies allergiques sont dues à un déséquilibre dans les réponses immunitaires de type T-helper 1(Th1) et T-helper 2 (Th2). De nombreux polymorphismes dans divers gènes de cytokines ont été prouvés d'être associés à l'asthme et d'autres maladies inflammatoires dans plusieurs populations. Notre travail a pour but de rechercher une éventuelle association entre les polymorphismes des gènes de cytokines *IL-18* (-137G/C) (rs 187238), *IL-18* (-607C/A) (rs 1946518), *IL-4* (-590 C/T) (rs 2243250) et *IFN- γ* (+874A/T) (rs 2430561) et l'asthme dans un échantillon de la population de l'ouest Algérien (wilaya d'Oran). Ainsi, que leur association avec trois facteurs de risques de l'asthme (sexe, antécédents familiaux d'asthme et antécédents personnels allergiques). La population étudiée est composée de 176 patients d'asthme et 182 témoins sains. La détection des polymorphismes a été performée par la méthode PCR-SSP. Nos résultats ont montré qu'il existe une différence statistiquement significative dans la distribution des fréquences génotypiques et alléliques des SNPs -137G/C et -607C/A du gène *IL-18* entre les cas et les témoins ($P < 0,05$). Ces résultats suggèrent que ces deux SNPs ont une association avec l'asthme. Ces deux polymorphismes peuvent être considérés comme des marqueurs de prédisposition à l'asthme. En revanche, les polymorphismes *IL-4* (-590C/T) et *IFN- γ* (+874A/T) ne semblent pas être associés à l'asthme dans la population étudiée ($P > 0,05$). Le sexe féminin, la présence d'antécédents familiaux d'asthme et d'antécédents personnels allergiques ont un impact sur la distribution des fréquences génotypiques et alléliques de certains polymorphismes étudiés chez la population des asthmatiques. En conclusion il serait intéressant d'augmenter la taille de la population étudiée afin de confirmer nos résultats, mais aussi d'explorer d'autres polymorphismes de gènes impliqués dans la pathologie d'asthme

Mots clés:

Asthme; Cytokines; Polymorphisme; *IL-18* (-137G/C); *IL-18* (-607 A/C); *IL-4* (-590C/ T); *IFN- γ* (+874A/T); Population oranaise; SNP; Facteurs de risque.