



HAL
open science

Les polymorphismes du gène du récepteur de l'interleukine 4 : un biomarqueur pour phénotyper l'asthme du nourrisson

Colombe Roussel de Courcy Paluel-Marmont

► **To cite this version:**

Colombe Roussel de Courcy Paluel-Marmont. Les polymorphismes du gène du récepteur de l'interleukine 4 : un biomarqueur pour phénotyper l'asthme du nourrisson. Médecine humaine et pathologie. 2015. dumas-01302395

HAL Id: dumas-01302395

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01302395>

Submitted on 14 Apr 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

AVERTISSEMENT

Cette thèse d'exercice est le fruit d'un travail approuvé par le jury de soutenance et réalisé dans le but d'obtenir le diplôme d'Etat de docteur en médecine. Ce document est mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt toute poursuite pénale.

UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES
Faculté de Médecine PARIS DESCARTES

Année 2015

N° 158

THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE
DOCTEUR EN MÉDECINE

Les polymorphismes du gène du récepteur de l'interleukine 4 :
un biomarqueur pour phénotyper l'asthme du nourrisson

Présentée et soutenue publiquement
le 12 octobre 2015

Par

Colombe ROUSSEL DE COURCY PALUEL-MARMONT

Née le 23 septembre 1985 à Toulon (83)

Dirigée par Mme Le Professeur Jocelyne Just, PU-PH

Jury :

M. Le Professeur Emmanuel Grimpel, PU-PH Président

M. Le Professeur Christophe Dupont, PU-PH

Mme Le Docteur Flore Amat



Except where otherwise noted, this work is licensed under
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/>

Table des matières

TABLE DES MATIERES	2
REMERCIEMENTS	4
ABRÉVIATIONS	6
INTRODUCTION.....	7
1. L'asthme à début précoce de l'enfant : phénotypes variés de pronostics évolutifs différents	7
2. De nouveaux biomarqueurs pour classer les phénotypes de l'asthme	8
3. Objectif de l'étude	10
PREMIERE PARTIE : METHODES.....	11
1. Type d'étude	11
2. Critères d'inclusion	11
3. Critères d'exclusion	12
4. Données collectées à l'inclusion	12
5. Réduction des variables et transformation des données	14
6. Analyse statistique	15
7. Ethique	16
DEUXIEME PARTIE : RESULTATS.....	17
1. Données descriptives à l'inclusion	17
2. Phénotypes de l'asthme à l'inclusion, basés sur l'analyse en cluster	17
3. Croisement des phénotypes de l'asthme avec les facteurs environnementaux	20
4. Croisement des phénotypes de l'asthme avec les polymorphismes du gène de l'IL-4 et du gène du récepteur de l'IL-4	20

TROISIEME PARTIE : DISCUSSION	22
1. Cluster 1 : Asthme non contrôlé, non atopique	22
2. Cluster 2 : Asthme persistant léger viro-induit	23
3. Cluster 3 : Asthme allergique, à facteurs déclenchant multiples	23
4. Données environnementales	24
5. Données génétiques.....	25
6. Forces et limites de l'étude.....	29
7. Conclusion.....	30
BIBLIOGRAPHIE	31
ANNEXES.....	37

Remerciements

A mes maîtres et juges

Madame le Professeur Just,
Merci de m'avoir laissée l'opportunité de faire ce travail et d'avoir accepté de le diriger malgré une rentrée surchargée, et pour vos nombreuses relectures et corrections. Merci de tout ce que vous m'avez appris sur l'asthme, l'allergie et l'éducation thérapeutique et pour ces 6 mois passés dans votre service.

Monsieur le Professeur Grimprel,
Merci de présider ce jury et de la confiance que vous m'accordez. Merci de me permettre de faire ces deux années de clinicat dans votre service.

A Flore,
Merci mille fois pour ta disponibilité en toutes circonstances. Merci de m'avoir aidée et soutenue dans l'élaboration et l'écriture de ce travail et pour les nombreuses relectures et aide au déchiffrement des statistiques ! Merci pour ces 6 mois au Centre de l'asthme où j'ai énormément appris sur l'asthme et l'allergie à tes côtés.

A Monsieur le Professeur Dupont,
Merci de participer à ce jury et de m'avoir initiée à l'allergologie, et pour tout ce que vous m'avez appris. Merci pour votre confiance, votre patience, et votre disponibilité lors de la rédaction de mon mémoire.

A ceux ayant participé à ce travail

A Philippe Saint Pierre, pour votre immense aide dans la réalisation des statistiques et vos retours rapides et complets.

A Rémy Couderc, pour la réalisation des dosages biologiques et génétiques.

A Victoria, pour ta disponibilité et ta gentillesse. Merci de ton efficacité pour le recueil de données.

A Laurent, pour ta disponibilité, efficacité et gentillesse dans la recherche et récupération de dossiers des patients.

A toutes ces personnes rencontrées pendant mon internat, qui m'ont confortée et encouragée pendant ces années de travail

Pr Campeotto, Dr de Boissieu, Pascale et Sandrine, Nathalie Lambert, Tama Guiddir.
Mes co-internes et amis médecins: Guillaume Dorval, Pauline Tallon, Wanda Gaspard, Elsa Denis, Christine Kittirath, Aurore de Blianières, Ombeline Dorval, Domitille Camous...

A ma famille et mes amis

Tristan, pour ton aide, ton soutien, ta disponibilité, tes encouragements et ta grande efficacité dans la relecture et mise en page de tous mes travaux. Merci à toi d'avoir tant gardé Garance et Léopold, surtout pendant ces longs week-end d'hiver...

Mes enfants, Garance et Léopold pour vos sourires et le bonheur que vous me procurez. Pour votre patience malgré mes longues heures et journées d'absence à l'hôpital.

Mes parents, pour votre soutien dans ce long parcours d'études de médecine depuis le début, vos encouragements, votre confiance. Merci Maman pour la relecture et les corrections. Mes frères et sœurs pour votre soutien et votre disponibilité pour avoir tant gardé Garance et Léopold.

Mes beaux-parents pour votre soutien et disponibilité. Merci Catherine d'avoir tant gardé les enfants pour me laisser des heures entières pour travailler, merci pour votre accueil dans votre maison où j'ai pu trouver de la concentration pour travailler dans les meilleures conditions.

A mes amis, et aux « Copains Crétins » pour votre soutien et votre amitié depuis tout ce temps.

Abréviations

ARIA (The Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma)

BIOMAS (BIOMArqueurs Systémiques prédictifs de la persistance de l'asthme au cours de l'enfance)

BMI (Body Mass Indice) en kg/m^2

CRP (C- Reactive Protein)

DS (Déviation Standard)

GINA (Global Initiative National for Asthma)

Ig (Immunoglobuline)

IL-4 (Interleukine 4)

IL-4R (Récepteur de l'interleukine 4)

IL-4R α (Chaîne alpha du récepteur de l'interleukine 4)

PCR (Polymerase Chain Reaction)

SFAR (Score For Allergic Rhinitis)

SCORAD (SCORing Atopic Dermatitis)

TAP (Trousseau Asthma Programm)

Introduction

1. L'asthme à début précoce de l'enfant : phénotypes variés de pronostics évolutifs différents

L'asthme est aujourd'hui une maladie de plus en plus fréquente qui pose de réels problèmes de coûts de Santé Publique. Durant les trente dernières années, l'incidence de l'asthme a doublé dans les pays industrialisés. Elle représente actuellement environ 10% de la population générale pédiatrique (1). Les sifflements récurrents des enfants d'âge préscolaire sont le plus souvent liés à des infections virales, principalement le rhinovirus et le virus respiratoire syncytial (2). Si la majorité des nourrissons siffleurs récurrents guérissent après l'âge de 4 ans, certains vont développer un asthme dont le début précoce est souvent associé à un mauvais pronostic (3). La cohorte de Tucson a permis de décrire l'histoire naturelle de l'asthme durant la petite enfance, de la naissance à 6 ans (3). Dans cette période de suivi, trois phénotypes d'asthme chez les enfants d'âge préscolaire ont été identifiés rétrospectivement : (i) l'asthme transitoire à début précoce (ii) l'asthme à début précoce et persistant (iii) l'asthme d'apparition tardive (après l'âge de 4 ans) et persistant. Les enfants présentant un asthme précoce et persistant ont une altération de la fonction pulmonaire à 6 ans alors que leur fonction pulmonaire dans la petite enfance est comparable à celle d'enfants n'ayant jamais sifflé. La précocité de l'apparition des symptômes serait donc un facteur péjoratif dans le pronostic à moyen et long terme de la maladie.

D'autre part, le Groupe de travail de l'European Respiratory Society (4) a publié un rapport recommandant que les enfants d'âge préscolaire siffleurs récurrents soient classés comme épisodique (sifflements liés à des infections virales) ou liés à des facteurs déclenchant multiples souvent en rapport avec un phénotype plus sévère et souvent plus allergique. En effet, le mauvais pronostic de l'asthme allergique à début précoce a déjà été décrit dans de nombreuses cohortes prospectives. Ce phénotype est associé à une maladie plus sévère, mais reste de diagnostic difficile à priori (5). De plus, parmi les patients allergiques, les sensibilisations multiples, surtout vis à vis de pneumallergènes, péjorent le devenir de l'asthme (6).

Just *et al* ont décrit au sein de cohortes du *Trousseau Asthma Program* (TAP) (7), 3 phénotypes différents parmi les nourrissons “siffleurs” : l’asthme épisodique viro-induit, l’asthme atopique à facteurs déclenchant multiples et l’asthme sévère infectieux non contrôlé malgré de fortes doses de corticoïdes inhalés, de pronostic plus incertain (8). Parmi les facteurs de risque biologiques identifiés pour distinguer ces 3 phénotypes, la sensibilisation allergénique IgE médiée (surtout si elle est multiple ou déjà dirigée envers les pneumallergènes) et l’hyperéosinophilie sanguine semblaient être des biomarqueurs pronostiques discriminants (9–11). Cette même cohorte issue du TAP a été réévaluée à l’âge de 6 ans et il a été montré que ces 3 phénotypes avaient une évolution différente au cours de l’enfance (12) avec un taux de rémission nul dans le groupe d’enfants avec un asthme atopique à facteurs déclenchant multiples.

Il semble donc crucial d’identifier cette population d’enfants à risque de développer un asthme à début précoce sévère et persistant au cours de l’enfance, afin de définir des thérapies ciblées dans l’espoir de modifier l’histoire naturelle de la maladie. Toutefois à l’échelle individuelle il reste difficile de classer les patients à priori dans le phénotype correct.

2. De nouveaux biomarqueurs pour classer les phénotypes de l’asthme

Il paraît essentiel de mieux comprendre les origines de l’asthme atopique à début précoce en intégrant les connaissances issues de la physiopathologie, de l’immunologie, de la génétique, afin de corrélérer les phénotypes à des endotypes particuliers. Dans ce contexte, de nouveaux biomarqueurs biologiques ou génétiques permettraient de mieux classer les phénotypes de l’asthme et de mieux définir le pronostic de l’asthme chez les nourrissons siffleurs. Une meilleure définition des groupes de patients permettrait sans doute d’intervenir plus précocement dans l’évolution de la pathologie, en proposant une prise en charge thérapeutique personnalisée.

L’étude de marqueurs génétiques associés à l’asthme atopique pourrait ainsi être une voie de recherche intéressante.

a) Physiopathologie de l'asthme

L'asthme est une maladie inflammatoire bronchique et chronique qui résulte de la conjonction de facteurs innés (terrain génétique) et de facteurs acquis (exposition environnementale à des allergènes, des toxiques, des agents infectieux, etc). Les conséquences physiologiques de cette inflammation bronchique sont une hyperréactivité bronchique à différents stimuli et la survenue épisodique d'une limitation des débits expiratoires, réversible spontanément ou sous l'effet de substances bronchodilatatrices. L'obstruction provoquée par diminution du calibre des bronches est responsable des symptômes de l'exacerbation d'asthme dont la respiration sifflante est le symptôme le plus fréquent. Les autres signes peuvent être une toux sèche (souvent à prédominance nocturne), une dyspnée expiratoire, une oppression thoracique, une douleur abdominale... Cette réponse inflammatoire répétée va entraîner un remodelage des voies aériennes jusqu'à devenir irréversible en cas de non prise en charge (13,14).

b) Physiopathologie de l'asthme atopique

La physiopathologie de l'asthme atopique correspond à des mécanismes immunologiques particuliers, faisant intervenir des lymphocytes dits Th2, à l'origine de la production d'immunoglobulines (Ig) E spécifiques d'allergène par les lymphocytes B. Cette production d'IgE se fait par l'intermédiaire de cytokines pro-inflammatoires, telles que l'interleukine (IL) 4, et l'interleukine (IL) 13.

Parmi elles, l'IL-4 a été la première évaluée comme responsable du switch IgE. Identifiée en 1982, il s'agit d'une cytokine douée de très nombreuses propriétés biologiques. Elle est sécrétée notamment par différents types cellulaires impliqués dans l'inflammation aiguë ou chronique de type allergique (lymphocytes Th2, mastocytes et basophiles, éosinophiles). Elle est impliquée également dans la régulation de cette réponse inflammatoire par le biais de son récepteur soluble, l'IL4Rs, capable d'inhiber la différenciation des lymphocytes B et la production d'IgE. Des études en population générale ont montré une implication particulière du gène de l'IL4-R dans la genèse de l'asthme par le biais de polymorphismes particuliers.

c) L'étude génétique de l'asthme et de l'allergie, une perspective d'actualité

Il existe une contribution génétique au développement de l'asthme et des maladies allergiques, avec une part de l'héritage familial estimée entre 35 et 95% notamment dans l'asthme (15). Toutefois le risque de développer la maladie varie d'un individu à l'autre, en interaction avec l'environnement d'exposition. Identifier des gènes impliqués dans les différentes modalités d'expression de l'atopie est un des défis majeurs des dernières années. Plusieurs gènes dits « candidats » ont été identifiés : ORMDL3 corrélé au profil d'asthme de type infectieux (16), cadhérine 3 et ADAM33 en rapport avec les altérations de l'épithélium (17,18), gènes en lien avec l'immunité innée, tel que le gène codant pour le CD-14 (19), ou de l'immunité acquise Th2 (gènes codant pour l'IL-4, l'IL-13, le récepteur alpha commun à l'IL-4 et l'IL-13, IL-5 et son récepteur, IL-17) (20,21).

3. Objectif de l'étude

Dans ce contexte, il nous a paru utile d'évaluer si les différents phénotypes d'asthme à début précoce (ou du nourrisson) et particulièrement l'asthme atopique à facteurs déclenchant multiples de plus mauvais pronostic, pouvaient être corrélés à un génotype particulier de l'IL-4 ou de son récepteur, qui pourraient devenir des biomarqueurs du diagnostic de ce phénotype.

Première partie : Méthodes

1. Type d'étude

Il s'agissait d'une étude prospective mono-centrique et observationnelle, menée de décembre 2013 à juin 2015 dans le service d'Allergologie pédiatrique de l'Hôpital Trousseau (Centre de l'Asthme et des Allergies), Paris, France. Les enfants inclus dans l'étude sont issus de la cohorte BIOMAS (BIOMArqueurs Systémiques prédictifs de la persistance de l'asthme au cours de l'enfance) et ont bénéficié d'explorations standardisées au sein du *Trousseau Asthma Program* (TAP).

2. Critères d'inclusion

L'inclusion a été effectuée au cours d'une journée d'hospitalisation en hôpital de jour au Centre de l'Asthme et des Allergies de l'hôpital Trousseau. L'hospitalisation était prévue, à la demande des médecins traitants, pour le diagnostic phénotypique, la prise en charge thérapeutique et éducative de l'asthme persistant du nourrisson. Les critères d'inclusion étaient: (i) nourrissons de moins de 36 mois; (ii) présentant un asthme défini par des sifflements récurrents (c'est-à-dire ayant eu au moins trois épisodes obstructifs et sifflants dans l'année précédente) et dont le diagnostic était confirmé par un médecin pneumopédiatre; (iii) explorés suivant un mode standardisé dans le service pour le diagnostic de l'asthme (iv) à distance d'une période d'exacerbation et/ou d'une infection respiratoire aiguë (≥ 4 semaines); (v) à distance de la prise d'un traitement anti-inflammatoire non stéroïdien (systémique ou inhalé).

3. Critères d'exclusion

Les nourrissons (i) présentant une pathologie obstructive différente de l'asthme (pathologie respiratoire néonatale, mucoviscidose, maladie ciliaire, déficit immunitaire, malformation trachéo-bronchique, corps étranger) ; (ii) en exacerbation de leur asthme; (iii) avec absence de signature du consentement de participation de l'enfant par l'un des deux parents ; (iv) ou non bénéficiaire d'un régime de sécurité sociale par leurs parents, étaient exclus.

4. Données collectées à l'inclusion

Les données ont été recueillies par deux médecins et sont comparables aux données de l'étude de Just *et al* (8). Les données cliniques recueillies concernaient:

1. L'âge, le sexe, et le Body Mass Index (BMI) (poids (kg)/ taille (mètre)²).
2. L'origine géographique des parents (classée de cette manière : Europe occidentale et Afrique du Nord (Caucasien), Afrique et Antilles, et Asie) et le statut socio-économique basé sur la plus haute situation de l'un des parents (faible : employé, ouvrier, sans activité professionnelle, intermédiaire : agriculteur, exploitant, profession intermédiaire, commerçant, élevé : cadre, profession intellectuelle supérieure, commerçant) (22).
3. Un questionnaire standardisé issu de l'étude ISAAC (23,24), et de consensus nationaux et internationaux (HAS, GINA) (25–27), permettait de confirmer le diagnostic d'asthme et d'évaluer la sévérité de la maladie, classée en asthme intermittent, persistant léger, modéré, sévère (28) et son contrôle (asthme contrôlé, partiellement contrôlé, non contrôlé) (26). En cas de traitement inhalé préalable à l'inclusion, la dose quotidienne reçue de corticoïdes inhalés était également recueillie, une forte dose de corticoïdes inhalés étant définie par une dose d'équivalent-fluticasone supérieure ou égale à 250 µg par jour (8).

4. Les facteurs déclenchant des crises étaient classés comme suit : viro-induit (crise d'asthme après une rhinopharyngite uniquement et absence de symptômes entre les crises), ou à facteurs déclenchant multiples (crises d'asthme au cours d'une rhinopharyngite et symptomatique entre les épisodes avec des facteurs déclenchant tels que l'humidité, la poussière, le pollen, la pollution, la fumée de tabac, l'exercice physique) (8).
5. Les comorbidités allergiques personnelles et familiales étaient également recherchées et leur sévérité évaluée: rhinite allergique (par les scores de SFAR et d'ARIA) (24,29), eczéma (par le SCORAD) (30,31), allergie alimentaire confirmée par un allergologue (définie selon l'association de symptômes compatibles suite à l'ingestion d'un allergène alimentaire potentiel et la présence d'IgE spécifiques envers l'allergène concerné) (32).
6. Un examen clinique complet comprenant le poids, la taille et la recherche de stigmates de maladie atopique était réalisée.

Les facteurs environnementaux étaient également recueillis et recherchaient les sources potentielles d'allergie dans l'environnement des ménages : présence de moisissures (moisissures visibles, odeurs de moisi, ou les deux), la présence d'animaux à fourrure (chats, chien, rongeurs) ou de cafards dans la maison (22).

Les facteurs comportementaux évalués comprenaient la durée de l'allaitement maternel, le tabagisme durant la grossesse et le tabagisme passif (tabagisme par l'un des membres de la famille au domicile), le mode de garde durant la première année de vie (22), la proximité d'une voie à fort trafic à moins de 50 mètres, la surpopulation dans l'appartement (surface par individu au domicile inférieure ou égale à 9m²) (22).

Les données paracliniques recueillies comprenaient :

1. Les résultats de la numération formule sanguine avec dosage des polynucléaires neutrophiles.
2. Le dosage pondéral des immunoglobulines IgG, A et M (technique d'immunoturbidimétrie), de la ferritinémie, de la C-Reactive Protein (CRP) et de l' α -antitrypsinémie.

3. Les marqueurs biologiques de l'atopie, ont été dosés dans le sang périphérique et comprenaient le dosage des IgE totales (mesurées par ImmunoCAP), de l'éosinophilie sanguine (comptage cellulaire par Sysmex automatique; Roissy, France), des IgE (ImmunoCAP; PhadiaAB-Thermo Fisher Scientific; Uppsala, Suède) dirigées vis-à-vis des allergènes positifs à l'exploration cutanée allergologique, le test multi-allergénique de dépistage Phadiatop nourrisson ® (Phadia AB-Thermofisher Scientific, Uppsala, Suède). L'hyper-éosinophilie a été définie pour un taux d'éosinophiles sanguins supérieur à $470/\text{mm}^3$, comme précédemment décrit (8); une concentration d'IgE totales supérieure ou égale à 45kU/L était également considérée comme élevée (33,34).
4. Enfin, les résultats de la radiographie de thorax étaient recueillis (résultats classés en normal versus anomalies: syndrome bronchique, atélectasie, foyer alvéolaire, distension).
5. Les examens spécifiques liés à l'étude étaient l'analyse des polymorphismes des gènes de l'IL-4 et de son récepteur IL-4R. Plus particulièrement, ont été étudiés les polymorphismes rs2070874 pour l'IL-4 (35), rs1805010 pour l'exon 5 de l'IL-4R et rs1801275 pour l'exon 11 de l'IL-4R.

L'ADN du sang périphérique prélevé sur EDTA-tripotassique a été extrait à partir des leucocytes suivant des protocoles standardisés à l'aide du robot EZ1 (Qiagen ®) et de la technique EZ1®DNA Blood Kit (www.qiagen.com/handbooks). Les régions polymorphes de l'ADN génomique ont été amplifiées par PCR à l'aide d'amorces oligo-nucléotidiques spécifiques, puis séquencées par la technique de Sanger.

5. Réduction des variables et transformation des données

Les données initiales comprenaient 37 variables pour l'évaluation de routine de l'asthme chez l'enfant. Une réduction de ces variables a été réalisée pour effectuer l'analyse en cluster. Les variables qui étaient cliniquement redondantes ont été exclues ou réduites afin d'éviter les biais dans l'analyse de cluster (comme la valeur absolue du nombre de leucocytes avec les valeurs absolues du nombre de neutrophiles ou éosinophiles). Nous avons retenu une sélection de variables qui reflète les paramètres physiologiques (par exemple, le poids et la taille ont été

remplacés par le BMI, classé en 3 catégories en utilisant les valeurs seuil des 25^e et 75^e percentiles). Pour l'évaluation de l'asthme, une variable composite a été utilisée. Quatre classes ont été définies pour la sévérité : intermittent, persistant léger, persistant modéré, persistant sévère. Pour le contrôle : contrôlé, partiellement contrôlé, incontrôlé, avec ou sans doses élevées de corticoïdes inhalés. Les variables quantitatives (tels que les marqueurs biologiques inflammatoires non spécifiques) ont été transformées en variables qualitatives en utilisant les seuils du 25^e et du 75^e percentiles (voir Tableau E1 en annexe). Les paramètres environnementaux n'ont pas été inclus dans l'analyse en cluster, mais ont été croisés avec les clusters à la fin (tabac, surpopulation, voie à fort trafic à proximité, crèche, animal au domicile, présence de cafards, de moisissures), ainsi que le polymorphisme génétique de l'IL-4 et du récepteur de l'IL-4.

Au final, 19 variables ont été incluses dans l'analyse en cluster: données démographiques (genre, BMI), rhinite chronique allergique, dermatite atopique, allergie alimentaire, antécédent familial d'asthme chez les parents, facteurs déclenchant, sévérité, contrôle avec ou sans corticoïdes, les dosages sanguins suivants : polynucléaires neutrophiles et éosinophiles, IgE totales, Phadiatop, IgG, A et M, α -1-antitrypsine, ferritine, et la présence d'une anomalie du parenchyme pulmonaire à la radiographie de thorax.

6. Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été effectuées avec le logiciel R version 2.12.0 (<http://www.r-project.org>). Les données transversales des patients à l'inclusion ont été étudiées par le biais d'une analyse en cluster. Dans un premier temps, une méthode hiérarchique ascendante a été utilisée pour obtenir une classification non supervisée de la population. Cette approche qui considère que chaque sujet est un cluster consiste à les agréger successivement en des clusters plus grands. La méthode de Ward et la distance euclidienne ont été considérées (27). Le nombre de clusters retenus est déterminé par un critère statistique. Pour les variables quantitatives, l'analyse de la variance et le test de Kruskal-Wallis ont été utilisés pour mettre en évidence des différences significatives entre les clusters alors que le test du Chi-2 et le test exact de Fisher ont été considérés pour les variables qualitatives. Dans un second temps, un

arbre de décision a été construit en utilisant la méthode CART (36) et les 19 variables importantes ont été identifiées avec la méthode des forêts aléatoires (37). Cette méthode, qui est basée sur des techniques de ré-échantillonnage, est plus stable et peut être utilisée pour déterminer quelles variables jouent un rôle important dans la classification. La part d'asthme en rémission dans chacun des phénotypes initiaux est analysée par l'intermédiaire des tests du chi-2 et de Fisher.

7. Ethique

L'étude a été approuvée par le comité consultatif de protection des personnes Ile de France V le 2 avril 2013 et a reçu l'autorisation de la CNIL le 19 septembre 2013. Le consentement éclairé des titulaires de l'autorité parentale a été recueilli préalablement à chaque inclusion. Les données de l'étude ont été recueillies dans le respect de la confidentialité du dossier des patients.

Deuxième partie : Résultats

1. Données descriptives à l'inclusion

257 enfants ont été inclus dans l'étude. L'âge moyen (+/-DS) à l'inclusion était de 21 mois (+/- 8), et 163 (63,4%) étaient des garçons. Le BMI moyen (+/-DS) était de 18,3 (+/-1,1). 11 enfants (4,3%) avaient un asthme intermittent, 110 (42,8%) un asthme persistant léger, 107 (41,6%) un asthme persistant modéré et 29 (11,3%) un asthme persistant sévère. 19 enfants (7,4%), avaient un asthme non contrôlé sous fortes doses de corticoïdes inhalés. 71 enfants, (27,7%) avaient une rhinite chronique allergique, 76 enfants (29,6%) avaient une dermatite atopique et 18 enfants (7%) avaient un antécédent documenté d'au moins une allergie alimentaire. La moyenne (+/-DS) des IgE totales était de 168,3 kU/L (+/-635) et de l'éosinophilie sanguine de 266,8/mm³ (+/-238,9).

2. Phénotypes de l'asthme à l'inclusion, basés sur l'analyse en cluster

L'analyse a révélé 3 clusters d'enfants présentant des phénotypes partagés. Le dendrogramme est visible en Figure 1 en annexe. Ces clusters ont été identifiés en utilisant les 19 variables précédemment citées. On retrouve les 3 clusters décrits dans l'étude de Just *et al.* Les caractéristiques cliniques et paracliniques de chaque cluster sont retrouvées dans les Tableau I et II en annexe.

a) Cluster 1

Le cluster 1 comprenait 65 enfants, dont l'âge moyen (+/-DS) était 20,7 mois (+/-7,3), avec une majorité de garçons (n=39, soit 60%, p=0,01). Le BMI était en moyenne (+/-DS) à 16,4 (+/- 1,6), p=0,04. De même, on retrouvait plus fréquemment dans ce cluster la présence d'une anomalie radiologique (46,2%, p<0,01) par rapport aux autres clusters. Enfin, la proportion

d'enfants ayant des stigmates d'inflammation non spécifiques (ferritinémie et neutrophilie) était plus élevée : 40% ($p=0,003$) et 47,7% ($p<0,001$) au-dessus du 75^e percentile, respectivement. 45,16%, 35,48% et 46,77% avaient des IgG, A et M, respectivement, supérieures au 75^e percentile ($p<0,001$). Le dosage sanguin de l' α -1-antitrypsine était au-dessus du 75^e percentile dans 48,4% des cas ($p<0,001$). 21 enfants (31,3%) avaient une rhinite allergique, 35 enfants (53,9%) avaient une dermatite atopique et seulement 2 enfants (3,1%) avaient une allergie alimentaire ($p<0,001$). On retrouvait un antécédent parental d'asthme pour 24 enfants (36,9%). Les facteurs déclenchant des crises étaient viro-induits pour la plupart (37 enfants, 56,9%) ($p<0,001$). 12 enfants (18,5%) avaient un asthme persistant sévère (soit une proportion plus importante que dans les autres clusters : 9,2% et 8,3% respectivement dans les clusters 2 et 3), et 25 enfants (soit 38,5%) avaient un asthme modéré (soit 37 enfants, 57% avaient un asthme modéré à sévère). 9 enfants (13,9%) étaient non contrôlés sous fortes doses de corticoïdes inhalés. La moyenne (+/-DS) des IgE totales était modérément élevée à 52,6kU/L (+/-177,5). 13 enfants seulement (21,67%) avaient des IgE totales supérieures ou égales à 45kU/L ($p<0,001$). Le Phadiatop nourrisson ® était positif pour seulement 6 enfants (10,3%) et la plupart des enfants (98,3%) avait un dosage sanguin d'éosinophiles normal (inférieur à 470/mm³) ($p<0,001$). Nous avons donc repris la dénomination de ce cluster précédemment décrit « asthme sévère, non contrôlé, non allergique ».

b) Cluster 2

Le cluster 2 était le groupe le plus important, et comprenait 120 enfants. La moyenne (+/-DS) d'âge était 19,6 mois (+/-8,4). 68 (56,7%) étaient des garçons, avec un BMI plus élevé que dans les autres groupes, en moyenne (+/-DS) à 17,2 (+/-1,8). Dans ce groupe, les facteurs déclenchant des crises étaient essentiellement viro-induits ($n=104$, 86,7%, $p<0,001$). On retrouvait peu d'enfants avec une rhinite allergique (14,3%) ainsi qu'avec une dermatite atopique (9,2%) par rapport aux autres clusters. De même, l'allergie alimentaire était rare ($n=4$ soit 3,3%), $p<0,001$. Une histoire familiale d'asthme était retrouvée pour 33 enfants (27,5%). 11 enfants (9,2%) avaient un asthme persistant sévère. L'asthme était plutôt contrôlé par rapport aux autres clusters ($n=113$, 94,2%). Les marqueurs de l'inflammation non spécifiques étaient dans la normale: 56,5% des enfants avaient une neutrophilie sanguine entre le 25^e et le 50^e percentile, 51,7%, 53,5%, 53,5%, des enfants avaient respectivement des dosages d'IgG, A et M, entre le 25^e et le 50^e percentile ($p<0,001$). Les dosages de ferritinémie

et d' α -un-antitrypsine sanguine étaient entre le 25^e et le 50^e percentile dans 53,5% et 54,2% des cas, respectivement ($p=0,003$ et $p<0,001$ respectivement). Peu d'enfants avaient des stigmates biologiques d'atopie : les IgE totales étaient relativement basses, 43,2 kU/L (+/- 172,9) en moyenne (+/-DS), avec 87,7% des enfants ayant un dosage d'IgE totales normal ($<45\text{kU/L}$), $p<0,001$. Le Phadiatop nourrisson® était négatif pour 108 enfants (88,6%, $p<0,001$) et le dosage d'éosinophiles sanguins était normal dans la majorité des cas (88,6%, $p<0,001$). 91 enfants (75,8%) avaient une radiographie de thorax normale ($p<0,01$), ce qui était plus fréquent que dans les autres clusters. Nous avons donc retrouvé le cluster précédemment décrit « asthme léger, viro-induit ».

c) Cluster 3

Le cluster 3 comprenait 72 enfants, dont l'âge moyen (+/-DS) était 23,7 mois (+/-7,4). Il y avait une majorité de garçons : 56 soit 77,8%, avec un BMI en moyenne (+/- DS) à 16,8 (+/- 2,1). Dans ce groupe, le terrain atopique était marqué, puisque 33 enfants (45,8%) avaient une rhinite allergique ($p<0,001$), 30 enfants (41,7%) avaient une dermatite atopique ($p<0,001$), et 12 enfants (16,7%) avaient une allergie alimentaire ($p<0,001$), donc présentes de manière nettement plus fréquente que dans les autres clusters. Une histoire parentale d'asthme était retrouvée pour 26 enfants (36,1%). Les facteurs déclenchant des crises étaient viro-induits pour 41 enfants (56,9%) et multiples pour 31 (43,1%) $p<0,001$. 6 enfants (8,3%) avaient un asthme persistant sévère. Seulement 3 enfants (4,2%) avaient un asthme non contrôlé sous fortes doses de corticoïdes inhalés. Une plus grande proportion d'enfants avait des éosinophiles élevés par rapport aux autres clusters (29 enfants, soit 43,9%, $p<0,001$). La moyenne (+/-DS) des IgE totales était élevée: 445,3 kU/L (+/- 1094,4), avec 61 enfants (88,4%, $p<0,001$) qui avaient des IgE totales supérieures ou égales à 45kU/L. Le Phadiatop était positif pour la majorité des enfants (47 enfants, 69,1%, $p<0,001$). Les marqueurs inflammatoires non spécifiques étaient relativement élevés, avec 36,8% des enfants ayant une neutrophilie sanguine au-delà du 75^e percentile ($p<0,001$), 26,9% une ferritinémie au-delà du 75^e percentile ($p=0,003$), 41,4%, 38,6%, 31,4% ayant des IgG, A, M, respectivement, au-delà du 75^e percentile ($p<0,001$). 48 enfants (66,7%) avaient une radiographie de thorax normale ($p<0,01$). Nous avons appelé ce cluster : « asthme allergique à facteurs déclenchant multiples ».

3. Croisement des phénotypes de l'asthme avec les facteurs environnementaux

Les associations entre les phénotypes et les facteurs environnementaux sont reportées dans le Tableau III en annexe. Seul, l'allaitement maternel est associé de manière significative à un cluster : la durée la plus longue d'allaitement maternel exclusif dont la moyenne (+/-DS) était 5,6 mois (+/-6,1) était associée au cluster 3 ($p=0,00072$). Les autres paramètres environnementaux ne sont pas associés significativement à un cluster en particulier. Le tabagisme passif était présent chez 47,7% des enfants dans le cluster 1, 37,5% dans le cluster 2, 37,5% dans le cluster 3. Le tabagisme pendant la grossesse était présent chez 25%, 18,4% et 19,4% des enfants, respectivement dans les clusters 1, 2 et 3. La fréquentation d'une crèche dans la première année de vie était comparable dans les trois clusters: respectivement 58,5%, 50% et 59,7% des enfants dans les clusters 1, 2 et 3. La présence de blattes et de moisissures étaient comparables, respectivement: 7,7% et 29,2% dans le cluster 1, 4,2% et 21,7% dans le cluster 2, 11,1% et 36,1% dans le cluster 3. La présence d'un animal à fourrure au domicile ne montrait pas plus d'association significative d'un cluster à l'autre : 21,5% dans le cluster 1, 14,2% dans le cluster 2 et 8,3% dans le cluster 3 ($p=0,089$). La proximité d'une voie à fort trafic ne différait pas non plus dans les trois clusters : 29,2% dans le cluster 1, 32,5% dans le cluster 2, 36,1% dans le cluster 3. Le nombre d'enfants vivant dans un appartement surpeuplé était comparable dans les trois clusters, respectivement : 9,2%, 10% et 16,7% dans les clusters 1, 2 et 3 ($p=0,29$). Le statut socio-économique était également comparable : faible statut, respectivement 48,4%, 41,2% et 56,9% dans les clusters 1, 2 et 3, statut intermédiaire, respectivement 26,6%, 27,7%, 20,8% dans les clusters 1, 2 et 3 et statut élevé, respectivement 25%, 31,% et 22,2% dans les clusters 1, 2 et 3 ($p=0,32$).

4. Croisement des phénotypes de l'asthme avec les polymorphismes du gène de l'IL-4 et du gène du récepteur de l'IL-4

Les polymorphismes du gène de l'IL-4 (rs2070874) n'a pas été retrouvé de manière significative dans l'un des clusters.

Pour le polymorphisme du gène de l'exon 11 de l'IL-4R (rs1801275), il y avait plus d'enfants avec un polymorphisme dans le cluster 3 (45,3%) par rapport aux deux autres clusters (respectivement 39,1% et 33,3% dans les clusters 1 et 2) et il y avait plus d'enfants avec 2 polymorphismes également dans le cluster 3, contrairement aux deux autres clusters (respectivement 6,5% et 11,1% dans les clusters 1 et 2). Cette différence était significative: $p=0,028$.

Le polymorphisme du gène de l'exon 5 (rs1805010) de l'IL-4R n'a pas été retrouvé de manière significative dans l'un des clusters ($p=0,5$).

Les résultats sont visibles dans le Tableau IV en annexe.

Troisième partie : Discussion

Nous avons retrouvé, comme précédemment décrit, 3 clusters différents qui regroupaient chacun un phénotype d'asthme de l'enfant de moins de 3 ans. 2 phénotypes d'asthme sévère, correspondant à « asthme atopique à facteurs déclenchant multiples », et « asthme non contrôlé non atopique » en comparaison à « asthme viro-induit », de manière parfaitement comparable à l'analyse en cluster de l'étude Just *et al*, JACI, 2012.

1. Cluster 1 : Asthme non contrôlé, non atopique

Le cluster 1 était marqué par un asthme léger à modéré pour la majorité des enfants (78,5%), mais il semble que la sévérité de l'asthme était plus marquée dans le cluster équivalent de l'étude Just *et al*, JACI, 2012 (où 91% des enfants avaient un asthme modéré à sévère). Ce groupe était également marqué par une élévation des marqueurs non spécifiques de l'inflammation (IgG, ferritinémie, α -1-antitrypsine sanguine, neutrophilie sanguine) comme dans l'étude de Just *et al*. Les marqueurs non spécifiques de l'inflammation ont été évalués car les résultats de l'étude au sein du TAP montraient qu'ils pouvaient être discriminants pour ce phénotype (38). Ce cluster ne présentait pas autant d'enfants avec un parent avec un antécédent d'asthme comme dans l'étude de Just *et al*: 36,9% versus 46%. Une étude rapporte qu'il y a des effets des antécédents parentaux d'asthme sur le développement de l'asthme chez l'enfant, indépendamment du statut allergique (39). L'association de ce cluster avec la fréquentation d'une crèche collective n'a pas été retrouvée.

2. Cluster 2 : Asthme persistant léger viro-induit

Ce cluster regroupait le nombre le plus important de patients (n=120) par rapport aux autres clusters (ce qui correspond à la part importante de l'asthme du nourrisson viro-induit dans la population pédiatrique préscolaire (2) et est comparable au cluster équivalent de l'étude Just *et al*). Les facteurs déclenchant étaient pour 86,7% (p<0,001) viro-induits. Les marqueurs inflammatoires restaient entre le 25^e et le 75^e percentile. Ce cluster avait le plus important nombre de patients avec une radiographie de thorax normale (75,8%) ce qui était comparable aux données de l'article de Just *et al*, JACI 2012.

3. Cluster 3 : Asthme allergique, à facteurs déclenchant multiples

Le cluster 3 rassemblait les phénotypes d'asthme allergique. Il comprenait une majorité de garçons (77,8% avec p<0,01) ce qui correspondait au profil atopique et ce résultat avait déjà été observé dans des études précédentes (Just *et al*, JACI, 2012). Ce phénotype était marqué par des facteurs déclenchant multiples (pour 43,1%) mais de manière moins prononcée que dans l'étude de Just *et al*, puisque la part des facteurs multiples était de 68%. Cet « asthme allergique » était, pour 55,6% des enfants, modéré à sévère. L'association retrouvée entre la sévérité de l'asthme et son caractère atopique a déjà été décrit dans des études précédentes.

Dans une étude prospective de patients allemands, l'eczéma qui était associé à des mutations provoquant une perte de fonction de la filaggrine et à la sensibilisation aux allergènes alimentaires augmentait le risque d'asthme sévère, et était caractérisé par des diminutions significatives de la fonction pulmonaire à la puberté (40). Les premières manifestations de rhinite allergique peuvent apparaître à l'âge préscolaire (41) et semblent prédire le développement de l'asthme entre 5 et 13 ans (42). Les comorbidités allergiques, comme l'allergie alimentaire, étaient plus fréquemment observées chez les patients souffrant d'asthme aigu sévère qui avaient recours à une prise en charge aux urgences ou en soins intensifs (43,44).

Ce cluster est également caractérisé par une inflammation non spécifique (ces patients sont susceptibles d'avoir des niveaux accrus d'IgG et IgA et des anomalies pulmonaires à la radiographie de thorax). On en sait peu sur l'association entre l'asthme allergique et les marqueurs d'inflammation non spécifiques. En outre, indépendamment de la sensibilisation aux IgE, les moisissures et l'humidité peuvent favoriser la croissance des bactéries et acariens, qui libèrent des composés qui irritent les voies respiratoires et causent une inflammation non spécifique (45). L'exposition aux cafards augmente le risque de crise d'asthme récurrente, surtout chez les enfants allergiques (5 fois chez les enfants sensibilisés à un allergène alimentaire ou un aéro-allergène et près de 2 fois chez un nourrisson non sensibilisé) (46–48).

L'association entre la présence de cafards et l'asthme allergique n'a pas été retrouvée dans l'étude, contrairement à celle de Just *et al.*

4. Données environnementales

Les facteurs environnementaux ne semblaient pas se différencier dans les différents clusters en dehors de la durée de l'allaitement maternel. Les enfants allaités le plus longtemps (en moyenne (+/-DS) 5,6 mois (+/- 6,1)) se retrouvaient dans le cluster 3: l'asthme allergique, à facteurs déclenchant multiples ($p=0,00072$). L'effet de l'allaitement sur le développement de l'asthme est controversé. Sears *et al.* ont constaté que la prévalence de l'atopie et de l'asthme augmente avec la durée de l'allaitement maternel, indépendamment de l'histoire familiale d'asthme et de rhinite allergique (49). Kuyucu *et al.* ont associé la durée de l'allaitement et de la présence d'atopie chez les enfants avec le statut atopique des mères; le risque d'atopie chez les enfants diminuait seulement si les mères non atopiques allaitaient leurs enfants sur une longue période de temps (50). L'association entre la durée de l'allaitement maternel et le cluster atopique à facteurs déclenchant multiples est retrouvée dans notre étude, comme dans celle de Just *et al.* Dans notre population d'étude, la confusion pourrait être expliquée par l'impact du statut socio-économique et la maladie atopique présente chez les mères, plutôt que la durée de l'allaitement maternel. Il y a possibilité d'un biais quant à l'association de la plus longue durée d'allaitement dans le cluster des atopiques : en effet, il est possible que dans ce groupe

composé pour une grande partie, d'enfants allergiques, l'allaitement maternel a été prolongé à visée préventive ou thérapeutique.

Dans les données environnementales, les autres facteurs ne se différenciaient pas d'un cluster à l'autre. Cependant, on observe une tendance pour la présence de moisissures au domicile dans le cluster 3 « asthme allergique à facteurs déclenchant multiples » pour 36,1% des enfants (mais ce résultat n'était pas significatif: $p=0,09$).

Dans cette étude, la fréquentation de la crèche ne ressort pas comme un facteur discriminant pour l'un des clusters, alors que dans l'étude de Just *et al*, la fréquentation de la crèche était associée de manière significative au cluster « non allergique, non contrôlé ». La fréquentation de la crèche collective peut majorer l'exposition des jeunes enfants aux agents infectieux. L'exposition microbienne pourrait, paradoxalement, protéger contre un asthme atopique, et est un facteur de risque pour l'asthme non atopique. L'inflammation des voies aériennes d'origine microbienne induit un asthme incontrôlé et résistant aux corticoïdes (51).

Certaines recherches disent que les infections respiratoires persistantes contribuent au développement intrinsèque de l'asthme (52). Pour notre cas, peut être que l'absence d'association significative est expliquée par un trop faible nombre de patients : 257 versus 551.

5. Données génétiques

La présence d'un ou deux polymorphismes au niveau de l'exon 11 du gène du récepteur de l'IL4 a été retrouvée avec une différence significative pour un plus grand nombre de patients dans le cluster 3 : « asthme allergique à facteurs déclenchant multiples » avec 45,3% des enfants ayant un polymorphisme et 22,6% des enfants ayant deux polymorphismes pour ce gène, avec $p=0,028$. La présence d'un ou deux polymorphismes de ce gène peut donc avoir un effet sur le caractère allergique de l'asthme.

L'IL-4, par sa liaison avec son récepteur IL-4R, est l'une des cytokines les plus importantes impliquées dans la régulation de la production d'IgE associée à des maladies atopiques, en particulier dans l'asthme. Elle est impliquée dans l'inflammation aiguë ou chronique de type allergique et également dans la régulation de cette réponse inflammatoire par le biais de son

récepteur soluble, l'IL-4Rs, capable d'inhiber la différenciation des lymphocytes B et la production d'IgE. De nombreux polymorphismes ont été identifiés dans la région codante de la chaîne alpha du récepteur de l'IL-4 (IL4R α) et un certain nombre d'études épidémiologiques génétiques ont identifié une association entre les polymorphismes du gène de l'IL-4 et l'IL-4R et l'asthme dans différentes populations. Cependant, ces études ont montré des résultats contradictoires.

a) Polymorphismes du gène de l'IL-4

rs2070874 : polymorphisme de l'IL-4 recherché dans notre étude.

Le polymorphisme rs2070874 du gène de l'IL-4 a été recherché dans notre étude mais aucun résultat significatif n'a permis de l'associer à l'un des 3 clusters analysés ($p=0,27$).

Dans une étude menée par Zhu *et al*, le polymorphisme rs2070874 de l'IL-4 était associé à l'asthme. Le résultat significatif obtenu à partir d'analyse en sous-groupe chez les asiatiques ($p=0,02$) (53). Cette différence peut être expliquée par la différence ethnique. En effet, la population asiatique est peu représentative de notre cohorte.

Une méta-analyse, menée par Liu *et al*, a été réalisée pour évaluer l'association entre un polymorphisme de l'IL-4 et le développement d'un asthme. Une association significative entre le polymorphisme rs2070874 pour l'IL-4 et une sensibilité à l'asthme (OR=1,16 ; IC à 95% [1,05-1,28], $p=0,005$) était retrouvée. Une analyse en sous-groupe sur l'ethnie, retrouvait une association significative chez les caucasiens (OR=1,71; IC à 95% [1,14-2,57], $p=0,04$) et chez les asiatiques (OR=1,14; IC à 95% [1,01-1,28], $p=0,04$) mais pas chez les afro-américains. Aucune association significative n'était retrouvée chez les patients avec un asthme atopique ($p=0,54$) ni ceux avec un asthme non allergique ($p=0,42$). Dans l'analyse faite selon l'âge, un risque accru d'asthme était retrouvé chez les enfants (OR=1,28 ; IC à 95% [1,01-1,63, $p=0,04$]) mais pas chez les adultes. Les résultats de cette méta-analyse suggèrent que le polymorphisme rs2070874 de l'IL-4 est un facteur de risque d'asthme mais ne retrouvent pas de lien avec un asthme atopique (35). Résultats visibles dans le Tableau Va en annexe.

rs2243250 : polymorphisme du gène de l'IL-4 non recherché dans notre étude.

Selon Zhu *et al*, le polymorphisme rs2243250 était également associé à l'asthme et de manière plus importante dans les groupes « caucasiens » et « adultes » ($p=0,003$) (53), mais ce polymorphisme n'a pas été recherché dans notre étude.

Une Méta-analyse de 2008 menée par Li *et al*, a étudié l'association entre les polymorphismes C-589T (rs2243250) du gène du promoteur de l'IL-4 et l'asthme. Cette méta-analyse indique qu'il peut y avoir un effet important de polymorphismes nucléotidiques simples (SNP) dans la région du promoteur du gène de l'IL-4 sur la pathogenèse de l'asthme atopique ($p=0,002$) (54). Résultats visibles dans le tableau Vb en annexe.

rs2227284 : polymorphisme du gène de l'IL-4 non recherché dans notre étude.

Basehore MJ *et al*, ont dirigé une autre étude en 2004, visant à identifier les polymorphismes du gène de l'IL-4 dans des populations d'ethnies différentes pour rechercher une association entre les taux d'IgE sériques et l'asthme allergique. Après une évaluation génétique complète, les données ont suggéré que l'haplotype G/T3017 identifié (rs2227284), influe sur les taux d'IgE sériques de manière significative ($p=0,0008$) (55).

D'autres études ont montré des associations entre des polymorphismes de gènes et l'asthme en fonction de son niveau de contrôle. Notamment, certaines ont montré que le polymorphisme de IL-4 était associé à un phénotype d'asthme de type allergique.

Une étude de 2013 a analysé les polymorphismes génétiques de l'IL-4 et IL-10 dans l'asthme bronchique sévère allergique de l'enfant. 50 enfants avec un asthme bronchique contrôlé et 50 autres avec un asthme bronchique incontrôlé ont été analysés dans une population d'enfants russes (caucasiens). L'allèle T-590 du gène de l'IL-4, qui est responsable d'une augmentation du taux sérique de l'IL-4, a montré une association avec l'asthme incontrôlé ($p=0,015$). L'étude a montré que les enfants avec un asthme incontrôlé avaient un nombre plus importants de cellules CD3+ et une augmentation de la sous-population de cellules CD 4+ ainsi que des niveaux plus élevés d'IgE, d'IL-4 et TNF- α dans le sérum sanguin par rapport à un asthme contrôlé. Les polymorphismes des gènes IL-4 et IL-10 sont associés à l'inflammation allergique chez les enfants avec un asthme bronchique sévère incontrôlé (56). Cette étude a été réalisée dans une population russe homogène, ce qui explique peut-être une différence de résultat avec notre cohorte BIOMAS dans laquelle les caucasiens représentaient en moyenne 81,7% des enfants. Résultats visibles dans le tableau Vb en annexe.

b) Polymorphismes du gène de l'IL-4R

rs1801275 : polymorphismes du gène du récepteur de l'IL-4 recherché dans notre étude.

Dans notre étude le polymorphisme rs1801275 (au niveau de l'exon 11) était associé de manière significative à l'asthme allergique ($p=0,03$). Ce résultat a également été retrouvé dans la littérature. En effet, Zhu *et al*, ont montré l'association entre rs1801275 et l'asthme, avec des résultats significatifs obtenus à partir de l'analyse en sous-groupe chez les asiatiques ($p=0,02$). Ils ont également montré l'existence d'une association entre le polymorphisme rs1805011 de l'IL-4R (exon 11) et l'asthme, avec $p=0,02$ dans un sous-groupe de patients asiatiques (53).

Une autre étude (Bottema *et al*, 2010) a analysé les associations entre les polymorphismes du gène de l'IL-4R (également au niveau de l'exon 11), et a montré que les polymorphismes rs1805011 et rs1805013 étaient associés à l'asthme. Cet effet était augmenté quand les patients étaient également porteurs de polymorphismes de gène de l'IL13 (57). En revanche, cette étude ne montrait pas d'association significative ($p=0,78$) entre les patients asthmatique et le polymorphisme rs1801275 que nous avons retrouvé. L'étude a été réalisée chez une population caucasienne (allemande) donc comparable pour l'ethnie à la nôtre, mais chez de jeunes adultes et non des nourrissons. Résultats visibles dans le tableau Vc en annexe.

rs1805010 : polymorphisme du gène du récepteur de l'IL-4 recherché dans notre étude.

D'autres polymorphismes de gènes de ce récepteur ont été étudiés. Dans notre étude, le polymorphisme du gène de l'exon 5 (rs1805010) de l'IL-4R n'a pas montré d'association significative pour l'un des phénotypes d'asthme ($p=0,5$). Bottema *et al*, ont également étudié ce polymorphisme, mais ils ne retrouvaient pas d'association significative ($p=0,48$) avec l'asthme.

Une étude de 2004 a analysé les polymorphismes de l'IL-4 et de son récepteur et leur association avec l'atopie et les IgE dans l'enfance. Les polymorphismes A148G, T1432C et A1652G, situés dans la région codante de l'IL-4R α , ont été sélectionnés pour des études d'association et des haplotypes dans un large échantillon de la population allemande ($n=1120$). Le polymorphisme T1432C a montré un effet protecteur contre la rhinite atopique (OR=0,52; IC à 95% [0,26-1,02], $p=0,05$). Lorsqu'ils étaient recherchés, un haplotype était significativement associé à des niveaux élevés d'IgE sériques au 50^e percentile (OR=1,60; IC

à 95% [1,08-2,37], $p=0,02$). Ces données indiquent que les polymorphismes du gène de l'IL-4R α peuvent avoir une influence sur la production des IgE et donc de l'atopie (58).

Une autre étude (Béghé *et al*, 2003) s'est intéressée au rôle de 4 polymorphismes communs du gène de l'IL-4 et de l'IL-4R α dans le développement de l'atopie et de l'asthme. L'analyse des haplotypes a montré une forte association entre l'haplotype 34T/-589T de l'IL-4 et de l'asthme ($p=0,041$), et une forte association entre l'haplotype I50/Q576 de l'IL-4R α et l'asthme atopique ($p=0,006$). Les données ont suggéré que les polymorphismes des gènes de l'IL-4 et l'IL-4R α pourraient jouer un rôle à la fois sur la sensibilité et la modulation de la gravité et de l'atopie dans l'asthme (59). Résultats visibles dans le tableau Vd en annexe.

Ces études renforcent notre résultat quant au fait que le polymorphisme retrouvé a un effet sur le caractère allergique de l'asthme du nourrisson. Ce résultat est important car le fait d'être porteur de ce ou ces polymorphismes est discriminant pour les asthmes atopiques qui sont les plus sévères et dont le pronostic est le plus mauvais.

6. Forces et limites de l'étude

Une des forces de l'étude est que nous avons évalué une large cohorte de nourrissons sévèrement malades, par la méthode d'analyse en cluster, ce qui nous a permis d'identifier différents phénotypes sans classification à priori, et de tester la stabilité des clusters. De plus la reproductibilité des résultats est une force également puisque la description des trois clusters retrouvés correspond parfaitement à ceux retrouvés par Just *et al*, dans la cohorte du TAP. Leurs caractéristiques sont nettement comparables. Ces phénotypes retrouvés, dans une cohorte semblable à l'inclusion, confortent donc les résultats antérieurs.

Les limites de l'étude, étaient qu'il s'agissait d'une étude transversale mono-centrique avec une population inclue majoritairement caucasienne (78,6% des enfants inclus) mais pas uniquement, ce qui pourrait créer des biais de reproductibilité car elle n'est pas parfaitement comparable avec la population générale.

7. Conclusion

Notre étude a retrouvé la répartition dans une population de 257 nourrissons asthmatiques de 3 clusters qui sont « asthme non atopique, non contrôlé », « asthme persistant léger viro-induit » et « asthme allergique à facteur déclenchant multiple » confortant les études précédentes (3,8,61).

La présence significative d'un ou deux polymorphismes du gène du récepteur de l'IL-4 retrouvée au sein du cluster « asthme allergique à facteurs déclenchant multiples » » renforce le fait que le récepteur de l'IL-4 peut être considéré comme un biomarqueur de l'asthme allergique.

Etant donné le mauvais pronostic de ce phénotype d'asthme, et sa persistance chez les patients atteints, nous pouvons supposer qu'un tel marqueur peut être recherché à priori, afin de mieux caractériser l'asthme chez le nourrisson et d'établir une thérapeutique adaptée et personnalisée.

Des études sont nécessaires pour confirmer ce résultat, en terme de sensibilité et de spécificité de biomarqueur, pour le diagnostic de ce phénotype à risque d'asthme persistant.

Bibliographie

1. Lowe L, Custovic A, Woodcock A. Childhood asthma. *Curr Allergy Asthma Rep.* mars 2004;4(2):159-65.
2. Midulla F, Pierangeli A, Cangiano G, Bonci E, Salvadei S, Scagnolari C, et al. Rhinovirus bronchiolitis and recurrent wheezing: 1-year follow-up. *Eur Respir J.* févr 2012;39(2):396-402.
3. Martinez FD, Wright AL, Taussig LM, Holberg CJ, Halonen M, Morgan WJ. Asthma and wheezing in the first six years of life. The Group Health Medical Associates. *N Engl J Med.* 19 janv 1995;332(3):133-8.
4. Brand PLP, Baraldi E, Bisgaard H, Boner AL, Castro-Rodriguez JA, Custovic A, et al. Definition, assessment and treatment of wheezing disorders in preschool children: an evidence-based approach. *Eur Respir J.* oct 2008;32(4):1096-110.
5. Zeiger RS, Dawson C, Weiss S. Relationships between duration of asthma and asthma severity among children in the Childhood Asthma Management Program (CAMP). *J Allergy Clin Immunol.* mars 1999;103(3 Pt 1):376-87.
6. Simpson A, Tan VYF, Winn J, Svensén M, Bishop CM, Heckerman DE, et al. Beyond atopy: multiple patterns of sensitization in relation to asthma in a birth cohort study. *Am J Respir Crit Care Med.* 1 juin 2010;181(11):1200-6.
7. Just J, Saint Pierre P, Amat F, Gouvis-Echraghi R, Lambert-Guillemot N, Guiddir T, et al. What lessons can be learned about asthma phenotypes in children from cohort studies? *Pediatr Allergy Immunol Off Publ Eur Soc Pediatr Allergy Immunol.* juin 2015;26(4):300-5.
8. Just J, Gouvis-Echraghi R, Couderc R, Guillemot-Lambert N, Saint-Pierre P. Novel severe wheezy young children phenotypes: boys atopic multiple-trigger and girls nonatopic uncontrolled wheeze. *J Allergy Clin Immunol.* juill 2012;130(1):103-10.e8.
9. Antó JM, Pinart M, Akdis M, Auffray C, Bachert C, Basagaña X, et al. Understanding the complexity of IgE-related phenotypes from childhood to young adulthood: a Mechanisms of the Development of Allergy (MeDALL) seminar. *J Allergy Clin Immunol.* avr 2012;129(4):943-54.e4.
10. Guilbert TW, Morgan WJ, Zeiger RS, Bacharier LB, Boehmer SJ, Krawiec M, et al. Atopic characteristics of children with recurrent wheezing at high risk for the development of childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol.* déc 2004;114(6):1282-7.
11. Simpson A, Soderstrom L, Ahlstedt S, Murray CS, Woodcock A, Custovic A. IgE antibody quantification and the probability of wheeze in preschool children. *J Allergy Clin Immunol.* oct 2005;116(4):744-9.

12. Just J, Saint-Pierre P, Gouvis-Echraghi R, Boutin B, Panayotopoulos V, Chebahi N, et al. Wheeze phenotypes in young children have different courses during the preschool period. *Ann Allergy Asthma Immunol Off Publ Am Coll Allergy Asthma Immunol*. oct 2013;111(4):256-61.e1.
13. Bousquet J, Jeffery PK, Busse WW, Johnson M, Vignola AM. Asthma. From bronchoconstriction to airways inflammation and remodeling. *Am J Respir Crit Care Med*. mai 2000;161(5):1720-45.
14. Cohn L, Elias JA, Chupp GL. Asthma: mechanisms of disease persistence and progression. *Annu Rev Immunol*. 2004;22:789-815.
15. Ober C, Yao T-C. The genetics of asthma and allergic disease: a 21st century perspective. *Immunol Rev*. juill 2011;242(1):10-30.
16. Çalışkan M, Bochkov YA, Kreiner-Møller E, Bønnelykke K, Stein MM, Du G, et al. Rhinovirus wheezing illness and genetic risk of childhood-onset asthma. *N Engl J Med*. 11 avr 2013;368(15):1398-407.
17. Bønnelykke K, Sleiman P, Nielsen K, Kreiner-Møller E, Mercader JM, Belgrave D, et al. A genome-wide association study identifies CDHR3 as a susceptibility locus for early childhood asthma with severe exacerbations. *Nat Genet*. janv 2014;46(1):51-5.
18. Liu Y, Wang Z-H, Zhen W, Lu S-J, Liu Z, Zou L-Y, et al. Association between genetic polymorphisms in the ADAM33 gene and asthma risk: a meta-analysis. *DNA Cell Biol*. nov 2014;33(11):793-801.
19. Sahiner UM, Semic-Jusufagic A, Curtin JA, Birben E, Belgrave D, Sackesen C, et al. Polymorphisms of endotoxin pathway and endotoxin exposure: in vitro IgE synthesis and replication in a birth cohort. *Allergy*. déc 2014;69(12):1648-58.
20. Schieck M, Sharma V, Michel S, Toncheva AA, Worth L, Potaczek DP, et al. A polymorphism in the TH 2 locus control region is associated with changes in DNA methylation and gene expression. *Allergy*. sept 2014;69(9):1171-80.
21. Lluís A, Ballenberger N, Illi S, Schieck M, Kabesch M, Illig T, et al. Regulation of TH17 markers early in life through maternal farm exposure. *J Allergy Clin Immunol*. mars 2014;133(3):864-71.
22. Herr M, Just J, Nikasinovic L, Foucault C, Le Marec A-M, Giordanella J-P, et al. Risk factors and characteristics of respiratory and allergic phenotypes in early childhood. *J Allergy Clin Immunol*. août 2012;130(2):389-96.e4.
23. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. *Lancet Lond Engl*. 25 avr 1998;351(9111):1225-32.

24. Annesi-Maesano I, Didier A, Klossek M, Chanal I, Moreau D, Bousquet J. The score for allergic rhinitis (SFAR): a simple and valid assessment method in population studies. *Allergy*. févr 2002;57(2):107-14.
25. Recommandations HAS. Asthme de l'enfant de moins de 36 mois: diagnostic, prise en charge et traitement en dehors des épisodes aigus.
26. GINA Report, Global Strategy for Asthma Management and Prevention | Documents / Resources | GINA [Internet]. [cité 4 sept 2015]. Disponible sur: <http://www.ginasthma.org/documents/4>
27. Kaufman L, Rousseeuw PJ. *Finding Groups in Data: An Introduction to Cluster Analysis*. 1 edition. Hoboken, N.J: Wiley-Interscience; 2005. 368 p.
28. National Asthma Education and Prevention Program. Expert Panel Report 3 (EPR-3): Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma-Summary Report 2007. *J Allergy Clin Immunol*. nov 2007;120(5 Suppl):S94-138.
29. Brozek JL, Bousquet J, Baena-Cagnani CE, Bonini S, Canonica GW, Casale TB, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines: 2010 revision. *J Allergy Clin Immunol*. sept 2010;126(3):466-76.
30. Gelmetti C, Colonna C. The value of SCORAD and beyond. Towards a standardized evaluation of severity? *Allergy*. août 2004;59 Suppl 78:61-5.
31. Amat F, Saint-Pierre P, Bourrat E, Nemni A, Couderc R, Boutmy-Deslandes E, et al. Early-onset atopic dermatitis in children: which are the phenotypes at risk of asthma? Results from the ORCA cohort. *PloS One*. 2015;10(6):e0131369.
32. Skripak JM, Matsui EC, Mudd K, Wood RA. The natural history of IgE-mediated cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol*. nov 2007;120(5):1172-7.
33. Just J, Deslandes-Boutmy E, Amat F, Desseaux K, Nemni A, Bourrat E, et al. Natural history of allergic sensitization in infants with early-onset atopic dermatitis: results from ORCA Study. *Pediatr Allergy Immunol Off Publ Eur Soc Pediatr Allergy Immunol*. nov 2014;25(7):668-73.
34. Just J, Nicoloyanis N, Chauvin M, Pribil C, Grimfeld A, Duru G. Lack of eosinophilia can predict remission in wheezy infants? *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. mai 2008;38(5):767-73.
35. Liu Y, Zhuo A, Liu W, Xu S, Li S. The -33C/T polymorphism in the interleukin 4 gene is associated with asthma risk: a meta-analysis. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2014;24(2):114-21.
36. Breiman L, Friedman J, Stone CJ, Olshen RA. *Classification and Regression Trees*. 1^{re} éd. Chapman and Hall; 1984. 368 p.
37. Breiman L. Random Forests. *Mach Learn*. oct 2001;45(1):5-32.

38. Just J, Gouvis-Echraghi R, Rouve S, Wanin S, Moreau D, Annesi-Maesano I. Two novel, severe asthma phenotypes identified during childhood using a clustering approach. *Eur Respir J*. juill 2012;40(1):55-60.
39. Kurukulaaratchy RJ, Karmaus W, Raza A, Matthews S, Roberts G, Arshad SH. The influence of gender and atopy on the natural history of rhinitis in the first 18 years of life. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. juin 2011;41(6):851-9.
40. Marenholz I, Kerscher T, Bauerfeind A, Esparza-Gordillo J, Nickel R, Keil T, et al. An interaction between filaggrin mutations and early food sensitization improves the prediction of childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol*. avr 2009;123(4):911-6.
41. Herr M, Clarisse B, Nikasinovic L, Foucault C, Le Marec A-M, Giordanella J-P, et al. Does allergic rhinitis exist in infancy? Findings from the PARIS birth cohort. *Allergy*. févr 2011;66(2):214-21.
42. Rochat MK, Illi S, Ege MJ, Lau S, Keil T, Wahn U, et al. Allergic rhinitis as a predictor for wheezing onset in school-aged children. *J Allergy Clin Immunol*. déc 2010;126(6):1170-5.e2.
43. Roberts G, Patel N, Levi-Schaffer F, Habibi P, Lack G. Food allergy as a risk factor for life-threatening asthma in childhood: a case-controlled study. *J Allergy Clin Immunol*. juill 2003;112(1):168-74.
44. Vogel NM, Katz HT, Lopez R, Lang DM. Food allergy is associated with potentially fatal childhood asthma. *J Asthma Off J Assoc Care Asthma*. déc 2008;45(10):862-6.
45. Mudarri D, Fisk WJ. Public health and economic impact of dampness and mold. *Indoor Air*. juin 2007;17(3):226-35.
46. Rosenbaum PF, Crawford JA, Anagnost SE, Wang CJK, Hunt A, Anbar RD, et al. Indoor airborne fungi and wheeze in the first year of life among a cohort of infants at risk for asthma. *J Expo Sci Environ Epidemiol*. sept 2010;20(6):503-15.
47. Cho S-H, Reponen T, LeMasters G, Levin L, Huang J, Meklin T, et al. Mold damage in homes and wheezing in infants. *Ann Allergy Asthma Immunol Off Publ Am Coll Allergy Asthma Immunol*. oct 2006;97(4):539-45.
48. Iossifova YY, Reponen T, Ryan PH, Levin L, Bernstein DI, Lockey JE, et al. Mold exposure during infancy as a predictor of potential asthma development. *Ann Allergy Asthma Immunol Off Publ Am Coll Allergy Asthma Immunol*. févr 2009;102(2):131-7.
49. Sears MR, Greene JM, Willan AR, Taylor DR, Flannery EM, Cowan JO, et al. Long-term relation between breastfeeding and development of atopy and asthma in children and young adults: a longitudinal study. *Lancet Lond Engl*. 21 sept 2002;360(9337):901-7.

50. Kuyucu S, Saraçlar Y, Tuncer A, Saçkesen C, Adalioglu G, Sümbüloglu V, et al. Determinants of atopic sensitization in Turkish school children: effects of pre- and post-natal events and maternal atopy. *Pediatr Allergy Immunol Off Publ Eur Soc Pediatr Allergy Immunol*. févr 2004;15(1):62-71.
51. Huang YJ, Nelson CE, Brodie EL, Desantis TZ, Baek MS, Liu J, et al. Airway microbiota and bronchial hyperresponsiveness in patients with suboptimally controlled asthma. *J Allergy Clin Immunol*. févr 2011;127(2):372-81.e1-3.
52. Sutherland ER, King TS, Icitovic N, Ameredes BT, Bleecker E, Boushey HA, et al. A trial of clarithromycin for the treatment of suboptimally controlled asthma. *J Allergy Clin Immunol*. oct 2010;126(4):747-53.
53. Zhu N, Gong Y, Chen X, Zhang J, Long F, He J, et al. Association between the polymorphisms of interleukin-4, the interleukin-4 receptor gene and asthma. *Chin Med J (Engl)*. 2013;126(15):2943-51.
54. Li Y, Guo B, Zhang L, Han J, Wu B, Xiong H. Association between C-589T polymorphisms of interleukin-4 gene promoter and asthma: a meta-analysis. *Respir Med*. juill 2008;102(7):984-92.
55. Basehore MJ, Howard TD, Lange LA, Moore WC, Hawkins GA, Marshik PL, et al. A comprehensive evaluation of IL4 variants in ethnically diverse populations: association of total serum IgE levels and asthma in white subjects. *J Allergy Clin Immunol*. juill 2004;114(1):80-7.
56. Smolnikova MV, Smirnova SV, Freidin MB, Tyutina OS. Immunological parameters and gene polymorphisms (C-590T IL4, C-597A IL10) in severe bronchial asthma in children from the Krasnoyarsk region, West Siberia. *Int J Circumpolar Health*. 2013;72.
57. Bottema RWB, Nolte IM, Howard TD, Koppelman GH, Dubois AEJ, de Meer G, et al. Interleukin 13 and interleukin 4 receptor- α polymorphisms in rhinitis and asthma. *Int Arch Allergy Immunol*. 2010;153(3):259-67.
58. Woitsch B, Carr D, Stachel D, Schmid I, Weiland SK, Fritzsche C, et al. A comprehensive analysis of interleukin-4 receptor polymorphisms and their association with atopy and IgE regulation in childhood. *Int Arch Allergy Immunol*. déc 2004;135(4):319-24.
59. Beghé B, Barton S, Rorke S, Peng Q, Sayers I, Gaunt T, et al. Polymorphisms in the interleukin-4 and interleukin-4 receptor alpha chain genes confer susceptibility to asthma and atopy in a Caucasian population. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. août 2003;33(8):1111-7.
60. Xue H, Sun K, Xie W-P, Wang H. [Meta-analysis on interleukin-4 receptor α chain Q576R gene polymorphisms and bronchial asthma susceptibility]. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi Zhonghua Jiehe He Huxi Zazhi Chin J Tuberc Respir Dis*. nov 2010;33(11):831-6.

61. Gouvis-Echraghi R, Saint-Pierre P, Besharaty A-A, Bernard A, Just J. Exhaled nitric oxide measurement confirms 2 severe wheeze phenotypes in young children from the Trousseau Asthma Program. *J Allergy Clin Immunol.* oct 2012;130(4):1005–7.e1.

Annexes

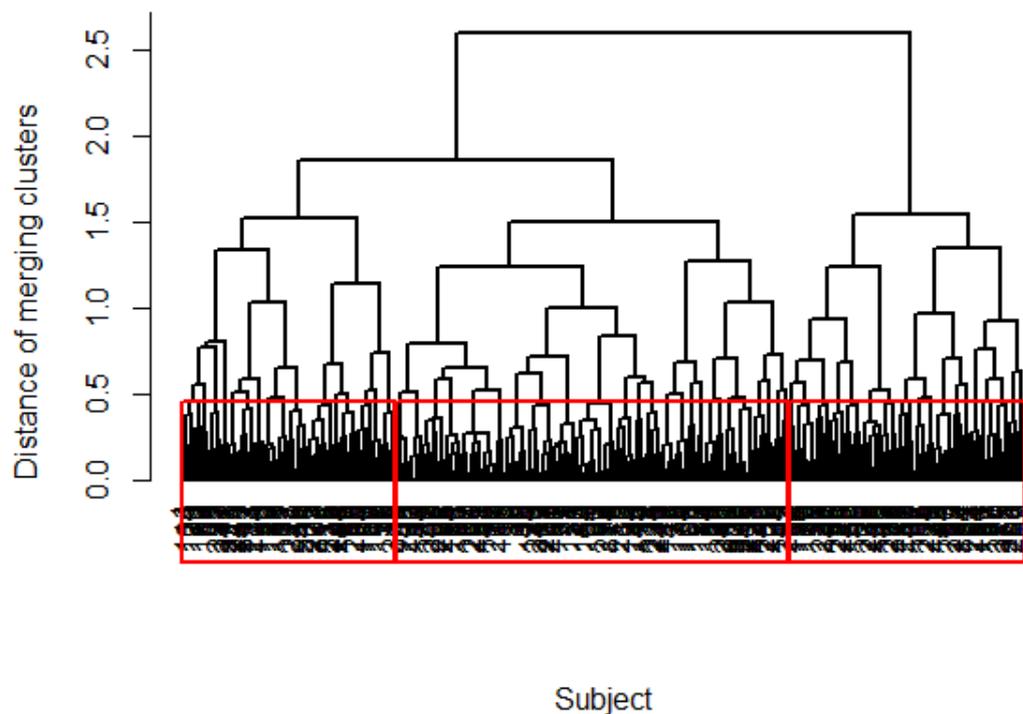


Figure 1. Dendrogramme pour l'ensemble de la population (n = 257), obtenue avec une classification ascendante hiérarchique.

Trois groupes se distinguent. Cette approche ascendante commence avec chaque sujet comme un groupe séparé et les fusionne en plus grands groupes successivement. Par la liaison de Ward, des échantillons ont été fusionnés en grands groupes afin de minimiser la somme des carrés intra-cluster. Cluster 1: "asthme non contrôlé, non allergique", cluster 2 : "asthme persistant léger viro-induit", cluster 3 : "asthme allergique, à facteurs déclenchant multiples"

TABLEAU I. Données cliniques des enfants selon les clusters analysés pour la cohorte entière (n=257).

	Cohorte totale (n=257)	Cluster 1: non allergique, non contrôlé (n=65)	Cluster 2: persistant léger, viro-induit (n=120)	Cluster 3: allergique à facteurs déclenchant multiples (n=72)	Valeur du p*
Sexe (% garçons)	63,4	60	56,7	77,8	0,01
BMI (kg/m²) DS	1,1	1,6	1,8	2,1	0,04
Comorbidités atopiques					
-Rhinite allergique	27,6	32,3	14,3	45,8	<0,001
-Eczéma	29,6	53,9	9,2	41,7	<0,001
-Allergie alimentaire	7	3,1	3,3	16,7	<0,001
Asthme parental (%)	34,2	36,92	27,5	36,11	0,3
Sévérité de l'asthme**					0,1
-Léger	42,8	40	48,3	36,1	
-Modéré	46,1	38,5	40	47,2	
-Sévère	11,3	18,5	9,2	8,3	
Non contrôlé sous fortes doses de corticoides inhales***	7,4	13,9	5,8	4,2	0,06
Facteurs déclenchant					<0,001
-Viro-induit	70,8	56,9	86,7	56,9	
-Multiples	29,2	43,1	13,3	43,1	

Toutes les valeurs sont données en pourcentage (sauf pour le BMI en DS).

Le texte en gras indique que le résultat est significatif.

* L'analyse de variance ou le test du Chi-2 était réalisé lorsque les conditions le permettaient, autrement, par Kruskal-Wallis ou le test de Fisher.

** Selon GINA

***non contrôlé: non contrôlé ou partiellement contrôlé. Fortes doses de corticoïdes inhalés correspondant à un équivalent fluticasone à 250 µg/jour.

TABLEAU II. Données paracliniques des enfants selon les clusters analysés pour la cohorte entière (n=257).

	Cohorte totale (n=257)	Cluster 1: non allergique, non contrôlé (n=65)	Cluster 2: persistant léger, viro-induit (n=120)	Cluster 3: allergique à facteurs déclenchant multiples (n=72)	Valeur du p*
Marqueurs d'inflammation non spécifiques**					
-Neutrophiles sanguins	23,3	47,7	16,7	36,8	<0,001
-IgG	24,1	45,2	4,3	41,3	<0,001
-IgA	24,1	35,5	11,2	38,6	<0,001
-IgM	24,1	46,8	9,5	31,4	<0,001
- α -1-antitrypsine	25,3	48,4	12,7	26,7	<0,001
-Ferritine sanguine	24,1	40	15,2	26,9	0,003
Marqueurs de l'allergie					
-Positivité du Phadiatop	25,3	10,3	11,4	69,1	<0,001
-IgE totales ≥ 45 ku/L	33,9	21,7	12,3	88,4	<0,001
-Eosinophiles sanguins $\geq 470/\text{mm}^3$	16,7	1,7	11,4	43,9	<0,001
Anomalie à la radiographie de thorax	32,3	46,2	24,2	33,3	0,1

Toutes les valeurs sont données en pourcentage.

Le texte en gras indique que le résultat est significatif.

* L'analyse de variance ou le test du Chi-2 était réalisé lorsque les conditions le permettaient, autrement, par Kruskal-Wallis ou le test de Fisher.

**Supérieur ou égal au 75° percentile

TABLEAU III. Données de l'environnement des enfants inclus croisées avec les clusters analyses pour la population entière (n=257).

	Cohorte totale (n=257)	Cluster 1: non allergique, non contrôlé (n=65)	Cluster 2: persistant léger, viro-induit (n=120)	Cluster 3: allergique à facteurs déclenchant multiples (n=72)	Valeur du p*
Allaitement maternel (mois)	2,5 (+/-0,7)	3,1 (+/-4,2)	3,1 (+/-4,8)	5,6 (+/-6,1)	0,0007
Tabagisme in utero	19	25	18,4	19,4	0,6
Tabagisme passif	40	47,7	37,5	37,5	0,4
Moisissures	27,6	29,2	21,6	36,1	0,09
Cafards	7	7,7	4,1	11,1	0,2
Surpopulation**	11,7	9,2	10	16,7	0,3
Animal domestique à fourrure	14,4	21,5	14,2	8,3	0,09
Fréquentation de la crèche	54,9	58,5	50	59,7	0,33

Toutes les valeurs sont données en pourcentage. Sauf l'allaitement maternel (moyenne (+/- DS)) en mois.

Le texte en gras indique que le résultat est significatif.

* L'analyse de variance ou le test du Chi-2 était réalisé lorsque les conditions le permettaient, autrement, par Kruskal-Wallis ou le test de Fisher.

**Surpopulation si nombre d'habitants/m² ≤ 9m²

TABLAU IV. Données génétiques concernant les polymorphismes du gène de l'IL-4 et de l'exon 11 de l'IL-4R croisés avec les clusters analysés.

	Cluster 1: non allergique, non contrôlé (n=65)	Cluster 2: persistant léger, viro-induit (n=120)	Cluster 3: allergique à facteurs déclenchant multiples (n=72)	Valeur du p*
IL-4 rs 2070874				0,27
-Pas de polymorphisme	52,2	65,2	54,7	
-1 polymorphisme	43,5	27	34	
-2 polymorphismes	4,4	7,9	11,3	
Exon 11 de IL-4R rs 1801275				0,028
-Pas de polymorphisme	54,4	55,6	32,1	
-1 polymorphisme	39,1	33,3	45,3	
-2 polymorphismes	6,5	11,1	22,6	
Exon 5 de l'IL-4R rs1805010				0,5
-Pas de polymorphisme	40,9	47,8	44	
-1 polymorphisme	40,9	30,4	48	
-2 polymorphismes	18,2	21,7	8	

Toutes les valeurs sont données en pourcentage. (p=0,028).

Le texte en gras indique que le résultat est significatif.

* L'analyse de variance ou le test du Chi-2 était réalisé lorsque les conditions le permettaient, autrement, par Kruskal-Wallis ou le test de Fisher.

TABLEAU Va. Références d'études ayant analysé le polymorphisme rs2070874 du gène de l'IL-4.

Référence	Ethnie/âge	Type d'asthme	Polymorphisme	p
Zhu et al, 2013	Asiatique/adulte	Asthme	rs2070874 (IL-4)	0,02
Liu et al	Adultes	Asthme	rs2070874 (IL-4)	0,005
	-Caucasien		rs2070874 (IL-4)	0,04
	-Asiatique		rs2070874 (IL-4)	0,04
	Enfant	Asthme allergique	rs2070874 (IL-4)	0,54
		Asthme	rs2070874 (IL-4)	0,04
BIOMAS, 2015	Caucasien /nourrisson	Asthme allergique	rs2070874 (IL-4)	0,27

TABLEAU Vb. Références d'études ayant analysé des polymorphismes du gène de l'IL-4.

Référence	Ethnie/âge	Type d'asthme	Polymorphisme	p
Zhu et al, 2013	Caucasien/adulte	Asthme	rs2243250 (IL-4)	0,003
Li et al, 2008	Toute ethnie/adulte	Asthme allergique	rs2243250 (IL-4)	0,002
Basehore et al, 2004	Caucasien/adulte	Asthme allergique (élévation des IgE)	rs2227284 (IL-4)	0,0008
Smolnikova et al, 2013	Caucasien (Russe) /enfant	Asthme allergique incontrôlé	C-590T (IL-4)	0,015
Béghé et al, 2003	Caucasien/adulte	Asthme	Haplotype 34T/-589T (IL4)	0,04

TABLEAU Vc. Références d'études ayant analysé des polymorphismes de l'exon 11 de l'IL-4R.

Référence	Ethnie/âge	Type d'asthme	Polymorphisme	p
Zhu et al, 2013	Asiatique/adulte	Asthme	rs1801275 (IL-4R exon 11)	0,02
Bottema et al, 2010	Caucasien/adulte	Asthme	rs1801275 (IL-4R exon 11)	0,78
BIOMAS, 2015	Caucasien /nourrisson	Asthme allergique sévère	rs1801275 (IL-4R exon 11)	0,03
Zhu et al, 2013	Asiatique/adulte	Asthme	rs1805011 (IL-4R exon 11)	0,02
Bottema et al, 2010	Caucasien/adulte	Asthme	rs1805011 (IL-4R exon 11)	0,02
Bottema et al, 2010	Caucasien/adulte	Asthme	rs1805013 (IL-4R exon 11)	0,05

TABLEAU Vd. Références d'études ayant analysé des polymorphismes du gène de l'IL-4R.

Référence	Ethnie/âge	Type d'asthme	Polymorphisme	p
Bottema et al, 2010	Caucasien/adulte	Asthme	rs1805010 (IL-4R exon 5)	0,48
BIOMAS, 2015	Caucasien/nourrisson	Asthme allergique	rs1805010 (IL-4R exon 5)	0,5
Woitsch et al, 2004	Caucasien (allemand)/adulte	Elévation IgE	Haplotype (IL-4R)	0,02
Béghé et al, 2003	Caucasien/adulte	Asthme atopique	Haplotype I50/-576Q (IL-4R)	0,006

Le texte en gras indique que le résultat est significatif.

TABLEAU E1. Valeurs quantitatives des variables prises en compte dans l'analyse en cluster (BMI et marqueurs non spécifiques de l'inflammation) pour la population entière (n=257).

	25° percentile	75° percentile
BMI	15,60	18,18
IgG (g/L)	5,595	8,34
IgA (g/L)	0,31	0,58
IgM (g/L)	0,63	1,09
α -1-antitrypsine (g/L)	1,10	1,35
Ferritinémie (μ g/L)	21	48,25
Polynucléaires neutrophiles (cellules/mm³)	2320	4350

Les marqueurs non spécifiques de l'inflammation inclus dans l'analyse en cluster étaient supérieurs ou égaux au 75° percentile.

Titre: Les polymorphismes du gène du récepteur de l'interleukine 4 : un biomarqueur pour phénotyper l'asthme du nourrisson

Résumé:

L'asthme du nourrisson est présent chez 15 à 30% de la population pédiatrique. Il est difficile de distinguer l'asthme à risque de persistance et de sévérité, de l'asthme transitoire. Trois phénotypes d'asthme du nourrisson ont déjà été décrits au sein des cohortes de *Trousseau Asthma Program* (TAP).

L'objectif est de retrouver ces phénotypes au sein d'une nouvelle cohorte de patients comparables, et étudier si il existe des biomarqueurs génétiques associés au phénotype sévère allergique à risque de persistance. Une analyse en cluster a été réalisée au sein d'une cohorte de 257 nourrissons asthmatiques. Ces clusters ont été croisés avec des données de l'environnement puis des biomarqueurs génétiques: polymorphismes du gène de l'interleukine 4, et de son récepteur.

3 clusters comparables à ceux du TAP ont été identifiés. *Cluster1*:(n=65) « asthme non allergique, non contrôlé », à facteurs déclenchant multiples avec une inflammation biologique non spécifique et 46,2% d'anomalie pulmonaire radiologique. *Cluster2*:(n=120) « asthme persistant léger viro-induit », viral pour 86,7%. *Cluster3*:(n=72) « asthme allergique à facteurs déclenchant multiples », 77,8% de garçons, des comorbidités atopiques et des marqueurs biologiques d'atopie élevés. La présence d'un et deux polymorphismes du gène de l'exon 11 de l'IL-4R était retrouvée de manière significative dans le cluster 3, respectivement 45,3% et 22,6% (p=0,028).

Le polymorphisme du gène de l'exon 11 de l'IL-4R est associé à « l'asthme allergique à facteurs déclenchant multiples ». La recherche précoce de ce polymorphisme pourrait permettre une prise en charge personnalisée de ce phénotype d'asthme sévère à risque de persistance.

Mots clés: Biomarqueurs génétiques, Polymorphisme génétique, Interleukine 4 Récepteur de l'interleukine 4, Phénotype de l'asthme, Asthme atopique

Titre en anglais : Gene polymorphisms of interleukin 4 receptor : a biomarker to phenotype early-onset asthma in infancy

Abstract :

The incidence of asthma in infants accounts for nearly 15-30% of the pediatric population. It is difficult to distinguish asthma at risk of persistence and severity during infancy from transient asthma. Three asthma phenotypes have been described within the Trousseau Asthma Program (TAP).

The purpose was to find these phenotypes in another similar cohort and to investigate if there are some genetic biomarkers associated with the severe allergic phenotype.

We performed a cluster analysis, using 19 variables, in a cohort of 257 asthmatic infants. We crossed these clusters with environment data, and then with the polymorphisms of the interleukin 4 (IL-4) and interleukin 4 receptor (IL-4R) genes.

Three clusters very similar to those described in the TAP cohort were identified. *Cluster1*: (n=65) "non-allergic asthma, uncontrolled" with multiple triggers and a non-specific biological inflammation, and with pulmonary abnormalities on chest X-rays (46.2%). *Cluster2*: (n=120) "mild persistent virus-induced asthma " with viral trigger in 86.7% of cases, and a normal chest X-rays in 75.8%. *Cluster3*: (n=72) "allergic asthma with multiple triggers " with a majority of boys (77.8%), higher frequency of atopic comorbidities, higher biological markers of atopy. The presence of one or two polymorphisms of exon 11 of IL-4R gene was significantly higher in the cluster 3, respectively 45.3% and 22.6% (p=0.028).

Polymorphisms of IL-4R gene are associated with the "allergic asthma, with multiple trigger wheeze" cluster. Searching for this polymorphism at the onset of asthma may enable personalized treatment of this phenotype, at risk of severity and persistence during childhood.

Keywords: Genetic biomarkers, Genetic polymorphism, Interleukin 4, Interleukin 4 Receptor Asthma phenotype, Atopic asthma

**Université Paris Descartes
Faculté de Médecine Paris Descartes
15, rue de l'École de Médecine 75270
Paris cedex 06**

