

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

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

**Département de biologie**

*Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée Et Immunologie -BIOMOLIM-*

**MEMOIRE**

Présenté par

**ZITOUNI IMANE**

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de MASTER**

En IMMUNOLOGIE

**Thème**

Effet de la vitamine D et des fibres alimentaires sur l'activité de l'arginase sérique et salivaire au cours de l'asthme allergique non contrôlé chez l'enfant.

Soutenu le 28 juillet 2019, devant le jury composé de :

Président	Mourad ARIBI	Professeur	Université de TLEMCCEN
Encadreur	Mustapha HADDOUCHE	MCA	Université de TLEMCCEN
Examinatrice	Chahrazed EL MEZOUAR	MAA	
Examinatrice	Nabila BRAHAMI	MCA	Université de TLEMCCEN

**Année universitaire 2018/2019**

## Résumé

**Introduction :** L'asthme allergique est l'une des maladies inflammatoires chroniques des voies respiratoires les plus courantes chez les enfants. Elle se caractérise par des réactions à médiation par les immunoglobulines IgE en réponse aux allergènes sous l'action des médiateurs anti-inflammatoires sécrétés par les Th2. ces médiateurs amène à l'amplification de la voie dépendante de l'arginase.

**Objectif :** Evaluer l'activité de l'arginase chez les enfants asthmatiques avant et après supplémentation par la vitamine D et / ou les fibres alimentaires.

**Matériels et méthode :** Nous avons mené une étude comparative sur 82 enfants asthmatiques âgés de 4 à 17ans divisés en quatre groupes dont un groupe témoin et 3 groupes supplémentés en vitamine D, fibres alimentaires, vitamine D et fibres alimentaires. L'activité de l'arginase a été évaluée dans les sérums et la salive des patients avant et après la supplémentation.

**Résultats :** l'activité de l'arginase sérique a fortement augmentée après la supplémentation en fibres alimentaires ; alors que celle de l'arginase salivaire a diminué après la supplémentation en vitamine D.

**Conclusion :** En conclusion, nos résultats ont montré l'effet des fibres alimentaires sur l'augmentation de l'arginase sérique et celui de la vitamine D sur la diminution de l'arginase salivaire chez les enfants asthmatiques.

**Mots clés :** asthme allergique, arginase, fibres alimentaires, vitamine D.

## Abstract

**Introduction:** Allergic asthma is one of the most common chronic inflammatory diseases of the respiratory tract in children. It is characterized by reactions mediated by IgE immunoglobulins in response to allergens under the action of anti-inflammatory mediators secreted by Th2. These mediators ammine to the amplification of the arginase-dependent pathway.

**Objective:** To evaluate the activity of arginase in children with asthma before and after supplementation with vitamin D and / or dietary fiber.

**Materials and methods:** We conducted a comparative study of 82 asthmatic children aged 4 to 17 years divided into four groups including a control group and 3 groups supplemented with vitamin D, dietary fiber, vitamin D and dietary fiber. The activity of arginase was evaluated in the sera and saliva of patients before and after supplementation.

**Results:** The activity of serum arginase has greatly increased after dietary fiber supplementation; while that of salivary arginase decreased after vitamin D supplementation.

**Conclusion:** In conclusion, our results showed the effect of dietary fiber on the increase of serum arginase and that of vitamin D on the decrease of salivary arginase in children with asthma.

**Key words:** allergic asthma, arginase, dietary fiber, vitamin D.

## ملخص

**مقدمة:** يعتبر الربو التحسسي أحد أكثر الأمراض الالتهابية المزمنة شيوعاً في الجهاز التنفسي عند الأطفال. يتميز بتفاعلات بوساطة الجلوبيولين المناعي IgE استجابة لمسببات الحساسية تحت تأثير وسطاء مضادين للالتهابات يفرزهم Th2 ، هؤلاء الوسطاء يؤمنون بتضخيم المسار المعتمد على أرجيناز.

**الهدف:** تقييم نشاط أرجينيز في الأطفال الذين يعانون من الربو قبل وبعد مكملات فيتامين (د) و / أو الألياف الغذائية.

**المواد والطرق:** أجرينا دراسة مقارنة لـ 82 طفلاً مصاباً بالربو تتراوح أعمارهم بين 4 سنوات و 17 سنة مقسمة إلى أربع مجموعات بما في ذلك مجموعة مراقبة و 3 مجموعات تستكمل بفيتامين د والألياف الغذائية وفيتامين د والألياف الغذائية. تم تقييم نشاط أرجينيز في الأمصال واللعاب من المرضى قبل وبعد المكملات.

**النتائج:** زاد نشاط أرجيناز المصل بشكل كبير بعد إضافة الألياف الغذائية ؛ في حين انخفض ذلك من أرجيناز اللعاب بعد إضافة مكملات فيتامين د

**الخلاصة:** في الختام ، أظهرت نتائجنا تأثير الألياف الغذائية على زيادة أرجيناز المصل وتأثير فيتامين (د) على انخفاض أرجيناز اللعاب عند الأطفال المصابين بالربو.

**الكلمات المفتاحية:** الربو التحسسي ، أرجينيز ، الألياف الغذائية ، فيتامين د.

## Avant-propos

Je tiens à remercier énormément DIEU le tout puissant de m'avoir aidé pendant ce long parcours et de m'avoir donné la patience et le courage d'avancer et d'accomplir ce travail avec pertinence.

Je tiens à remercier sincèrement et vivement mes parents et mon conjoint qui ont toujours été à mes côtés et qui m'ont permis de faire ces études et d'être exigeante dans la vie. Ils m'ont comblés d'amour, de bonheur et m'ont suivis tout au long de ce parcours et ont fait beaucoup de sacrifice. Aujourd'hui ce diplôme c'est d'abord pour eux car ils ont cru en moi et savaient que je pouvais y arriver.

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et Immunologie sous la direction de Pr Mourad ARIBI à qui j'adresse mes remerciements les plus sincères. Que ce travail soit le fruit de ma reconnaissance et de mon profond respect.

Je tiens à remercier les membres du jury, d'avoir accepté de juger ce travail avec professionnalisme.

Je remercie ainsi, Mme Chahrazed EL MEZOUAR, Mme Rabia MESSALI, Mr Zoheir DAHMANI et Mme Wafaa NOUARI qui m'ont assisté et guidé tout au long de ce projet. Je remercie aussi mes amies Asmaa ZEBBOUR et Zoulikha MAHI qui ont été à mes côtés pendant toutes ces années et à qui je souhaite beaucoup de réussite.

**Je dédie ce travail à mes parents, mon conjoint, mes frères et sœurs et ma famille et mes amies et toutes les personnes que j'estime.**

---

**Table des matières**

<b>Résumé</b>	<b>iii</b>
<b>Abstract</b>	<b>iv</b>
<b>Résumé en arabe</b>	<b>v</b>
<b>Avant-propos</b>	<b>vi</b>
<b>Table des matières</b>	<b>vii</b>
<b>Listes des figures</b>	<b>ix</b>
<b>Liste des tableaux</b>	<b>x</b>
<b>Liste des abréviations</b>	<b>xi</b>
<b>Introduction</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre 1 : Revue de la littérature</b>	<b>2</b>
1.1. L'asthme	2
1.1.1. Définition	2
1.1.2. Etiologie	2
1.1.3. Prévalence	3
1.1.4. Signes cliniques	3
1.1.5. Diagnostique de l'asthme	3
1.1.6. Asthme allergique chez l'enfant	4
1.1.7. Classification de l'asthme chez l'enfant	4
1.1.8. Physiopathologie et pathogénèse de l'asthme	7
1.1.9. Evaluation du contrôle de l'asthme	8
1.1.10. Cibles thérapeutiques et traitement de l'asthme	9
1.1.10.1. Prévention primaire	9
1.1.10.2. Corticostéroïdes	10
1.1.10.3. Bronchodilatateurs	10

---

1.1.10.4. Anticorps	10
1.2. Système immunitaire et asthme allergique	12
1.2.1. Phase de sensibilisation	13
1.2.3. Phase effectrice	14
1.2.3.1. Réaction d'asthme immédiate ou précoce	14
1.2.3.2. Phase tardive	16
1.2.3.3. Phase de remodelage bronchique	17
1.3. Vitamine D et son rôle immuno-modulateur au cours des allergies inflammatoires	17
1.3.1. Vitamine D	17
1.3.2. Biosynthèse de la vitamine D	17
1.3.3. Vitamine D et système immunitaire	18
1.3.4. Récepteur de la vitamine D	18
1.3.5. Vitamine D et asthme allergique	19
1.3. Microbiote, fibre alimentaire et maturation des cellules immunitaires	20
1.3.1. Microbiome humain	20
1.3.2. Flore intestinal et système immunitaire	21
1.3.3. Fibres alimentaires	22
1.4. Arginase	24
1.4.1. Localisation et origine	24
1.4.2. Métabolisme de L-arginine par l'arginase	25
1.4.3. Arginase et asthme allergique	25
<b>Chapitre 2 : Matériels et méthodes</b>	<b>26</b>
2.1. Patients	26
2.2. Critères d'inclusions et d'exclusions	26
2.2.1. Critères d'inclusions	26

---

2.2.2. Critères de non inclusions	27
2.2.3. Critères d'exclusions	27
2.3. Supplémentation	27
2.4. Echantillons	27
2.4.1. Echantillons sanguins	27
2.4.2. Echantillons salivaires	28
2.5. Détermination de l'activité de l'arginase dans le sérum et la salive	28
2.5.1. Dosage de protéine totale	29
2.5.2. Dosage de l'urée	29
<b>Chapitre 3 : Résultats</b>	<b>30</b>
3.1. Activité de l'arginase	30
3.1.1. Activité de l'arginase sérique	30
3.1.2. Activité de l'arginase salivaire	31
<b>Chapitre 4 : Discussion</b>	<b>33</b>
<b>Chapitre 5 : Conclusion et perspective</b>	<b>35</b>
<b>Chapitre 6 : Bibliographie</b>	<b>36</b>



**Liste des figures**

<b>Figure 1.1</b> . Modèle classique d'inflammation pulmonaire allergique	<b>6</b>
<b>Figure 1.2</b> . Inflammation pulmonaire non atopique	<b>7</b>
<b>Figure 1.3</b> . Spécimen de muqueuse bronchique provenant d'un sujet sans asthme (panel A) et d'un patient souffrant d'asthme léger (panel B) (hématoxyline et éosine, 40 $\times$ ).	<b>8</b>
<b>Figure 1.4</b> . Fonctions des cellules TH2 et des cellules ILC2 dans l'asthme	<b>12</b>
<b>Figure 1.5</b> . Le développement de la sensibilisation allergique et de l'asthme	<b>14</b>
<b>Figure 1.6</b> . Phase précoce d'inflammation des voies respiratoires induite par l'allergène	<b>15</b>
<b>Figure 1.7</b> . Phase tardive d'inflammation des voies respiratoires induite par l'allergène	<b>16</b>
<b>Figure 1.8</b> . Molécule de vitamine D	<b>18</b>
<b>Figure 1.9</b> . Effets immunomodulateurs de la vitamine D sur les cellules inflammatoires dans l'asthme allergique	<b>19</b>
<b>Figure 1.10</b> . Régime alimentaire, composition microbienne et régulation du système immunitaire	<b>22</b>
<b>Figure 1.11</b> . Régime alimentaire, acides gras et actions des GPCrs anti-inflammatoires	<b>23</b>
<b>Figure 1.12</b> . Métabolisme de L-arginine	<b>24</b>
<b>Figure 2.1</b> . Centrifugation d'échantillons sanguin	<b>27</b>
<b>Figure 2.2</b> . Ajustement du PH d'arginine après préparation	<b>28</b>
<b>Figure 2.3</b> . Incubation des échantillons au bain marie 10 min à 56°C	<b>28</b>
<b>Figure 2.4</b> . Incubation 1 heure à 37°C	<b>28</b>
<b>Figure 2.5</b> . Dosage de l'arginase sur plaque de 96 puits par lecteur ELISA	<b>29</b>
<b>Figure 3.1</b> . Taux sériques d'arginase avant et après supplémentation en vitamine D et /ou fibres alimentaires chez des enfants asthmatique	<b>30</b>
<b>Figure 3.2</b> . Taux salivaire d'arginase avant et après supplémentation en vitamine D et /ou fibres alimentaires chez des enfants asthmatique	<b>31</b>

**Table des tableaux**

<b>Tableau 1.1.</b> Facteurs responsables de l'augmentation de la prévalence de l'asthme	<b>2</b>
<b>Tableau 1.2.</b> Classification de l'asthme basée sur les modèles de crachats induits d'inflammation cellulaire	<b>4</b>
<b>Tableau 1.3.</b> Principaux traitements biologiques ciblés contre l'asthme sévère chez les enfants	<b>10</b>
<b>Tableau 1.4.</b> Médiateurs immunorégulateurs intervenant dans l'asthme	<b>12</b>
<b>Tableau 2.1.</b> Groupes de patients asthmatiques participant à l'étude	<b>26</b>

## **Abréviations**

### **A**

AIT : l'immunothérapie allergénique

ACT : Test de contrôle de l'asthme

ACQ : Questionnaire de contrôle de l'asthme

ATAQ : Questionnaire d'évaluation du traitement de l'asthme

AGCC (SCFA en anglais) : Acides gras à chaîne courte

Arg : L- arginine

AHR : hyperactivité des voies aérienne

### **C**

cACT: Test de contrôle de l'asthme chez l'enfant

CD : cellule dendritique

CSI : corticostéroïdes par inhalation

CSS : corticostéroïdes systémiques

CGRP : peptide lié au gène de la calcitonine

### **G**

GPR41 : récepteurs 41 couplés aux protéines G

GPR43 : récepteurs 43 couplés aux protéines G

GPR120 : récepteurs 120 couplés aux protéines G

GINA : Initiative mondiale pour l'asthme

FeNO : fraction de NO expiré

### **H**

AHR : hyper-réponse des voies respiratoires

### **I**

ILC2 : cellules lymphoïdes innées du groupe 2

## **L**

LASS : Échelle des symptômes de l'asthme de Lara

LTB4 : leucotriène B4

## **M**

MPOC : maladie pulmonaire obstructive chronique

## **N**

NO : oxyde nitrique

NOS : oxydes nitriques synthases

## **O**

OMS : Organisation mondiale de la santé

1,25-[OH]2D3 : 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamine D3

Orn : L-ornithine

## **P**

ppb : parties par milliard

PGD2 : prostaglandine D2

PSA : polysaccharide A

## **U**

UVB : rayons ultraviolet B

## **V**

VDR : récepteur de la vitamine D

## **R**

ROS : espèces réactives de l'oxygène

**T**

Th : T helper

Treg : lymphocytes T

### Introduction

L'asthme allergique est une maladie inflammatoire chronique des voies respiratoires qui affecte environ 300 millions de personnes dans le monde, dont la grande majorité sont des enfants (Maarsingh et al., 2011; Ramadan et al., 2019).

Actuellement, il représente un problème de santé publique majeur dans la plupart des pays du monde entier, et reste jusqu'à présent un déficit médical et scientifique très important vis-à-vis de sa gravité et de sa complexité (Donthi et al., 2018; Vercelli, 2003).

Au cours des 30 dernières années, les changements de mode de vie tel qu'une alimentation pauvre en fibre, peuvent être l'explication la plus satisfaisante de l'augmentation des maladies allergiques et cela démontre que les facteurs environnementaux jouent un rôle clé dans le développement de la maladie touchant ainsi la composition du microbiote intestinal (Fujimura and Lynch, 2015; Wickens et al., 2005).

Compte tenu de l'augmentation de la prévalence de l'asthme, et en se basant sur plusieurs études chez l'animal et chez l'homme, on suggère que la supplémentation en vitamine D en tant qu'option thérapeutique potentielle suscite un vif intérêt et peut améliorer plusieurs caractéristiques de l'asthme (Hall and Agrawal, 2017).

Les arginases pourraient jouer un rôle important dans la pathogenèse de l'asthme en raison de leurs effets sur le stress nitrosatif. Son expression est régulée positivement dans l'asthme et varie avec les niveaux de cytokines Th 2 et le stress oxydatif (Salam et al., 2009).

Les glucocorticoïdes sont le pilier de la gestion de l'asthme, cependant, le traitement peut prédisposer les individus à des effets secondaires à long terme (par exemple, ostéoporose, hypertension, résistance à l'insuline, effets neuropsychiatriques), et certains patients répondent mal (Barnes and Adcock, 2009). Il est donc urgent de trouver de nouveaux moyens de traiter l'inflammation liée à l'asthme (Haines et al., 2017).

Par ailleurs, ce travail a pour objectif de comparer l'activité de l'arginase avant et après la supplémentation par la vitamine D et/ou les fibres alimentaires afin de déterminer leur effet clinique sur les enfants asthmatiques dans le contexte d'un essai thérapeutique.

## Chapitre 1 : Revue de la littérature

### 1.1. L'asthme

#### 1.1.1. Définition

L'asthme est une maladie complexe qui se caractérise par une inflammation chronique des voies respiratoires, un remodelage une hypersensibilité des voies aériennes, et une production accrue de mucus (Cloots et al., 2018; Jain, 2018). Il est ainsi défini par un trouble phénotypiquement hétérogène d'origines multifactorielles (Baiz and Annesi-Maesano, 2012) .

#### 1.1.2. Etiologie

Le déclenchement et l'exacerbation de l'asthme peuvent dépendre de la sensibilité individuelle, des infections virales, de l'exposition aux allergènes, de la fumée du tabac et de la pollution de l'air extérieur (Fрати et al., 2018; Plunkett and Nagler, 2017).

L'asthme allergique de l'enfant est généralement en association avec l'eczéma, la rhinite ou une allergie alimentaire, avec des antécédents familiaux d'asthme et une respiration sifflante ou une toux, accompagné parfois d'infections respiratoires virales (Papi et al., 2018).

**Tableau 1.1. Facteurs responsables de l'augmentation de la prévalence de l'asthme** (Baiz and Annesi-Maesano, 2012) .

Facteurs environnementaux	Susceptibilité accrue de l'hôte
-Allergènes (à cause des nouvelles conditions d'exposition)	-Excès d'hygiène
-Tabagisme parental, depuis la vie in utero	-Diminution du nombre de fausses couches
-Pollution de l'air intérieur et extérieur	-Événements in utero (prise d'hormones maternelles et de médicaments pendant la grossesse, détresse fœtale.)
-Excès d'hygiène	-Prématurité, faible poids à la naissance
-Régime	-Régime
-Stress	-Stress

### 1.1.3. Prévalence

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), environ 300 millions de personnes souffrent d'asthme et plus de 250 000 décès par ans était liés à cette maladie (Baiz and Annesi-Maesano, 2012). La prévalence de l'asthme est considérablement plus élevée chez les enfants que chez les adultes (Danvers et al., 2019).

### 1.1.4. Signes cliniques

Les personnes souffrant d'asthme présentent une obstruction et une inflammation des voies respiratoires accompagnées de toux, de respiration sifflante, d'oppression thoracique, et d'essoufflement croissant, menant à divers degrés de réponses allergiques (Ferguson et al., 2017; Saglani and Menzie-Gow, 2019).

### 1.1.5. Diagnostique de l'asthme

L'asthme est difficile à diagnostiquer en raison de son hétérogénéité inhérente des populations de patients asthmatiques et des multiples facteurs contributifs tels que les allèles à risque, les expositions environnementales et la fonction pulmonaire (Fujimura and Lynch, 2015).

Le premier test objectif à utiliser chez les adultes âgés de 17 ans et plus est l'oxyde nitrique exhalé. Si une valeur de 40 parties par milliard (ppb) ou plus est mesurée chez un patient suspecté d'asthme, cela est considéré comme un résultat positif (Saglani and Menzie-Gow, 2019).

La régulation à la hausse de l'oxyde nitrique (NO) par les cytokines inflammatoires dans les voies respiratoires centrales et périphériques peut être surveillée dans l'air expiré. L'augmentation de la fraction de NO expiré (FeNO) reflète les réponses inflammatoires à médiation éosinophilique et la réactivité probable des stéroïdes dans l'asthme (Dweik et al., 2011).

Le diagnostic différentiel de l'asthme aigu comprend la maladie pulmonaire obstructive chronique (MPOC), le dysfonctionnement des cordes vocales, la bronchite, la bronchiectasie, l'épiglottite, l'obstruction trachéale extrathoracique ou intrathoracique, l'œdème pulmonaire cardiogénique et non cardiocardiogène, la pneumonie, l'embolie pulmonaire, la pneumonie chronique et le syndrome d'hyperventilation (Ferguson et al., 2017).



### 1.1.6. Asthme allergique chez l'enfant

L'asthme allergique est une maladie inflammatoire chronique des voies respiratoires caractérisée par des réactions obstructives bronchiques précoces et tardives à médiation par les immunoglobulines IgE en réponse aux allergènes ; une augmentation transitoire de l'hyperréactivité des voies respiratoires suit de l'infiltration de cellules inflammatoires dans les voies respiratoires en particulier les éosinophiles et lymphocytes T helper (Th) de type 2 (Th2) (Cockcroft and Davis, 2006; Maarsingh et al., 2008, 2011).

En outre, cette inflammation chronique qui atteint un grand nombre d'enfants peut aboutir au remodelage des voies respiratoires, ainsi qu'un épaississement de la membrane basale, une fibrose sous-épithéliale et une augmentation de la masse musculaire lisse des voies respiratoires. Ces changements structurels peuvent conduire à un déclin progressif de la fonction pulmonaire et contribueraient à une hyperréactivité des voies respiratoires persistante (Bousquet et al., 2000; Maarsingh et al., 2008).

### 1.1.7. Classification de l'asthme chez l'enfant

Chez les enfants, l'asthme était généralement considéré, comme une maladie atopique qui présente plusieurs types (Pembrey et al., 2018). L'étude prototype de (Simpson et al., 2006) conclut l'existence de quatre sous-types inflammatoires dont les caractéristiques sont résumés et caractérisés dans le (tableau 1.2).

Selon une autre classification l'asthme peut être aussi divisé en deux phénotypes : atopique ou allergique et non atopique (Kubo, 2017) .

**Tableau 1.2. Classification de l'asthme basée sur les modèles de crachats induits d'inflammation cellulaire** (Haldar and Pavord, 2007).

	Asthme non éosinophile	Asthme éosinophile
	Nombre normal d'éosinophiles < 1,9%	Nombre d'éosinophiles élevé
Nombre normal de neutrophiles < 61%	<p><b>Paucigranulocytaire</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- asthme bien contrôlé ou intermittent</li> <li>- envisager un diagnostic alternatif</li> </ul>	<p><b>Eosinophilique</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- asthme typique, fréquemment associé à la maladie atopique</li> <li>- peut indiquer un traitement inadéquat aux corticostéroïdes</li> </ul>

Nombre de neutrophiles élevé	<b>Neutrophilique</b>	<b>Mixte granulocytaire</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Infection aiguë (viral ou bactérienne)</li> <li>-infection chronique (adénovirus)</li> <li>- fumeur</li> <li>-polluant environnemental</li> <li>-antigènes professionnels</li> <li>-exposition aux endotoxines</li> <li>-obésité</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-sévère exacerbation de l'asthme</li> <li>- asthme réfractaire</li> </ul>

- **Dans l'asthme atopique**, l'allergène protéique soluble est capté par les cellules dendritiques (CD) qui migrent ensuite vers un organe lymphoïde secondaire, où les cellules T naïves sont sensibilisées par des peptides allergéniques traités et présentés. Après leur activation par les cellules dendritiques, les lymphocytes T naïves se différencient en cellules adaptatives Th2 ou en cellules TFH qui interagissent avec des cellules B spécifiques aux antigènes pour induire la production d'IgE. Les anticorps IgE spécifiques de l'allergène se lient au FcεR de haute affinité à la surface des mastocytes. La réticulation de cette IgE par un allergène active les mastocytes et libère divers médiateurs inflammatoires, tels que l'histamine, la prostaglandine D2 (PGD2) et le leucotriène B4 (LTB4). Les cellules Th2 migrent sur le site de l'inflammation et produisent des cytokines Th2 après l'administration de l'antigène. L'IL-5 et l'IL-9 favorisent l'éosinophilie tissulaire et l'hyperplasie des mastocytes. L'IL-13 favorise la production de mucus par les cellules caliciformes et l'hyper-réponse des voies respiratoires (AHR) (**figure 1.1**) (Kim et al., 2010; Kubo, 2017)

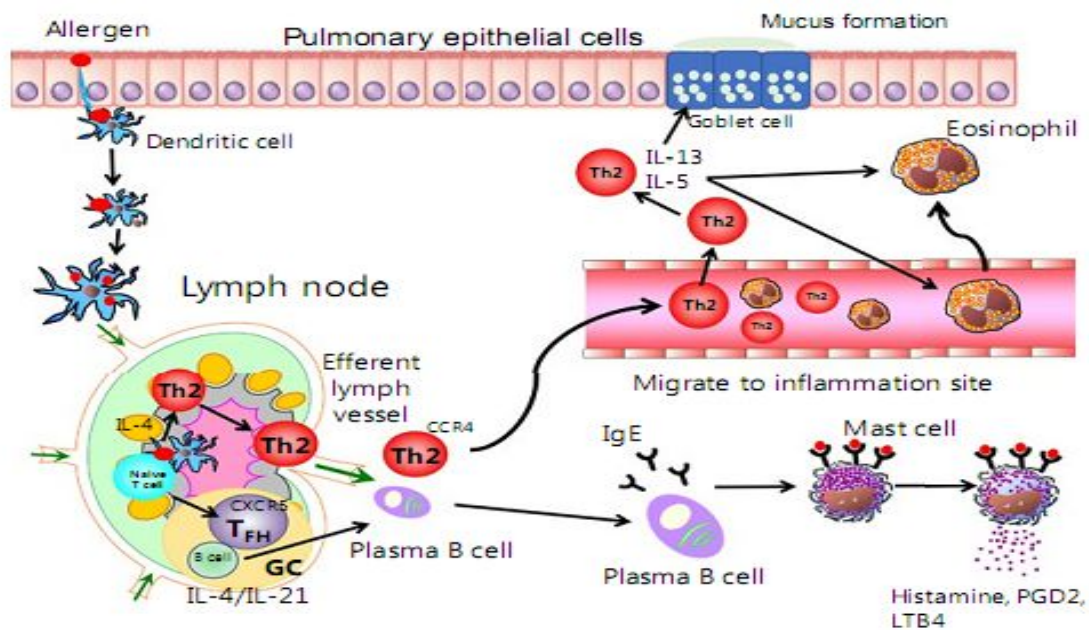


Figure 1.1. Modèle classique d'inflammation pulmonaire allergique (Kubo, 2017)

- **l'asthme non atopique** est défini par l'absence d'anticorps IgE sériques réactifs aux allergènes et par une plus grande implication des cellules immunitaires innées, telles que les cellules lymphoïdes innées du groupe 2 (ILC2), les basophiles et les éosinophiles. L'activité des protéases contenues dans les protéases allergènes provoque une rupture de barrière dans les cellules épithéliales, ce qui entraîne une élévation de l'IL-33 et de la TSLP, qui active les basophiles et les ILC2 pour induire différentes cytokines Th2. L'IL-4 dérivée de basophiles active de manière synergique les ILC2 avec l'IL-33 pour libérer des agents chimioattractants, tels que CCL11, qui sont nécessaires pour l'éosinophilie dans les poumons. Les ILC2 activés produisent également de l'IL-5 et de l'IL-13, responsables de la production d'éosinophilie et de mucus lors d'une inflammation précoce des voies respiratoires. L'IL-33 entraîne également une expansion du Treg par l'IL-2 sécrétée par les mastocytes activés (**figure 1.2**) (Gregory and Lloyd, 2011; Kubo, 2017).

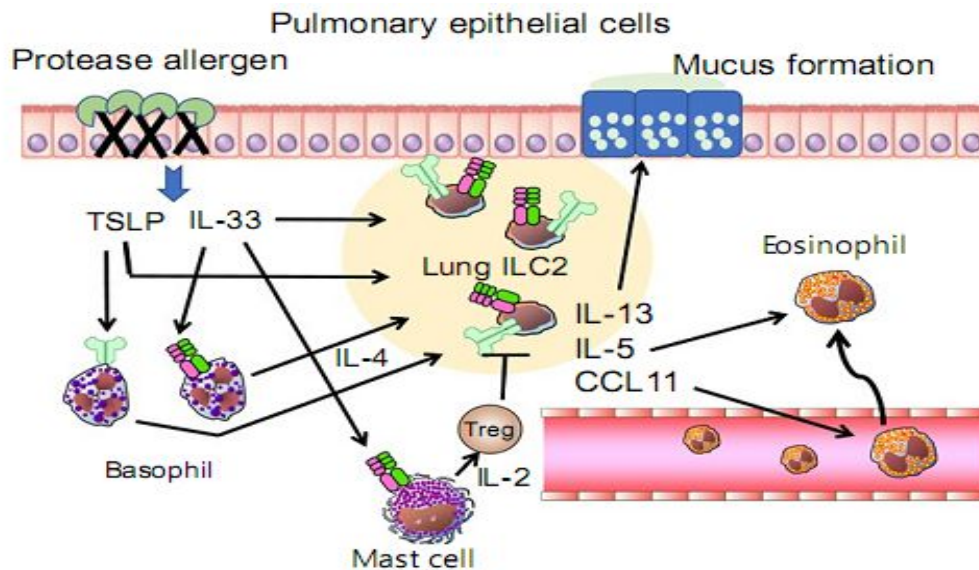


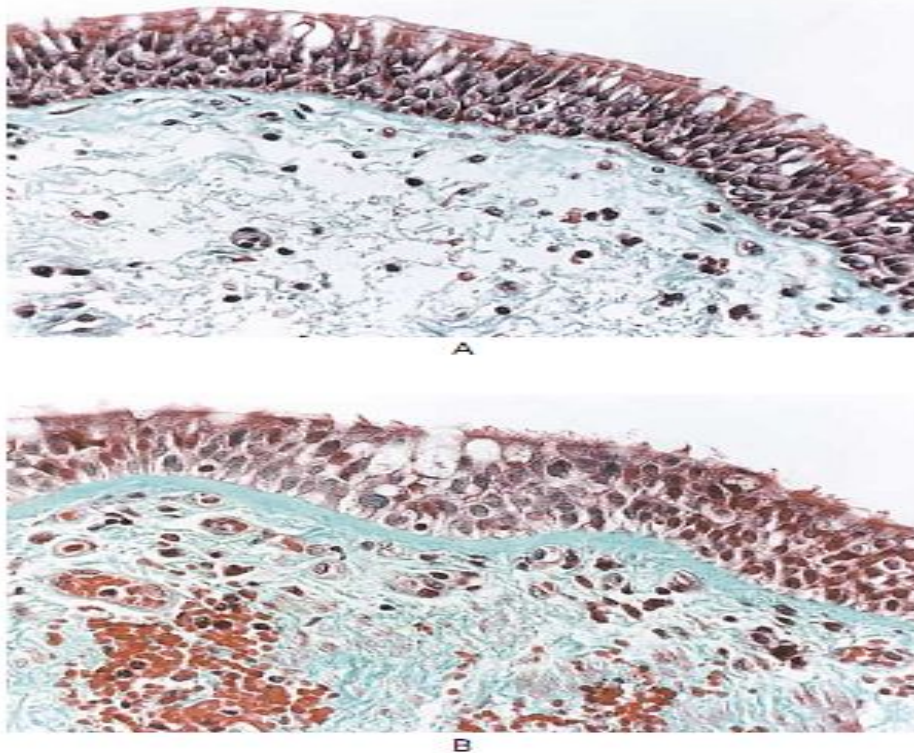
Figure 1.2. Inflammation pulmonaire non atopique (Kubo, 2017).

### 1.1.8. Physiopathologie et pathogénèse de l'asthme

L'étendue des anomalies physiopathologiques de l'asthme est variable selon les patients, comprenant une inflammation des voies respiratoires à éosinophiles couplée à une obstruction réversible des voies respiratoires (Saglani and Menzie-Gow, 2019). Elle est caractérisée par trois processus : une inflammation chronique, une hyperréactivité bronchique et un remodelage des voies respiratoires.

- **L'inflammation chronique** : implique l'interaction de nombreux types cellulaires effectrices (mastocytes, éosinophiles, basophiles) et de multiples médiateurs avec les voies respiratoires, ce qui aboutit aux caractéristiques physiopathologiques de la maladie dont l'inflammation bronchique et limitation du débit d'air entraînant des épisodes récurrents de toux, et essoufflement (Norimoto et al., 2014; Program and Asthma, 2007).
- **Hyperréactivité bronchique** : augmente après une exposition sensibilisante et diminue après un traitement anti-inflammatoire ainsi qu'après exposition aux allergènes (Fahy, 2015).
- **Remodelage des voies aériennes** : implique l'activation de nombreuses cellules de la structure, ce qui entraîne des modifications permanentes, augmentent l'obstruction et la réactivité des voies respiratoires et rendent le patient moins sensible au traitement (Holgate and Polosa, 2006). Ces changements structurels peuvent inclure un épaississement de la sous-membrane basale (**figure1.3**), une fibrose sous-

épithéliale, une hypertrophie et une hyperplasie des muscles lisses des voies respiratoires, une prolifération et une dilatation des vaisseaux sanguins et une hyperplasie et une hypersécrétion des glandes muqueuses (Program and Asthma, 2007).



**Figure 1.3. Spécimen de muqueuse bronchique provenant d'un sujet sans asthme (panel A) et d'un patient souffrant d'asthme léger (panel B) (hématoxyline et éosine, 40  $\times$ ).** Chez le sujet sans asthme, l'épithélium est intact; il n'y a pas d'épaississement de la membrane basale, ni d'infiltrat cellulaire. En revanche, chez le patient asthmatique léger, il existe des signes d'hyperplasie des cellules caliciformes dans la paroi des cellules épithéliales. La membrane basale est épaissie, avec dépôt de collagène dans la sous-muqueuse et infiltrat cellulaire. Photographies gracieusement fournies par Nizar N. Jarjour, M.D., Université du Wisconsin (Busse and Lemanske, 2001).

### 1.1.9. Evaluation du contrôle de l'asthme

Afin de faciliter une évaluation précise de la maîtrise de l'asthme, un grand nombre d'outils multidimensionnels, simples et faciles à administrer ont été développés. Les outils les plus couramment utilisés sont : Test de contrôle de l'asthme (ACT), Test de contrôle de l'asthme chez l'enfant (cACT), Questionnaire de contrôle de l'asthme (ACQ), Questionnaire d'évaluation du traitement de l'asthme (ATAQ) et Échelle des symptômes de l'asthme de Lara (LASS), dont le seul objectifs est de déterminer le niveau global de contrôle de l'asthme

avec une grande similitude. Néanmoins, des différences considérables subsistent entre elles telle que l'utilisation de différentes plages pour leurs systèmes de notation. Alors que l'ACQ est noté sur une échelle de 7 points allant de 0 (totalement contrôlé) à 6 (extrêmement mal contrôlé), le score total ACT varie de 5 (contrôle médiocre de l'asthme) à 25 (contrôle total de l'asthme). L'âge du patient ciblé est une autre différence entre les outils (Alzahrani and Becker, 2016). Le LASS, par exemple, a été développé pour les patients de tous âges (Lara et al., 2000). Le cACT, cependant, a été développé pour les patients âgés de 4 à 11 ans (Liu et al., 2007). En outre, il existe une divergence entre le contenu de la plupart des outils et les directives nationales et internationales ; GINA et NAEPP EPR-3 de 2015.

Néanmoins, le LASS est le seul outil qui évalue le risque d'exacerbation de l'asthme dans le cadre de son évaluation. De plus, l'ACQ est le seul outil qui comprend la fonction pulmonaire dans le cadre de la mesure de contrôle de l'asthme, considérée comme un critère essentiel. D'autre part, certains de ces outils évaluent des concepts de contrôle de l'asthme non inclus dans les lignes directrices, tels que la perception du contrôle de l'asthme par le patient dans ACT, cACT et ATAQ et des symptômes spécifiques de l'asthme, tels qu'un essoufflement dans ACT, une respiration sifflante dans l'ACQ et la toux et la douleur thoracique dans la LASS (Alzahrani and Becker, 2016).

Parmi les outils examinés, l'ACQ est utilisé dans la majorité des essais cliniques et l'ACT contient les données de validation les plus publiées. Pour les enfants, le cACT contient davantage de données de validation que d'autres outils destinés aux enfants asthmatiques (Chen et al., 2008; Piacentini et al., 2009).

### **1.1.10. Cibles thérapeutiques et traitement de l'asthme**

Malgré l'évolution de la recherche scientifique dans le domaine, il n'existe actuellement aucun traitement curatif de l'asthme. Les corticostéroïdes sont largement utilisés pour traiter les symptômes de la maladie et peuvent aussi être amplifiés par les agonistes des récepteurs  $\beta_2$ -adrénergiques afin de soulager la bronchoconstriction (Hall and Agrawal, 2017).

#### **1.1.10.1. Prévention primaire**

La consommation maternelle d'aliments allergènes (comme le lait de vache, les arachides ou le poisson) et les apports en vitamine D et E pendant la grossesse pourraient conduire à une diminution du risque d'allergie et de respiration sifflante chez leur progéniture, respectivement (Arasi et al., 2019; Bunyavanich et al., 2014; Chawes et al., 2016).

D'autre part, l'immunothérapie allergénique (AIT) est considérée comme le seul traitement étiologique capable de prévenir le développement de l'asthme (Halken et al., 2017).

#### 1.1.10.2. Corticostéroïdes

Les « » sont les plus efficaces contre l'asthme chez l'enfant et sont recommandés par de nombreuses directives internationales de gestion de l'asthme grâce à leur propriété anti inflammatoire (Ramadan et al., 2019; Loughheed et al., 2012).

De nombreuses études portant sur les CSI dans l'asthme allergique ont montré une amélioration des symptômes, de l'hypersensibilité des voies respiratoires, de la fonction pulmonaire et de la fréquence d'exacerbation (Du et al., 2017; Ramadan et al., 2019).

#### 1.1.10.3. Bronchodilatateurs

- ◆ Agonistes B2 à courte durée d'action (SABA)
- ◆ Agonistes B2 à longue durée d'action (LABA)

#### 1.1.10.4. Anticorps

Des médicaments biologiques, tels que les anti-IgE (omalizumab) et les anticorps dirigés contre la sous-unité  $\alpha$  du récepteur de l'IL-4 et de l'IL-13 (dupilumab), ont été approuvés pour certains phénotypes spécifiques de différents âges (Tableau 1.2) (Arasi et al., 2019).

**Tableau 1.3. Principaux traitements biologiques ciblés contre l'asthme sévère chez les enfants** (Arasi et al., 2019)

IL, interleukine; iv, intraveineux; pt, patient; sc, sous-cutané; semaine, semaine année

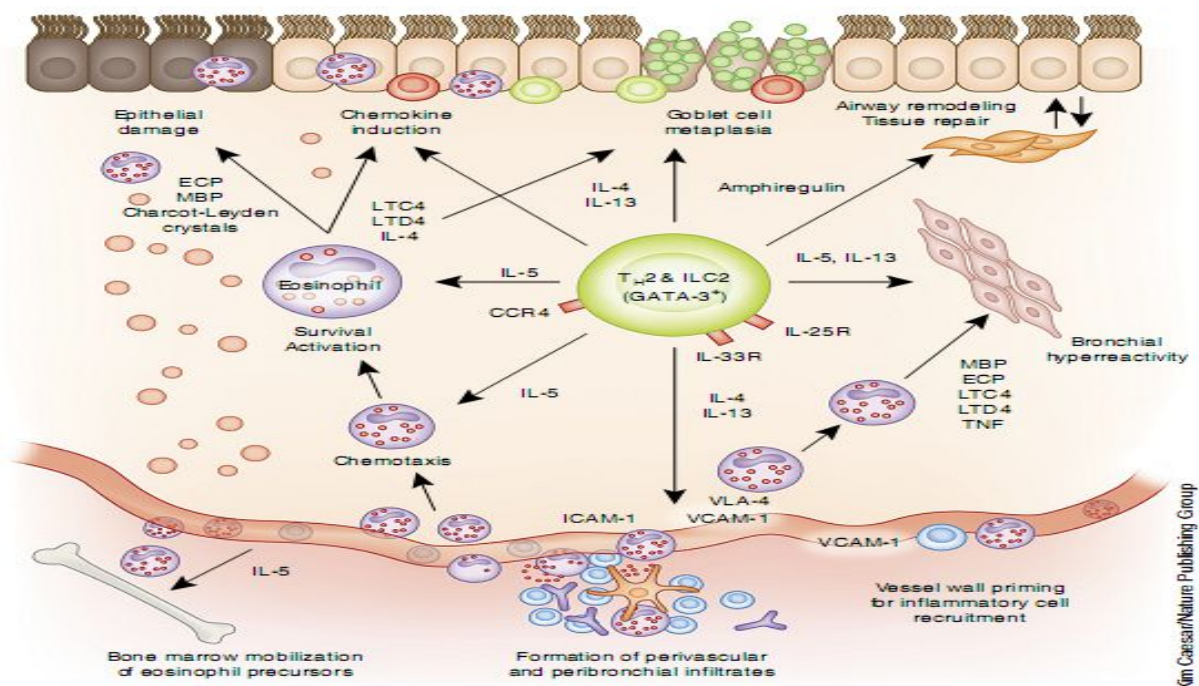
Médicament commercial), dosage	(nom	Mécanisme d'action	Population suggérée	Effets indésirables
<b>APPROUVÉ</b>				

<p><b>Omalizumab</b> (Xolair), injections sc toutes les 2 à 4 semaines, en fonction du poids corporel et des taux d'IgE</p>	<p>Anti-IgE; lie le récepteur Fc d'IgE circulant librement et télécharge la production d'IgE</p>	<p>Âge &gt; 6 ans; 30 UI &lt; IgE &lt; 700 UI * ; test cutané positif ou niveau élevé d'IgE spécifiques vers une plante vivace</p>	<p>Anaphylaxie (~ 0,2% pts); surveiller l'infection helminthique</p>
<p><b>Mepolizumab</b> (Nucala), 100 mg Points âgés de 12 ans ou plus (40 mg Points âgés de 6 à 11 ans) par des injections sous-cutanées toutes les 4 semaines de cours</p>	<p>Anti-IL-5; lie l'IL-5 en circulation</p>	<p>Âge &gt; 12 ans; asthme éosinophile</p>	<p>Zoster (rare); éviter si infection helminthique active</p>
<p><b>À L'ENQUÊTE</b></p>			
<p><b>Reslizumab</b> (Cinqair), approuvé pour les adultes (3 mg / kg par injection iv toutes les 4 semaines)</p>	<p>Anti-IL-5; lie l'IL-5 en circulation</p>	<p>Asthme éosinophile</p>	<p>Anaphylaxie (rare); éviter si infection helminthique active</p>
<p><b>Dupilumab</b> (Dupixent), approuvé pour les adultes atteints de dermatite atopique</p>	<p>Anti-IL-4 et anti-IL-13; se lie à la sous-unité <math>\alpha</math> commune du récepteur pour IL-4 et IL-13</p>	<p>Asthme éosinophile</p>	<p>Éosinophilie (rare); éviter les vaccins vivants; éviter si infection helminthique</p>



## 1.2. Système immunitaire et asthme allergique

L'inflammation des voies respiratoires allergiques est centralisée par les cellules Th2 qui sécrètent les cytokines effectrices clés IL-4, IL-5 et IL-13, entraînant une pathologie caractéristique de l'asthme comprenant une inflammation éosinophile persistante, une hypersensibilité des voies respiratoires et un remodelage, une hyperplasie des muscles lisses, une cellule de Goblet métaplasie et augmentation de l'angiogenèse (Fahy, 2015; Lambrecht and Hammad, 2015; Li et al., 2019).



**Figure 1.4. Fonctions des cellules TH2 et des cellules ILC2 dans l'asthme.** Les cellules TH2 et les cellules ILC2 partagent de nombreuses caractéristiques, telles que l'expression du facteur de transcription GATA-3, qui pilote la production de cytokines TH2, et l'expression des récepteurs de chimiokines CCR4, CCR8 et CRTH2. Grâce à la production d'IL-5, le développement des éosinophiles dans la moelle osseuse se fait. Via l'IL-13, ils peuvent provoquer une métaplasie des cellules caliciformes et une hyperréactivité bronchique et amorcer la paroi vasculaire en vue d'une régulation positive de la molécule d'adhésion VCAM-1 et ICAM-1, amorçant ainsi la sortie des éosinophiles. Les cellules TH2 produisent plus d'IL-4. On a constaté que les deux types de cellules produisent de l'IL-9 (non présenté ici), bien que cela puisse être une population séparée de cellules TH9. ECP, protéine cationique éosinophile; MBP, principale protéine de base; VLA-4, intégrine  $\alpha 4\beta 1$ ; VCAM-1, molécule d'adhésion cellulaire vasculaire 1 (Lambrecht and Hammad, 2015).

Le processus pathogène implique une réaction en phase précoce suivie d'une réaction en phase tardive, impliquant des activités coordonnées des cellules T CD4-positives, des mastocytes, des cellules dendritiques, des macrophages et des éosinophiles (Barnes et al., 1998). Ces cellules libèrent un large éventail de médiateurs immunorégulateurs censés contribuer à l'asthme (**tableau1 .4**) ((Phipps et al., 2004; Puxeddu and Levi-Schaffer, 2004).

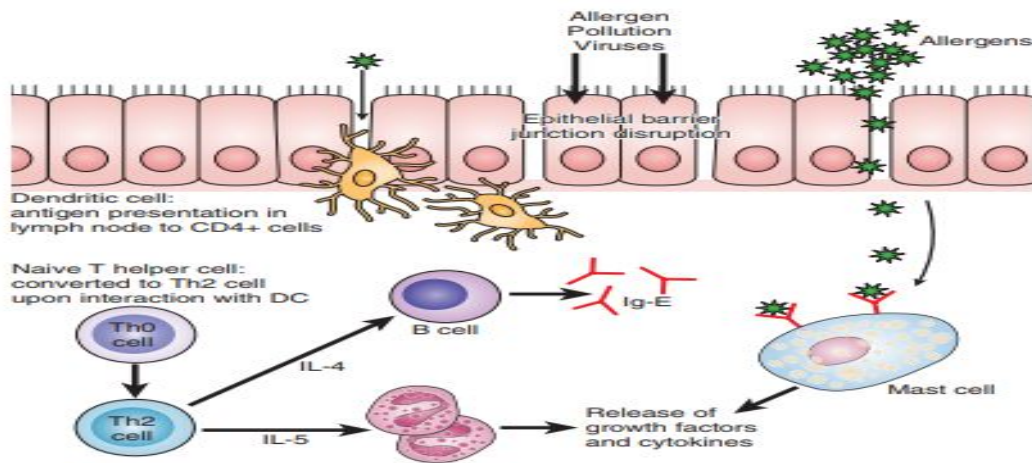
**Tableau 1.4. Médiateurs immunorégulateurs intervenant dans l'asthme** (d'après (Phipps et al., 2004; Puxeddu and Levi-Schaffer, 2004).

Interleukine (IL) ; facteur de nécrose tumorale (TNF)  $\alpha$  ; protéine chimiotactique monocyttaire (MCP) ; protéine inflammatoire des macrophages (MIP)

Médiateurs immunorégulateurs	Cellules sécrétrices
Histamine	Mastocytes
Métabolites de l'acide arachidonique	Mastocytes, macrophages et éosinophiles
Protéases	Mastocytes, macrophages et éosinophiles
Cytokines et chimiokines (IL-4, IL-5, IL-13, IL-15, IL-17, IL-18, TNF $\alpha$ , MCP -1, MCP-3, MCP-4, MIP-1 $\alpha$ , IL-8 et éotaxine)	Cellules T, mastocytes, macrophages et éosinophiles

### 1.2.1. Phase de sensibilisation

La sensibilisation à un allergène démontre la capacité de l'allergène à induire une réponse cellulaire T<sub>H</sub> 2, dans laquelle l'IL-4 et l'IL-13 dirigent la production d'IgE en favorisant la recombinaison du commutateur de classe d'immunoglobuline dans les lymphocytes B. (Galli et al., 2008; Gould and Sutton, 2008; Larché et al., 2006).



**Figure 1.5. Le développement de la sensibilisation allergique et de l'asthme** (Galli et al., 2008).

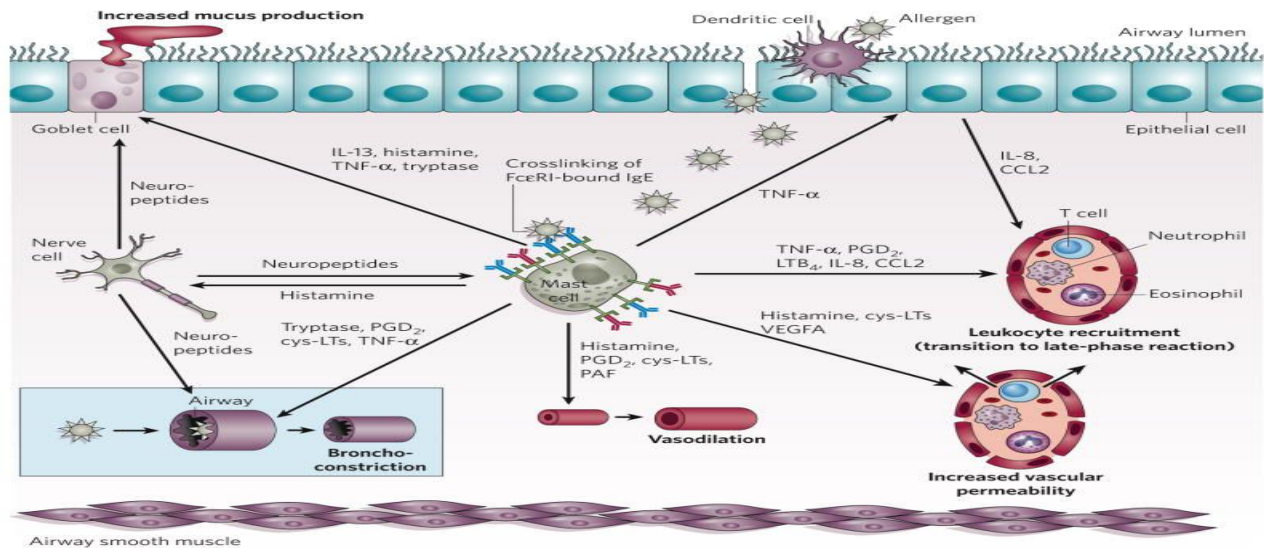
Les expositions par inhalation aux allergènes provoquent un dysfonctionnement de la barrière, ce qui rend l'épithélium «perméable» et permet l'entrée des allergènes à travers la paroi des voies respiratoires, qui doit être reconnue par les cellules présentatrices d'antigènes pulmonaire (cellules dendritiques). Les lymphocytes Th2 libèrent des cytokines notamment (IL-4, IL-5, et IL-13) qui ce sont très importants dans l'initiation et le développement de la physiopathologie asthme. L'IL-4 est essentielle au développement des IgE qui sont synthétisés par les cellules B et libérés dans la circulation où ils reconnaissent l'antigène. IL-5 est un facteur de croissance des éosinophiles, chimioattractant et promoteur de la survie des éosinophiles, tandis que L'IL-13 est le plus étroitement associé au développement de l'hypersensibilité des voies respiratoires et le remodelage des voies respiratoires.. En outre la liaison aux mastocytes pour libérer les facteurs de croissance et les médiateurs se traduisent par des symptômes d'allergie et l'asthme (Galli et al., 2008).

### 1.2.3. Phase effectrice

#### 1.2.3.1. Réaction d'asthme immédiate ou précoce

Des réactions précoces (ou réactions d'hypersensibilité immédiate de type I (Kay, 2001) se produisent quelques minutes après l'exposition à l'allergène et permet l'activation des mastocytes et la libération des médiateurs. Chez les individus sensibilisés, ces mastocytes ont déjà des IgE spécifiques de l'allergène liées à leurs récepteurs de surface IgE de haute affinité de surface (FcεRI). Lors de la réticulation de molécules d'IgE adjacentes par un allergène bivalent ou multivalent, l'agrégation de FcεRI déclenche un processus complexe de signalisation intracellulaire qui aboutit à la sécrétion de trois classes de produits

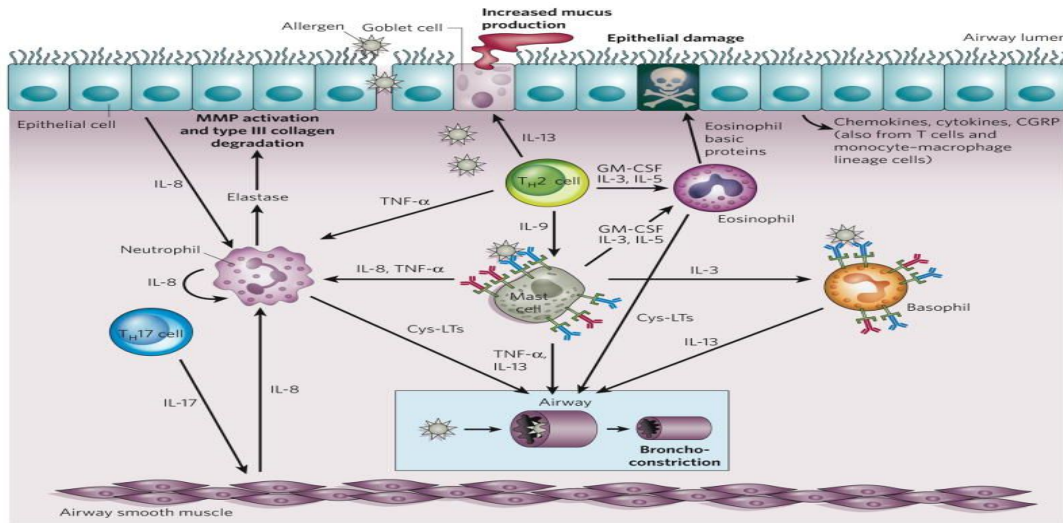
biologiquement actifs: celles stockées dans les granules cytoplasmiques, les médiateurs dérivés des lipides et récemment synthétisés. cytokines, chimiokines et facteurs de croissance, ainsi que d'autres produits (Kraft and Kinet, 2007) (Marshall, 2004).



**Figure 1.6. Phase précoce d'inflammation des voies respiratoires induite par l'allergène** (Galli et al., 2008).

Les molécules d'IgE individuelles qui sont liées aux molécules de FcεRI sur un seul mastocyte peuvent être spécifiques de différents antigènes. La reconnaissance d'un allergène particulier par une IgE liée à FcεRI spécifique d'un antigène dérivé de cet allergène (IgE spécifique de l'allergène) induit une agrégation de FcεRI, ce qui permet l'activation des mastocytes pour sécréter des médiateurs préformés et des médiateurs dérivés des lipides et pour augmenter la synthèse de nombreuses cytokines, chimiokines et facteurs de croissance. Les médiateurs rapidement sécrétés entraînent une bronchoconstriction (en bas à gauche), une vasodilatation, une augmentation de la perméabilité vasculaire et une augmentation de la production de mucus. Les mastocytes contribuent également à la transition vers la réaction en phase tardive en favorisant un afflux de leucocytes inflammatoires, à la fois en régulant positivement les molécules d'adhésion sur les cellules endothéliales vasculaires (par exemple, via TNF-α) et en sécrétant des médiateurs chimiotactiques (tels que LTB<sub>4</sub> et PGD<sub>2</sub>) et des chimiokines (telles que IL-8 et Ligand CC-chimiokine 2 (CCL2)) (Galli et al., 2008).

1.2.3.2. Phase tardive



**Figure 1.7. Phase tardive d'inflammation des voies respiratoires induite par l'allergène (Galli et al., 2008).**

Les réactions en phase tardive ont de nombreuses caractéristiques en commun avec les réactions en phase précoce. Mais les réactions en phase tardive surviennent généralement 2 à 6 h après l'exposition à l'allergène et atteignent souvent leur maximum après 6 à 9 h, et sont supposées refléter les actions de cellules immunitaires innées et adaptatives qui ont été recrutées dans la circulation, ainsi que la sécrétion de médiateurs inflammatoires par les cellules résidant dans le tissu. Les cellules immunitaires innées notamment les neutrophiles, les monocytes (non représentés), les éosinophiles et les basophiles. Parmi les autres cellules sécrétant des médiateurs inflammatoires, on peut citer les mastocytes activés par agrégation de FcεRI dépendant des IgE et des allergènes, certaines populations de mastocytes peuvent également rapidement sécréter le TNF-α à partir de réserves préformées. De plus les lymphocytes T résidents ou tissés dans les tissus qui reconnaissent les peptides dérivés des allergènes. Par conséquent, dans une réaction en phase tardive, par exemple, l'élastase libérée par les neutrophiles favorise l'activation des métalloprotéinases matricielles (MMP) et la dégradation du collagène de type III. De plus, les protéines basiques libérées par les éosinophiles peuvent endommager les cellules épithéliales, et plusieurs autres médiateurs produits par des cellules recrutées ou résidant dans les tissus peuvent induire une bronchoconstriction : peptide lié au gène de la calcitonine (CGRP), facteur stimulant les colonies de granulocytes – macrophages (GM-CSF), IL-17 (Galli et al., 2008).

### 1.2.3.3. Phase de remodelage bronchique

Le remodelage des voies aériennes implique l'activation de nombreuses cellules de la structure, ce qui entraîne des modifications permanentes des voies respiratoires, qui augmentent l'obstruction des voies respiratoires et la réactivité des voies respiratoires et rendent le patient moins sensible au traitement (Holgate and Polosa, 2006). Ces changements structurels peuvent inclure une desquamation de l'épithélium accompagnée d'une augmentation de l'espace situé entre les cellules épithéliales basales, une hypertrophie et une hyperplasie du muscle lisse, une hypertrophie des cellules glandulaires, associée à une hypersécrétion de mucus et à une fragmentation des fibres d'élastine du tissu conjonctif. Un épaissement de la membrane basale, accompagné d'une fibrose sous-épithéliale, caractérisée par un dépôt de collagène, de ténascine et de fibronectine avec une augmentation du nombre de fibroblastes et de myofibroblastes est également observé (Bousquet et al., 2000) (Elias et al., 1999).

### 1.3. Vitamine D et son rôle immuno-modulateur au cours des allergies inflammatoires

#### 1.3.1. Vitamine D

La forme active de la vitamine D,  $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamine D<sub>3</sub> ( $1,25$ -[OH]<sub>2</sub>D<sub>3</sub>), est une hormone sécostéroïde produite principalement par la peau lors d'une exposition au rayonnement ultraviolet B et peut être fournie par le régime alimentaire ou par des suppléments (Guillot et al., 2010).

C'est un nutriment liposoluble qui joue un rôle crucial dans l'homéostasie du phosphate de calcium et le métabolisme osseux, ainsi que dans la régulation immunitaire et dans les infections respiratoires (Ali and Nanji). Une déficience en vitamine D est liée au risque accru de maladies auto-immunes et de dysfonctionnements respiratoires dont l'asthme (Chambers and Hawrylowicz, 2011).

#### 1.3.2. Biosynthèse de la vitamine D

Les cellules épidermiques et dermiques absorbent les rayons ultraviolet B (UVB) (longueurs d'onde de 270 à 300 nm) qui fendent le noyau B du 7-déhydrocholestérol, conduisant à la production de pré-vitamine D<sub>3</sub>. Cette pré-vitamine D<sub>3</sub> est ensuite rapidement convertie en vitamine D<sub>3</sub>, qui pénètre dans le foie après avoir quitté la peau. Ainsi, dans le foie, il est converti en 25-hydroxyvitamine D par les enzymes du cytochrome P450 (25-hydroxylases), qui est un métabolite circulant qui est converti en sa forme active, la  $1,25$ - (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, à l'aide de l'enzyme mitochondriale 25-hydroxyvitamine D-1  $\alpha$ -hydroxylase (Mora et al., 2008).

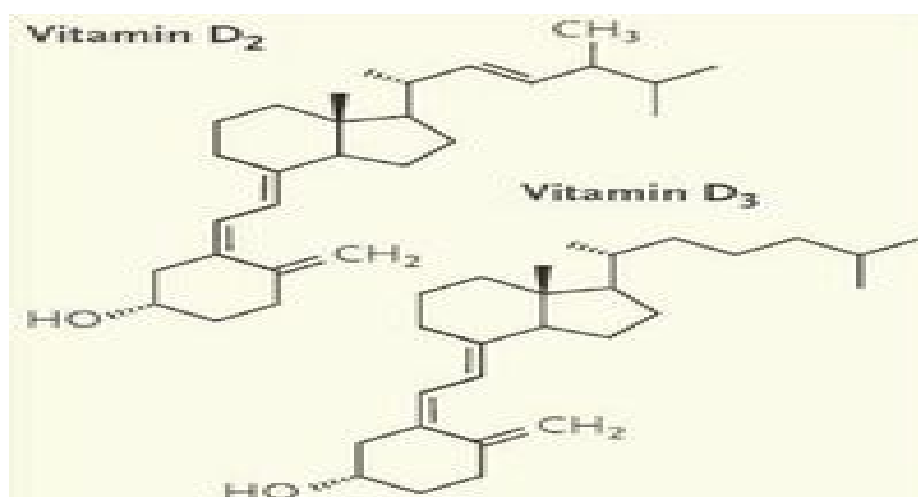


Figure 1.8. Molécule de vitamine D

### 1.3.3. Vitamine D et système immunitaire

On pensait initialement que la conversion de la 25-hydroxyvitamine D en 1,25- (OH) 2D<sub>3</sub> se produisait principalement dans les cellules rénales, mais il existe de plus en plus des preuves qui montre la présence des sources extrarénales de 1,25- (OH) 2D<sub>3</sub> par des cellules comprenant des macrophages, des cellules épithéliales et les cellules dendritiques , qui peuvent représenter une source importante de vitamine D ayant des actions immunomodulatrices dans les tissus (Adams and Hewison, 2008; Hewison, 2010; Mora et al., 2008) .

La vitamine D est un immunomodulateur puissant capable d'atténuer les signaux inflammatoires dans plusieurs types de cellules impliquées dans la réponse asthmatique (Hall and Agrawal, 2017).

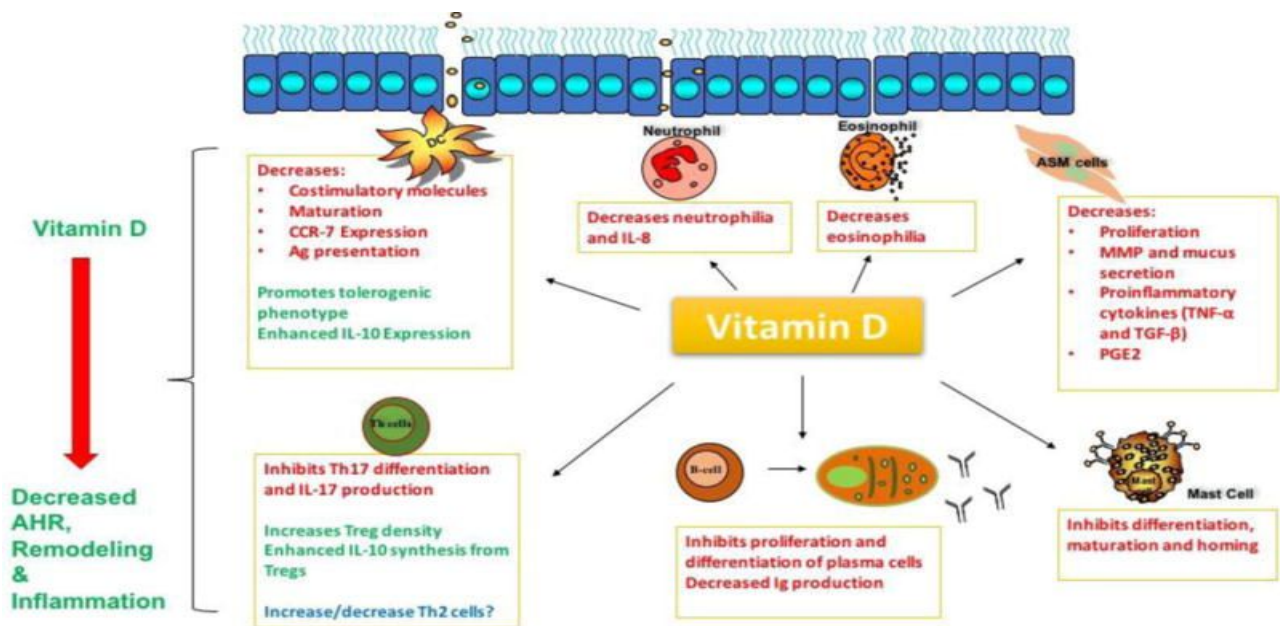
### 1.3.4. Récepteur de la vitamine D

La vitamine D active se lie au récepteur de la vitamine D (VDR), membre de la superfamille des récepteurs nucléaires des hormones; cela conduit à un changement de conformation du VDR qui se traduit par une liaison au récepteur X rétinoïque (RXR) et à la formation d'un hétérodimère qui effectue une translocation dans le noyau, où il peut favoriser la transcription de gènes sensibles à la vitamine D. L'hétérodimère VDR – RXR peut également se lier à un élément de réponse « négatif » à la vitamine D et empêcher la transcription d'un gène, ou se lier à des facteurs de transcription présents dans le noyau et empêcher la liaison à un gène cible promoteur (Mora et al., 2008) .

La VDR est exprimée par de nombreuses cellules du système immunitaire, notamment les cellules B et T activées, les monocytes et les cellules dendritiques (CD). Ceci représente un intérêt considérable pour les propriétés immunomodulatrices de la vitamine D, y compris sa capacité à promouvoir des populations régulatrices de lymphocytes T (Treg) (Chambers and Hawrylowicz, 2011).

### 1.3.5. Vitamine D et asthme allergique

La carence en vitamine D sérique (<20 ng / ml) a été associée à une augmentation de l'inflammation, des exacerbations, une inflammation accrue des voies respiratoires, et une diminution de la fonction pulmonaire chez les sujets asthmatiques donc l'utilisation de la supplémentation en vitamine D en tant qu'option thérapeutique potentielle suscite un vif intérêt (Hall and Agrawal, 2017).



**Figure 1.9. Effets immunomodulateurs de la vitamine D sur les cellules inflammatoires dans l'asthme allergique.** Hyperréactivité des voies respiratoires; Antigène Ag; IL-interleukine; Cellule auxiliaire Th-T; Facteur de nécrose tumorale TNF; Facteur de croissance transformant TGF; Cellules régulatrices Treg-T; PGE<sub>2</sub>. prostaglandine E2 (Hall and Agrawal, 2017).

La vitamine D, en liant et en activant le VDR, s'est avérée soulager l'inflammation associée à l'asthme allergique. Dans les cellules ASM, la vitamine D réduit la prolifération, la production de cytokines pro-inflammatoires, les MMP et la sécrétion de mucus. Il a été démontré que la vitamine D diminuait les molécules de co-stimulation, l'expression de CCR-7, la maturation et la présentation de l'antigène dans les CD, tout en favorisant les CD tolérogéniques avec une



expression accrue de l'IL. Dans les lymphocytes T, il a été rapporté que la vitamine D modifiait l'équilibre entre les cellules Th17 et les cellules Treg, ce qui était démontré par une diminution de la production d'IL-17 et une production accrue d'IL-10. L'hormone inhibe la différenciation et la prolifération des lymphocytes B en plasmocytes et est supposée jouer un rôle dans la diminution de la production d'anticorps. Dans les cellules immunitaires innées impliquées dans l'asthme, la vitamine D inhibe la différenciation, la maturation, la homing et la sécrétion de cytokines à partir de mastocytes, neutrophiles et éosinophiles. L'effet global de cette immunomodulation est une diminution de l'hyperréactivité des voies aériennes, de l'inflammation et du remodelage de l'asthme (**figure 1.9.**) (Hall and Agrawal, 2017).

### **1.3. Microbiote, fibre alimentaire et maturation des cellules immunitaires**

#### **1.3.1. Microbiome humain**

De nouvelles études relient l'asthme à la composition et à la fonction de l'ensemble des microbes qui résident dans et sur l'interaction avec le corps humain appelé microbiome humain (Fujimura and Lynch, 2015). Les asthmatiques possèdent une diversité de microbiome plus élevée et une composition modifiée, avec moins de bactéroïdes et plus de protéobactéries par rapport aux sujets témoins en bonne santé (Sverrild et al., 2017).

Il a été estimé que le nombre de cellules lumineales microbiennes sont environ 10 fois plus nombreuses que les cellules humaines eucaryote (Ley et al., 2006; Savage, 1977).

Parallèlement, le génome du microbiome code 100 fois plus d'informations génétiques que le génome de l'hôte lui-même (Kang et al., 2017). Les intestins hébergent environ 500 espèces différentes de microorganismes, pesant environ 1,5 kg chez les sujets normaux (Hooper et al., 2012).

Ainsi cette immense population de microbes commensaux joue un rôle crucial au sein de l'organisme humain et assure des fonctions essentielles. Les microbes gastro-intestinaux interviennent dans la digestion enzymatique des glucides complexes et des fibres fermentables pour produire des acides gras à chaîne courte (AGCC); source d'énergie essentielle pour le revêtement des cellules épithéliales de l'intestin d'une part (Roediger, 1980) et qui acidifient le microenvironnement gastro-intestinal local d'autre part, empêchant la colonisation ou la prolifération d'espèces pathogènes (Fujimura and Lynch, 2015).

Des vitamines, des hormones essentielles et une gamme de composés anti-inflammatoires sont également bio synthétisées par le microbiome intestinal (Herbst et al., 2011; Yatsunenko et al., 2012).

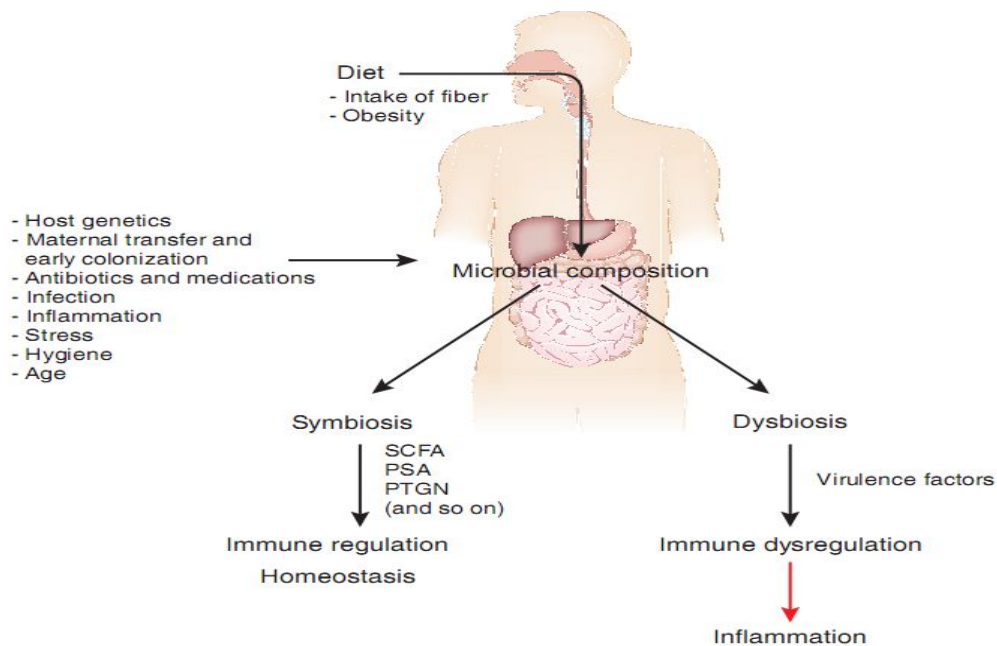
### 1.3.2. Flore intestinal et système immunitaire

En plus de cette grande communauté de bactéries, le tractus gastro-intestinal contient également plus de cellules immunitaires que tout autre organe (Plunkett and Nagler, 2017). Les deux sont en communication intime et le maintien de l'homéostasie entre ces microbes et le système immunitaire est essentiel à la santé (Stefka et al., 2014).

Beaucoup d'études ont prouvé que le microbiome influe sur la réponse immunitaire de l'hôte, en particulier celle du bras adaptatif dans la promotion de réponses immunitaires adaptatives différentes associées à la protection ou au développement de toute une gamme de maladies inflammatoires et auto-immunes chroniques. Ce qui détermine la possibilité que des maladies associées à l'immunité adaptative hyperactives soient dues à une dysbiose du microbiome et à un dysfonctionnement associé, ainsi que des maladies associées à une «activation immunitaire inappropriée» puissent représenter des réponses immunitaires parfaitement appropriées de l'hôte à des compositions spécifiques et bien déterminées de microbiomes pathogènes et à leurs activités associées qui favorisent l'activation immunitaire (Fujimura and Lynch, 2015).

La composition microbienne intestinale est influencée par le régime alimentaire et d'autres facteurs environnementaux de l'hôte. Un microbiote équilibrée entraîne une symbiose; permettant la régulation des réponses immunitaires et inflammatoires par le biais de produits anti-inflammatoires et / ou immunomodulateurs tels que les acides aminés trithérapeutiques, le polysaccharide A (PSA) ce qui contribue au maintien de l'homéostasie.

La dysbiose induit une dérégulation du système immunitaire par manque de produits microbiens bénéfiques et par une augmentation des facteurs de virulence, conduisant à une susceptibilité de l'hôte à l'inflammation. Elle peut survenir par la consommation d'un régime alimentaire occidental, ainsi que par des facteurs génétiques de l'hôte, le transfert maternel et l'utilisation d'antibiotiques (**figure 1.10**) (Maslowski and Mackay, 2011).



**Figure 1.10. Régime alimentaire, composition microbienne et régulation du système immunitaire** (Maslowski and Mackay, 2011).

Les métabolites produit par le microbiote intestinal sont des déterminants clés du mutualisme hôte-microbe et, par conséquent, de la santé ou de la maladie du tractus intestinal (Trompette et al., 2014).

Il a été démontré que certaines souches microbiennes intestinales inhibaient ou atténuaient les réponses immunitaires associées à une inflammation chronique dans des modèles expérimentaux (Kang et al., 2017).

### 1.3.3. Fibres alimentaires

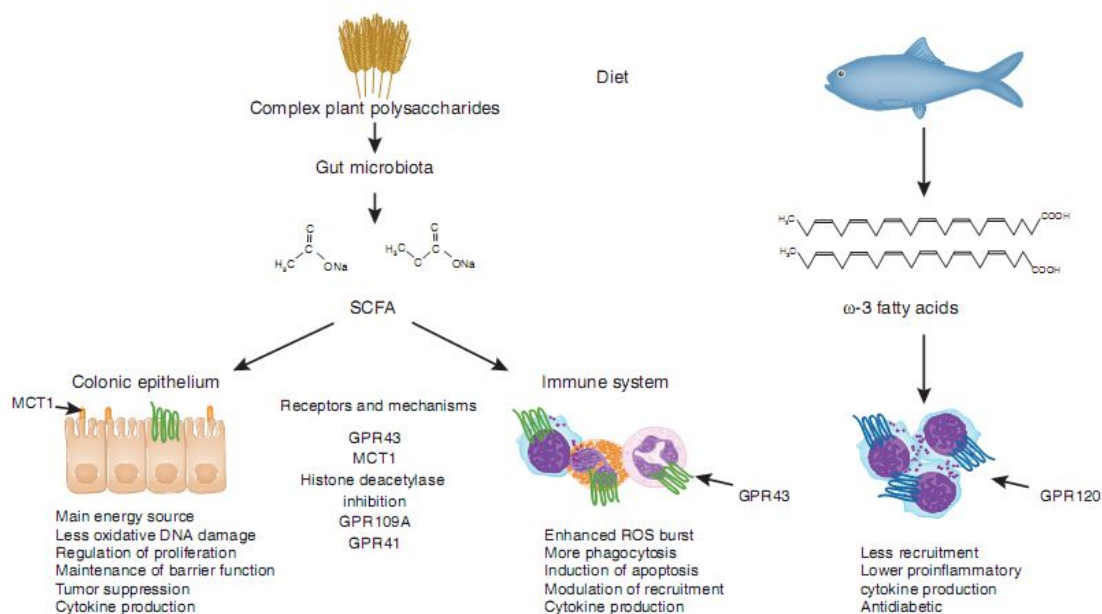
Bien que l'asthme soit dû à une influence génétique importante, les facteurs environnementaux jouent également un rôle distinct (Haines et al., 2017).

De nombreuses études épidémiologiques montrent que la consommation de régimes occidentalisés, souvent riches en graisses et en aliments transformés, et pauvres en fibres, aboutit à une augmentation du risque d'asthme (Carey et al., 1996; Hijazi et al., 2000; Huang and Pan, 2001; Wickens et al., 2005).

Un régime riche en fibres réduit l'inflammation allergique dans les poumons en modifiant la composition des microbes dans l'intestin. Les acides gras à chaîne courte (AGCC) sont produits après la fermentation des fibres solubles par les bactéries intestinales. Dans les modèles animaux, les fibres alimentaires et les AGCC ont démontré des effets anti-

inflammatoires via l'activation de récepteurs d'acides gras libres, tels que les récepteurs 41 et 43 couplés aux protéines G (GPR41 et GPR43) (Halnes et al., 2017), et les acides gras  $\omega$ -3 via les récepteurs 120 couplés aux protéines G (GPR120) (Maslowski and Mackay, 2011).

Les AGCC sont produits par le microbiote intestinal en tant que sous-produit de la fermentation des fibres alimentaires et possèdent plusieurs effets bénéfiques (Tan et al., 2016). Le butyrate est la principale source d'énergie des cellules épithéliales du côlon et est transporté dans les cellules via des transporteurs de monocarboxylate (tels que MCT1 et SLC5A8). Les AGCC maintiennent la fonction de barrière épithéliale, régule la prolifération, supprime la tumeur, diminuent les dommages oxydatifs de l'ADN, régulent la production de cytokines et résolvent l'inflammation. L'acétate améliore la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de la phagocytose, mais induit également l'apoptose et module le recrutement des neutrophiles (figure 10) (Maslowski and Mackay, 2011; Maslowski et al., 2009).



**Figure 1.11. Régime alimentaire, acides gras et actions des GPCrs anti-inflammatoires (Maslowski and Mackay, 2011).**

## 1.4. Arginase

### 1.4.1. Localisation et origine

L'arginase est l'enzyme finale du cycle de l'urée dans le foie et est l'enzyme clé pour l'élimination des ions ammonium hautement toxiques de l'organisme (Maarsingh et al., 2009).

Deux isoenzymes de l'arginase ont été identifiées: l'arginase I et l'arginase II, qui sont codées par des gènes différents et se différencient par leur localisation cellulaire. L'arginase I est une enzyme cytosolique et son gène est situé au chromosome 6q23, alors que l'arginase II est une enzyme mitochondriale, son gène étant attribué au chromosome 14q24 chez l'homme (Gotoh et al., 1997; Sparkes et al., 1986).

Elle catalyse l'hydrolyse de L- arginine (Arg) en urée et en L-ornithine (Orn). L'Orn à son tour induit la formation de deux métabolites ; la polyamine et la L- proline, qui participent au remodelage des voies respiratoires en favorisant la prolifération cellulaire et la synthèse de collagène (Zhang et al., 2015).

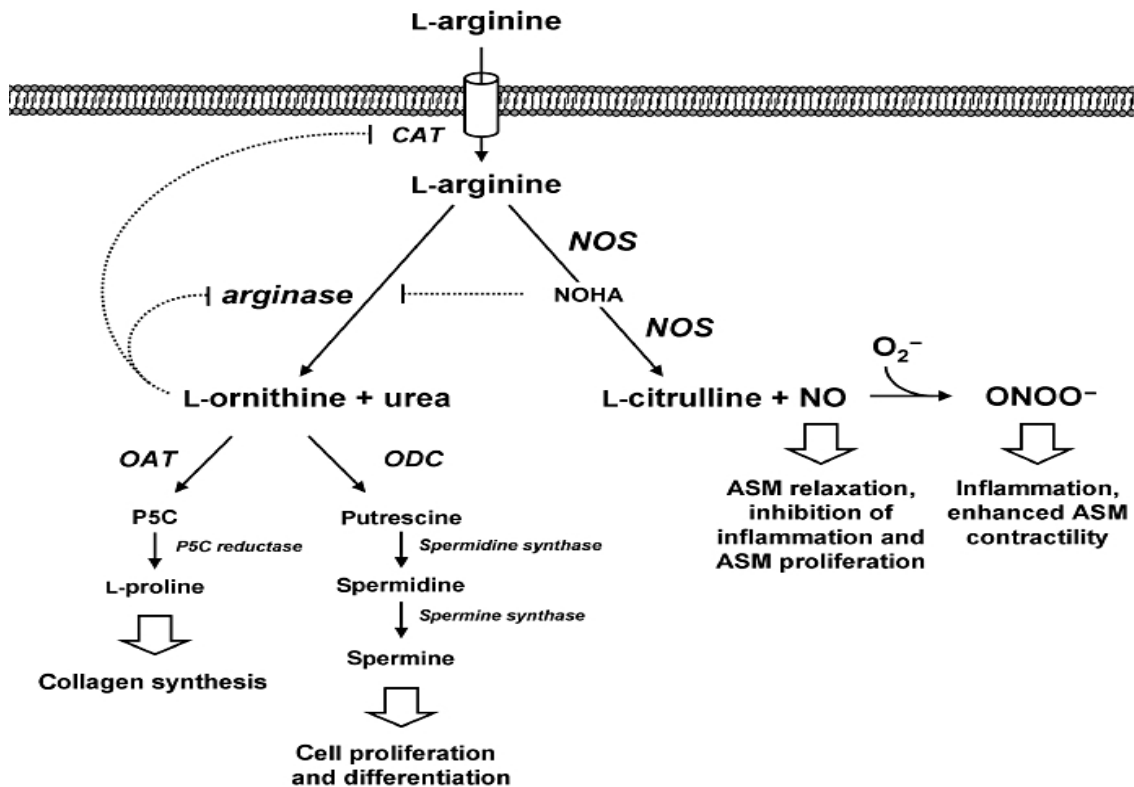


Figure 1.12. Métabolisme de L-arginine (Maarsingh et al., 2009)

### 1.4.2. Métabolisme de L-arginine par l'arginase

L'arginase catalyse l'hydrolyse de L-arginine (Arg) en urée et en L-ornithine (Orn). L'Orn à son tour induit la formation de deux métabolites ; la polyamine et la L- proline, qui participent au remodelage des voies respiratoires en favorisant la prolifération cellulaire et la synthèse de collagène (figure1.6) (Zhang et al., 2015).

Le produit de l'arginase, la L-ornithine, est un précurseur de la production de polyamines (comme la putrescine, la spermidine et la spermine) et de proline qui contrôlent la prolifération, l'activation et la survie cellulaire ainsi que la production de collagène (Zimmermann and Rothenberg, 2006).

### 1.4.3. Arginase et asthme allergique

L'arginase est augmentée dans les poumons des sujets asthmatiques. Ceci affecterait l'hyperactivité des voies aérienne (AHR) en diminuant la disponibilité de la L-arginine pour les oxydes nitriques synthases (NOS), limitant ainsi la production d'oxyde nitrique (NO) (Cloots et al., 2018; North et al., 2009; Zimmermann and Rothenberg, 2006)

Le remodelage des voies respiratoires, distingué par une augmentation de la masse du muscle lisse des voies respiratoires, une fibrose sous-épithéliale, une hyperplasie des cellules caliciformes et une hypertrophie du mucus, est une caractéristique de l'asthme chronique. Une activité accrue de l'arginase pourrait contribuer à ces caractéristiques via une formation accrue de polyamines et de L-proline en aval du produit d'arginase L-ornithine, et via une synthèse réduite d'oxyde nitrique (Maarsingh et al., 2011) .

### Objectif

Evaluer l'activité de l'arginase chez les enfants asthmatiques avant et après supplémentation par la vitamine D et ou les fibres alimentaires.

### But

Montrer l'effet des fibres alimentaires de la vitamine D et de la combinaison entre eux sur l'activité de l'arginase chez les enfants asthmatiques.

## Chapitre 2 : Matériels et méthodes

### 2.1. Patients

Cette étude a été réalisée sur 84 enfants asthmatiques âgés de 5 ans à 17 ans subdivisés en quatre groupes afin de comparer l'activité de l'arginase avant et après supplémentation en fibres alimentaires et/ou la vitamine D. Les enfants consultants au niveau du service pédiatrie à ESH de TLEMCEM ont été recrutés au laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et d'Immunologie de l'Université de Tlemcen (BIOMOLIM) où les prélèvements sanguins et salivaires ont été effectués. Les parents des patients ont remplis un questionnaire détaillé renseignant sur leur habitudes alimentaires, les données ethniques, la localité géographique, l'état de vaccination, les antécédents familiaux d'atopie, de maladie pulmonaire obstructive chronique, et les caractéristiques clinico-démographiques puis signé un consentement éclairé.

Ces enfants sont classés selon les critères GINA en partiellement à non contrôlés malgré une bonne observance thérapeutique, matchés pour l'âge, le sexe et l'Indice de Masse Corporelle, et sont répartis comme suit (**tableau 2.1**) :

**Tableau 2.1. Groupes de patients asthmatiques participant à l'étude**

Groupes	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4
Supplémentation	Fibres alimentaires (-) Vitamine D (-)	Fibres alimentaires (-) Vitamine D (+)	Fibres alimentaires (+) Vitamine D (-)	Fibres alimentaires (+) Vitamine D (+)
Nombre de sujets	22	22	21	19

### 2.2. Critères d'inclusions et d'exclusions

#### 2.2.1. Critères d'inclusions

Les sujet asthmatiques pouvant être inclus :

- Enfants asthmatiques connus, d'âge scolaire (entre 04 et 17 ans)
- Enfants prenant correctement leur traitement de fond
- Enfants recevant une éducation thérapeutique correcte
- Enfants bien suivis, classés comme partiellement à non contrôlés malgré une bonne observance thérapeutique
- Enfants eutrophiés sur le plan staturo-pondéral
- Dont les parents ont signé un consentement éclairé

### 2.2.2. Critères de non inclusions

- Enfants sous antibiothérapie ou ayant été sous antibiotiques durant le mois précédent l'étude
- Enfants atteints d'une autre maladie.
- Enfants obèses
- Enfants asthmatiques partiellement contrôlés non observant au traitement de fond

### 2.2.3. Critères d'exclusions

- Enfants qui vont développer une autre maladie
- Enfants qui ne suivront pas le protocole de notre intervention : refus ou oubli de la Vitamine D ou manquement au régime alimentaire prescrit
- Enfants perdus de vue pour raison de déménagement ou autres
- Enfants ayant pris des antibiotiques durant l'étude

## 2.3. Supplémentation

Une ampoule de vitamine D<sub>3</sub> de 200,000 UI a été administrée une seule fois par voie Orale aux enfants appartenant aux groupes 2 et 4, le premier jour du recrutement au printemps.

D'autre part les fibres ont été prescrites pendant 1 mois pour les groupes 3 et 4. La prise journalière est de 30 g pour les enfants de 12 ans et plus, alors que pour ceux de moins de 12 ans la quantité de fibres alimentaires en grammes est égale à l'âge .

## 2.4. Echantillons

### 2.4.1. Echantillons sanguins

Les échantillons de sang veineux périphérique ont été récoltés dans des tubes secs. Après une centrifugation pendant 10 min à 1000 G (**figure 2.1**), les sérums ont été divisés en aliquotes, transférés dans des Eppendorfs codifiés, et stockés à -20°C.



Figure 2.1. Centrifugation d'échantillons sanguins



### 2.4.2. Echantillons salivaires

Les échantillons salivaires ont été recueillis dans des tubes stériles, divisés en aliquote puis transféré dans des tubes Eppendorfs codifiés et conservés à  $-20^{\circ}\text{C}$ .

### 2.5. Détermination de l'activité de l'arginase dans le sérum et la salive

L'activité de l'arginase a été déterminée au niveau des sérums et des échantillons salivaires des patients par une méthode spectrophotométrique basée sur la détermination de taux de l'urée (Rouzaut et al., 1999).

- Après activation de l'enzyme par incubation des échantillons à  $56^{\circ}\text{C}$  pendant 10 minutes (**figure 2.3**), un volume égale ( $25\ \mu\text{l}$  /  $25\ \mu\text{l}$ ) de sérum activé -ou de la salive- et de la solution d'arginine ( $0,5\text{M}$  ;  $\text{PH}=9,7$  (**figure 2.2.**)) ont été incubés à  $37^{\circ}$  pendant 1h (**figure 2.4**).



Figure 2.2. Ajustement du PH d'arginine après préparation

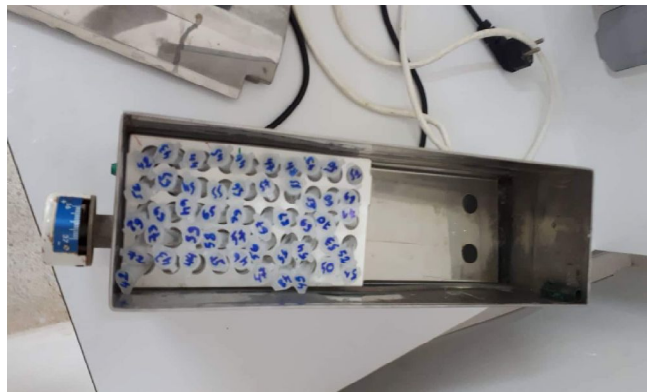


Figure 2.3. Incubation des échantillons au bain marie 10 min à  $56^{\circ}\text{C}$



Figure 2.4. Incubation 1 heure à  $37^{\circ}\text{C}$

### 2.5.1. Dosage de protéine totale

La concentration de protéine total a été déterminé selon les instructions recommandées par le kit commercial

#### ◆ Principe

La protéine présente dans le sérum réagit avec les ions de cuivre (II) en milieu alcalin pour donner un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie.

#### ◆ Procédure

- Pipeter 2 µl du mélange précédent (échantillon + arginine) et déposer dans chaque puits d'une microplaque à 96 puits
- Ajouter 100 µl de réactive A, agiter et incuber la plaque à 37°C pendant 10 min
- A L'aide d'un lecteur ELISA, lire la DO à une longueur d'onde de 492 nm

### 2.5.2. Dosage de l'urée

La concentration de l'urée a été déterminée selon les instructions recommandées par le kit commercial (UREA/BUN-COLOR, BioSystems , 10.1016/s0167-4889(99)00106\_8) .

- Pipeter 1 µl du mélange échantillon+ arginine avec 100 µl de réactive A, agiter et incuber 5 min à 37°C
- Ajouter 100 µl de réactive B, agiter et incuber 5 min à 37°C
- Lire la DO à 680 nm

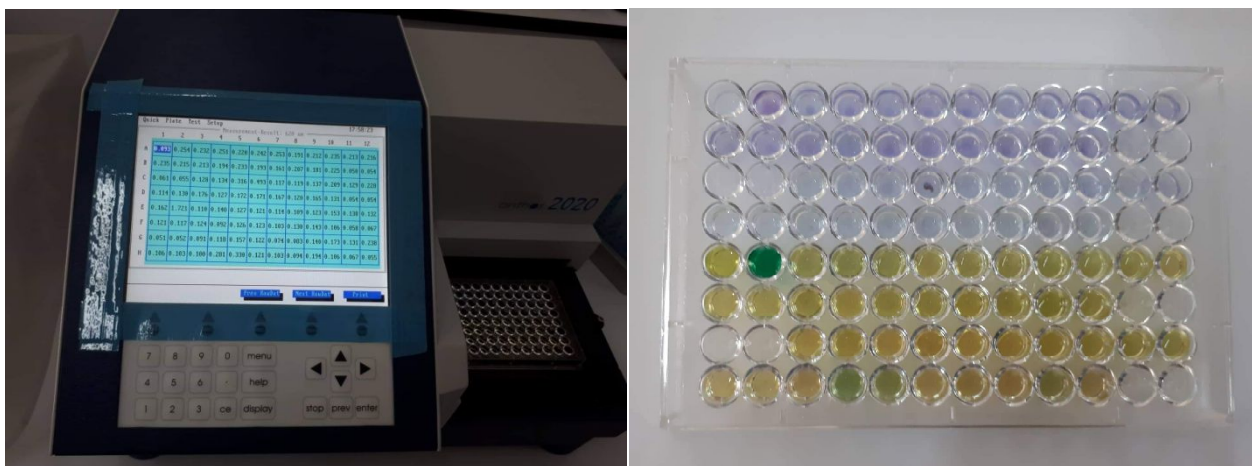


Figure 2.5. Dosage de l'arginase sur plaque de 96 puits par lecteur ELISA

### Chapitre 3 : Résultats

Dans cette étude nous avons évalué in vitro l'activité de l'arginase au niveau du sérum et de la salive des enfants asthmatiques de 5-17 ans divisées en 4 groupes ; dont un groupes témoin et les 3 autres groupes supplémentés différemment afin d'effectuer une comparaison sur l'effet de la vitamine D ,des fibres alimentaires , et de la combinaison vitamine D/ fibres alimentaires sur l'activité de l'arginase .

#### 3.1. Activité de l'arginase

La concentration de l'arginase a été déterminé à partir des concentrations de protéine total et d'urée de chaque patient asthmatique avant et après supplémentation en vitamine D et/ou fibres alimentaires afin de les comparer et de déterminer leur effet sur l'arginase. Les test statistiques utilisés sont les suivant :

Test Kruskal Wallis (non paramétrique) avec ajustement de Dunn Benferou pour comparer entre les 4 groupes de patients avant supplémentation et les 4 groupes après supplémentation .

- Test de Mann Whitney entre le même avant et après

##### 3.1.1. Activité de l'arginase sérique

Les concentrations sériques en arginase chez les enfants asthmatique avant et après supplémentation en vitamine D et / ou fibres alimentaires sont représentés dans **la figure 3.1.**

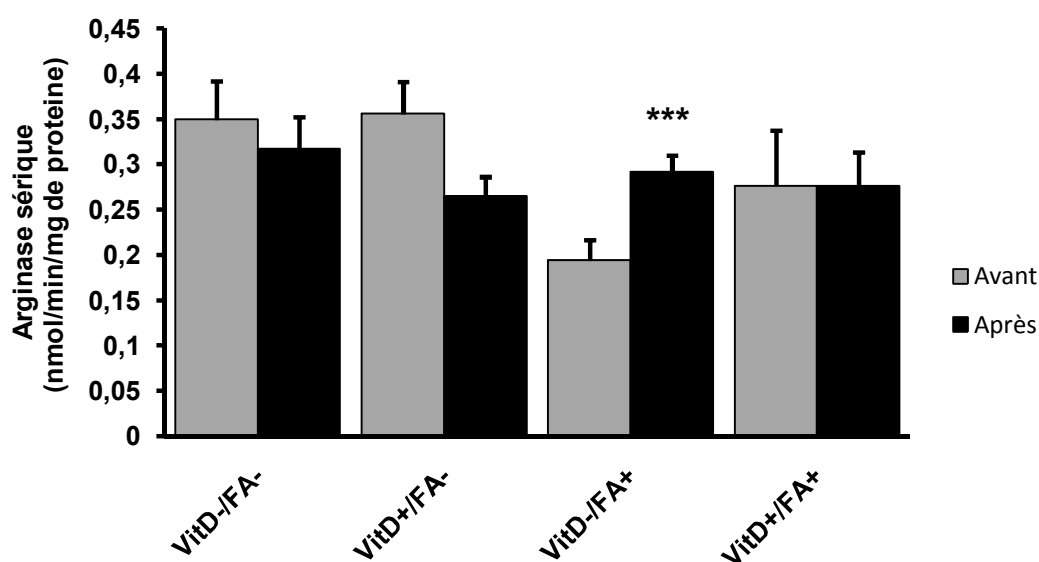


Figure 3.1. Taux sériques d'arginase avant et après supplémentation en vitamine D et /ou fibres alimentaires chez des enfants asthmatique

D'après les résultats représentés dans la **figure 3.1**, au début de l'étude il existe une différence de concentration d'arginase sérique entre les 4 groupes de patients qui est très hautement significative ( $p=0,000093 < 0,05$  par le test de Kruskal Wallis). Alors que après 1 mois de supplémentation en vitamine D et / ou fibres alimentaires la différence de concentration entre les 4 groupes n'était pas marquante donc non significatives ( $p=0,568 > 0,05$  par le test de Kruskal Wallis).

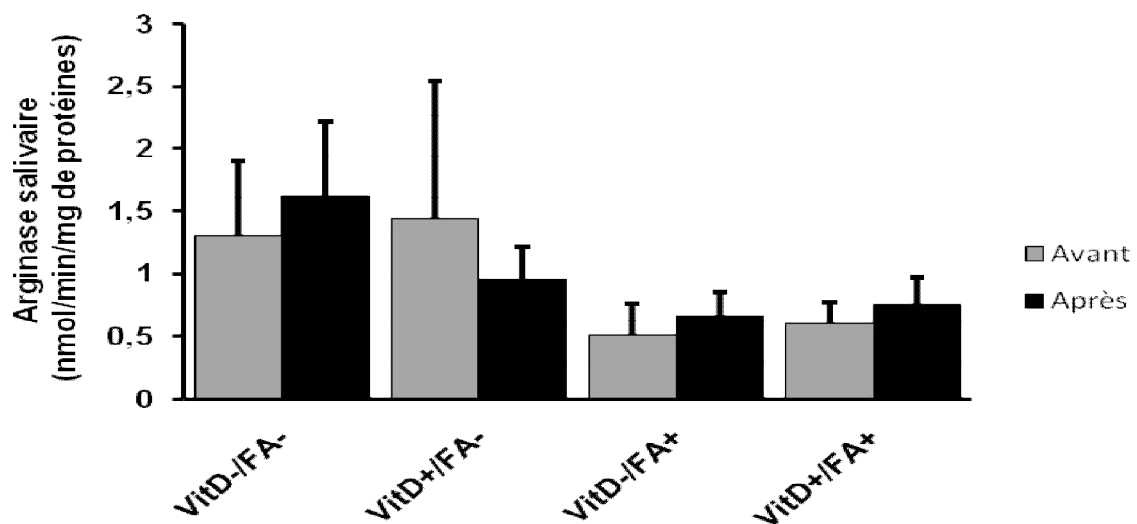
Ainsi la concentration d'arginase sérique pour le premier groupe (vit D-/FA-) après la supplémentation à diminué mais n'a pas atteint le taux de signification ( $p=0,935$  par le test de Man Whitney).

Pour le groupe 2 (vit D+/FA-), on remarque aussi une diminution de la concentration en arginase sérique après supplémentation en vitamine D mais elle n'a pas significative ( $p=0,058$ ).

.Dans le groupe 3 (vit D-/FA+), on observe que les concentrations sériques en arginase ont significativement augmentées ( $p=0,000252$ ) après la supplémentation en fibres alimentaires, donc les fibres alimentaires on eu un effet sur l'activité de l'arginase. Alors que la combinaison vitamine D /fibres alimentaires chez le groupe 4 n'a pas aboutit à un changement de concentration ( $p=0,386$ ).

### 3.1.2. Activité de l'arginase salivaire

Les concentrations salivaire en arginase chez les enfants asthmatique avant et après supplémentation en vitamine D et / ou fibres alimentaires sont représentés dans la **figure3.2**.



**Figure 3.2. Taux salivaire d'arginase avant et après supplémentation en vitamine D et /ou fibres alimentaires chez des enfants asthmatique**

Avant la supplémentation ainsi qu'après, il existe une faibles différence de concentration en arginase entre les 4 groupes de patients pas significative par le test de Test KruskalWallis (**p=0,203, p=0,845** respectivement)

.En utilisant le Test de Mann Whitney, chez le groupes 1(vit D-/FA-) il existe une faible augmentation avec aucune différence significative de concentration (**p=0,570**) ; contrairement au groupe 2 (vitD+/FA-) où la supplémentation en vitamine D a nettement diminué le taux d'arginase de manière significatif (**p=0,025**) ce qui montre sont effet.

Dans le groupe Vit-/FA+ et le groupe Vit+/FA+ le taux d'arginase a augmenter faiblement sans aucune signification (**p=0,53 ; p=0, 249**) respectivement.

### Discussion

L'asthme allergique est une maladie inflammatoire chronique des voies respiratoires caractérisée par des réactions obstructives bronchiques précoces et tardives à médiation par les immunoglobulines IgE en réponse aux allergènes ; une augmentation transitoire de l'hyperréactivité des voies respiratoires suit de l'infiltration de cellules inflammatoires dans les voies respiratoires en particulier les éosinophiles et lymphocytes T helper (Th) de type 2 (Th2) (Cockcroft and Davis, 2006; Maarsingh et al., 2008, 2011).

L'activité accrue de l'arginase joue un rôle clé dans le remodelage des voies respiratoires induit par l'allergène, et l'inflammation.(Maarsingh et al., 2011).

Une publication récente a prolongé ces études en montrant que les patients asthmatiques présentaient une réduction des taux plasmatiques d'arginine par rapport aux témoins non asthmatiques. De plus, l'activité sérique de l'arginase était élevée chez les patients asthmatiques. Cette activité accrue de l'arginase pourrait contribuer à de faibles niveaux d'arginine circulants, limitant ainsi la biodisponibilité de l'arginine et créant une déficience en NO contribuant à l'hyperactivité des voies respiratoires (Morris et al., 2004).

Un régime riche en fibres alimentaires modifie le microbiote intestinal, ainsi le microbiote pulmonaire ce qui montre l'influence de la nutrition sur l'immunité pulmonaire. Les fibres alimentaires augmentent les niveaux de SCFA dans le sang ce qui permet une protection contre l'inflammation allergique pulmonaire (Halnes et al., 2017).

La vitamine D est un nutriment essentiel avec des effets pléiotropes importants et un rôle clé dans l'immunomodulation de la réponse immunitaire.

Dans ce contexte, nous avons évalué l'effet de la vitamine D et des fibres alimentaires sur les taux d'arginase sérique et salivaire d'enfants asthmatiques.

Nos résultats montrent une augmentation hautement significative du taux d'arginase sérique après supplémentation en fibres alimentaires alors que la vitamine D et la combinaison vitD/FA n'a pas influencé. En revanche, seule la supplémentation en vitamine D a diminué le taux d'arginase salivaire. Ceci précise l'influence que pourrait avoir la vitamine D et les fibres alimentaires de manière différente sur l'arginase sérique et salivaire.

Cependant, les résultats des essais cliniques sont controversés et ne confirment pas le rôle bénéfique de la vitamine D dans l'asthme. Dans la plupart des cas, des études interventionnelles menées chez des enfants, des femmes enceintes et des adultes ont montré que la supplémentation en vitamine D avait peu ou pas d'effet sur l'amélioration des symptômes de l'asthme, l'apparition ou l'évolution de la maladie. Cela pourrait être lié à la gravité du processus de la maladie et à d'autres facteurs de confusion. Malgré les données

contradictoires obtenues lors des essais cliniques, la carence en vitamine D influence la réponse inflammatoire des voies respiratoires. Des études complémentaires sont nécessaires pour déterminer les mécanismes exacts par lesquels la supplémentation en vitamine D peut induire des effets anti-inflammatoires (Hall and Agrawal, 2017).

### Chapitre 5 : Conclusion et perspectives

L'asthme, l'une des maladies chroniques non transmissibles les plus courantes chez les enfants, se caractérise par des symptômes respiratoires variables et une limitation variable du débit d'air. C'est une conséquence d'interactions complexes gène-environnement, avec une hétérogénéité dans l'intensité de l'inflammation et du remodelage des voies respiratoires. C'est aussi une maladie complexe qui comprend plusieurs phénotypes aux caractéristiques cliniques et physiopathologiques divergentes.

L'objectif principal du traitement de l'asthme est de parvenir à un contrôle clinique de la maladie et de le maintenir.

Bien que le champ de recherche soit encore relativement récent, les preuves disponibles à ce jour suggèrent que le microbiote intestinal peut constituer une cible fertile pour la prévention ou la gestion de l'asthme allergique et d'autres maladies dans lesquelles la dysfonction immunitaire adaptative est une caractéristique prédominante. Les probiotiques / prébiotiques oraux représentent un traitement possible pour améliorer l'asthme et les maladies allergiques. Ce n'est que récemment que le microbiote intestinal a une influence sur la fonction immunitaire au-delà de l'intestin.

D'autre part, la vitamine D joue un rôle complexe dans le système immunitaire et sa réglementation des divers aspects de l'immunité a permis de spéculer sur son rôle potentiel dans l'asthme.

Enfin cette même étude refaite sur un nombre plus important d'enfant asthmatique serait nécessaire pour définir exactement l'effet de la vitamine D, des fibres alimentaires, et leurs combinaison sur l'activité de l'arginase. Ainsi que leur rôle dans l'asthme et la modulation du système immunitaire.



**Chapitre 6: Bibliographie**

**A**

Adams, J.S., and Hewison, M. (2008). Unexpected actions of vitamin D: new perspectives on the regulation of innate and adaptive immunity. *Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab.* 4, 80–90.

Ali, N.S., and Nanji, K. A Review on the Role of Vitamin D in Asthma. *Cureus* 9.

Alzahrani, Y.A., and Becker, E.A. (2016). Asthma Control Assessment Tools. *Respir. Care* 61, 106–116.

Arasi, S., Porcaro, F., Cutrera, R., and Fiocchi, A.G. (2019). Severe Asthma and Allergy: A Pediatric Perspective. *Front. Pediatr.* 7.

**B**

Baiz, N., and Annesi-Maesano, I. (2012). Is the asthma epidemic still ascending? *Clin. Chest Med.* 33, 419–429.

Barnes, P.J., Chung, K.F., and Page, C.P. (1998). Inflammatory mediators of asthma: an update. *Pharmacol. Rev.* 50, 515–596.

Bousquet, J., Jeffery, P.K., Busse, W.W., Johnson, M., and Vignola, A.M. (2000). Asthma. From bronchoconstriction to airways inflammation and remodeling. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 161, 1720–1745.

Bunyavanich, S., Rifas-Shiman, S.L., Platts-Mills, T.A., Workman, L., Sordillo, J.E., Camargo, C.A., Gillman, M.W., Gold, D.R., and Litonjua, A.A. (2014). Peanut, milk, and wheat intake during pregnancy is associated with reduced allergy and asthma in children. *J. Allergy Clin. Immunol.* 133, 1373–1382.

Busse, W.W., and Lemanske, R.F. (2001). Asthma. *N. Engl. J. Med.* 344, 350–362.

**C**

Carey, O.J., Cookson, J.B., Britton, J., and Tattersfield, A.E. (1996). The effect of lifestyle on wheeze, atopy, and bronchial hyperreactivity in Asian and white children. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 154, 537–540.

Chambers, E.S., and Hawrylowicz, C.M. (2011). The impact of vitamin D on regulatory T cells. *Curr. Allergy Asthma Rep.* 11, 29–36.

Chawes, B.L., Bønnelykke, K., Stokholm, J., Vissing, N.H., Bjarnadóttir, E., Schoos, A.-M.M., Wolsk, H.M., Pedersen, T.M., Vinding, R.K., Thorsteinsdóttir, S., et al. (2016). Effect of Vitamin D3 Supplementation During Pregnancy on Risk of Persistent Wheeze in the Offspring: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* 315, 353–361.

Chen, H.-H., Wang, J.-Y., Jan, R.-L., Liu, Y.-H., and Liu, L.-F. (2008). Reliability and validity of childhood asthma control test in a population of Chinese asthmatic children. *Qual. Life Res. Int. J. Qual. Life Asp. Treat. Care Rehabil.* 17, 585–593.

Cloots, R.H.E., Poynter, M.E., Terwindt, E., Lamers, W.H., and Köhler, S.E. (2018). Hypoargininemia exacerbates airway hyperresponsiveness in a mouse model of asthma. *Respir. Res.* 19.

Cockcroft, D.W., and Davis, B.E. (2006). Mechanisms of airway hyperresponsiveness. *J. Allergy Clin. Immunol.* 118, 551–559; quiz 560–561.

## D

Danvers, L., Lo, D.K.H., and Gaillard, E.A. (2019). The role of objective tests to support a diagnosis of asthma in children. *Paediatr. Respir. Rev.*

Du, W., Zhou, L., Ni, Y., Yu, Y., Wu, F., and Shi, G. (2017). Inhaled corticosteroids improve lung function, airway hyper-responsiveness and airway inflammation but not symptom control in patients with mild intermittent asthma: A meta-analysis. *Exp. Ther. Med.* 14, 1594–1608.

Dweik, R.A., Boggs, P.B., Erzurum, S.C., Irvin, C.G., Leigh, M.W., Lundberg, J.O., Olin, A.-C., Plummer, A.L., Taylor, D.R., and American Thoracic Society Committee on Interpretation of Exhaled Nitric Oxide Levels (FENO) for Clinical Applications (2011). An official ATS clinical practice guideline: interpretation of exhaled nitric oxide levels (FENO) for clinical applications. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 184, 602–615.

## F

Fahy, J.V. (2015). Type 2 inflammation in asthma — present in most, absent in many. *Nat. Rev. Immunol.* 15, 57–65.

Ferguson, J.E., Patel, S.S., and Lockey, R.F. (2017). Acute asthma, prognosis, and treatment. *J. Allergy Clin. Immunol.* 139, 438–447.

Fрати, F., Salvatori, C., Incorvaia, C., Bellucci, A., Di Cara, G., Marcucci, F., and Esposito, S. (2018). The Role of the Microbiome in Asthma: The Gut–Lung Axis. *Int. J. Mol. Sci.* 20.

Fujimura, K.E., and Lynch, S.V. (2015). Microbiota in Allergy and Asthma and the Emerging Relationship with the Gut Microbiome. *Cell Host Microbe* 17, 592–602.

**G**

Galli, S.J., Tsai, M., and Piliponsky, A.M. (2008). The development of allergic inflammation. *Nature* 454, 445–454.

Gotoh, T., Araki, M., and Mori, M. (1997). Chromosomal localization of the human arginase II gene and tissue distribution of its mRNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 233, 487–491.

Gould, H.J., and Sutton, B.J. (2008). IgE in allergy and asthma today. *Nat. Rev. Immunol.* 8, 205–217.

Gregory, L.G., and Lloyd, C.M. (2011). Orchestrating house dust mite-associated allergy in the lung. *Trends Immunol.* 32, 402–411.

Guillot, X., Semerano, L., Saidenberg-Kermanac'h, N., Falgarone, G., and Boissier, M.-C. (2010). Vitamin D and inflammation. *Jt. Bone Spine Rev. Rhum.* 77, 552–557.

**H**

Haldar, P., and Pavord, I.D. (2007). Noneosinophilic asthma: a distinct clinical and pathologic phenotype. *J. Allergy Clin. Immunol.* 119, 1043–1052; quiz 1053–1054.

Halken, S., Larenas-Linnemann, D., Roberts, G., Calderón, M.A., Angier, E., Pfaar, O., Ryan, D., Agache, I., Ansotegui, I.J., Arasi, S., et al. (2017). EAACI guidelines on allergen immunotherapy: Prevention of allergy. *Pediatr. Allergy Immunol. Off. Publ. Eur. Soc. Pediatr. Allergy Immunol.* 28, 728–745.

Hall, S.C., and Agrawal, D.K. (2017). Vitamin D and Bronchial Asthma: An Overview of Data From the Past 5 Years. *Clin. Ther.* 39, 917–929.

Halnes, I., Baines, K.J., Berthon, B.S., MacDonald-Wicks, L.K., Gibson, P.G., and Wood, L.G. (2017). Soluble Fibre Meal Challenge Reduces Airway Inflammation and Expression of GPR43 and GPR41 in Asthma. *Nutrients* 9.

Herbst, T., Sichelstiel, A., Schär, C., Yadava, K., Bürki, K., Cahenzli, J., McCoy, K., Marsland, B.J., and Harris, N.L. (2011). Dysregulation of allergic airway inflammation in the absence of microbial colonization. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 184, 198–205.

Hewison, M. (2010). Vitamin D and the intracrinology of innate immunity. *Mol. Cell. Endocrinol.* 321, 103–111.

Hijazi, N., Abalkhail, B., and Seaton, A. (2000). Diet and childhood asthma in a society in transition: a study in urban and rural Saudi Arabia. *Thorax* 55, 775–779.

Holgate, S.T., and Polosa, R. (2006). The mechanisms, diagnosis, and management of severe asthma in adults. *Lancet Lond. Engl.* 368, 780–793.

Hooper, L.V., Littman, D.R., and Macpherson, A.J. (2012). Interactions Between the Microbiota and the Immune System. *Science* 336, 1268–1273.

Huang, S.L., and Pan, W.H. (2001). Dietary fats and asthma in teenagers: analyses of the first Nutrition and Health Survey in Taiwan (NAHSIT). *Clin. Exp. Allergy J. Br. Soc. Allergy Clin. Immunol.* 31, 1875–1880.

## J

Jain, V. (2018). Role of Polyamines in Asthma Pathophysiology. *Med. Sci. Basel Switz.* 6.

## K

Kang, Y.B., Cai, Y., and Zhang, H. (2017). Gut microbiota and allergy/asthma: From pathogenesis to new therapeutic strategies. *Allergol. Immunopathol. (Madr.)* 45, 305–309.

Kim, H.Y., DeKruyff, R.H., and Umetsu, D.T. (2010). The many paths to asthma: phenotype shaped by innate and adaptive immunity. *Nat. Immunol.* 11, 577–584.

Kubo, M. (2017). Innate and adaptive type 2 immunity in lung allergic inflammation. *Immunol. Rev.* 278, 162–172.

## L

Lambrecht, B.N., and Hammad, H. (2015). The immunology of asthma. *Nat. Immunol.* 16, 45–56.

Lara, M., Sherbourne, C., Duan, N., Morales, L., Gergen, P., and Brook, R.H. (2000). An English and Spanish Pediatric Asthma Symptom Scale. *Med. Care* 38, 342–350.

Larché, M., Akdis, C.A., and Valenta, R. (2006). Immunological mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *Nat. Rev. Immunol.* 6, 761–771.

Ley, R.E., Peterson, D.A., and Gordon, J.I. (2006). Ecological and Evolutionary Forces Shaping Microbial Diversity in the Human Intestine. *Cell* 124, 837–848.

Li, B.W.S., de Bruijn, M.J.W., Lukkes, M., van Nimwegen, M., Bergen, I.M., KleinJan, A., GeurtsvanKessel, C.H., Andeweg, A., Rimmelzwaan, G.F., and Hendriks, R.W. (2019). T

cells and ILC2s are major effector cells in influenza-induced exacerbation of allergic airway inflammation in mice. *Eur. J. Immunol.* **49**, 144–156.

Liu, A.H., Zeiger, R., Sorkness, C., Mahr, T., Ostrom, N., Burgess, S., Rosenzweig, J.C., and Manjunath, R. (2007). Development and cross-sectional validation of the Childhood Asthma Control Test. *J. Allergy Clin. Immunol.* **119**, 817–825.

Lougheed, M.D., Lemiere, C., Ducharme, F.M., Licskai, C., Dell, S.D., Rowe, B.H., FitzGerald, M., Leigh, R., Watson, W., and Boulet, L.-P. (2012). Canadian Thoracic Society 2012 guideline update: Diagnosis and management of asthma in preschoolers, children and adults: Executive summary. *Can. Respir. J. J. Can. Thorac. Soc.* **19**, e81–e88.

## **M**

Maarsingh, H., Zaagsma, J., and Meurs, H. (2008). Arginine homeostasis in allergic asthma. *Eur. J. Pharmacol.* **585**, 375–384.

Maarsingh, H., Zaagsma, J., and Meurs, H. (2009). Arginase: a key enzyme in the pathophysiology of allergic asthma opening novel therapeutic perspectives. *Br. J. Pharmacol.* **158**, 652–664.

Maarsingh, H., Dekkers, B.G.J., Zuidhof, A.B., Bos, I.S.T., Menzen, M.H., Klein, T., Flik, G., Zaagsma, J., and Meurs, H. (2011). Increased arginase activity contributes to airway remodelling in chronic allergic asthma. *Eur. Respir. J.* **38**, 318–328.

Maslowski, K.M., and Mackay, C.R. (2011). Diet, gut microbiota and immune responses. *Nat. Immunol.* **12**, 5–9.

Maslowski, K.M., Vieira, A.T., Ng, A., Kranich, J., Sierro, F., Yu, D., Schilter, H.C., Rolph, M.S., Mackay, F., Artis, D., et al. (2009). Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. *Nature* **461**, 1282–1286.

Mora, J.R., Iwata, M., and von Andrian, U.H. (2008). Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. *Nat. Rev. Immunol.* **8**, 685–698.

## **N**

Norimoto, A., Hirose, K., Iwata, A., Tamachi, T., Yokota, M., Takahashi, K., Saijo, S., Iwakura, Y., and Nakajima, H. (2014). Dectin-2 promotes house dust mite-induced T helper type 2 and type 17 cell differentiation and allergic airway inflammation in mice. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* **51**, 201–209.

North, M.L., Khanna, N., Marsden, P.A., Grasemann, H., and Scott, J.A. (2009). Functionally important role for arginase 1 in the airway hyperresponsiveness of asthma. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 296, L911-920.

**P**

Papi, A., Brightling, C., Pedersen, S.E., and Reddel, H.K. (2018). Asthma. *Lancet Lond. Engl.* 391, 783–800.

Pembrey, L., Barreto, M.L., Douwes, J., Cooper, P., Henderson, J., Mpairwe, H., Ardura-Garcia, C., Chico, M., Brooks, C., Cruz, A.A., et al. (2018). Understanding asthma phenotypes: the World Asthma Phenotypes (WASP) international collaboration. *ERJ Open Res.* 4.

Phipps, S., Benyahia, F., Ou, T.-T., Barkans, J., Robinson, D.S., and Kay, A.B. (2004). Acute allergen-induced airway remodeling in atopic asthma. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 31, 626–632.

Piacentini, G.L., Peroni, D.G., Bodini, A., Bonafiglia, E., Rigotti, E., Baraldi, E., Liu, A.H., and Boner, A.L. (2009). Childhood Asthma Control Test and airway inflammation evaluation in asthmatic children. *Allergy* 64, 1753–1757.

Plunkett, C.H., and Nagler, C.R. (2017). The Influence of the Microbiome on Allergic Sensitization to Food. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 198, 581–589.

Program, N.A.E. and P., and Asthma, T.E.P. on the D. and M. of (2007). Section 2, Definition, Pathophysiology and Pathogenesis of Asthma, and Natural History of Asthma (National Heart, Lung, and Blood Institute (US)).

Puxeddu, I., and Levi-Schaffer, F. (2004). Mast cells and eosinophils: the hallmark of asthma. *Paediatr. Respir. Rev.* 5 *Suppl A*, S31-34.

Ramadan, A.A., Gaffin, J.M., Israel, E., and Phipatanakul, W. (2019). Asthma and Corticosteroid Responses in Childhood and Adult Asthma. *Clin. Chest Med.* 40, 163–177.

Roediger, W.E. (1980). Role of anaerobic bacteria in the metabolic welfare of the colonic mucosa in man. *Gut* 21, 793–798.

**S**

Saglani, S., and Menzie-Gow, A.N. (2019). Approaches to Asthma Diagnosis in Children and Adults. *Front. Pediatr.* 7.

Savage, D.C. (1977). Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annu. Rev. Microbiol.* *31*, 107–133.

Simpson, J.L., Scott, R., Boyle, M.J., and Gibson, P.G. (2006). Inflammatory subtypes in asthma: assessment and identification using induced sputum. *Respirol. Carlton Vic* *11*, 54–61.

Sparkes, R.S., Dizikes, G.J., Klisak, I., Grody, W.W., Mohandas, T., Heinzmann, C., Zollman, S., Lusic, A.J., and Cederbaum, S.D. (1986). The gene for human liver arginase (ARG1) is assigned to chromosome band 6q23. *Am. J. Hum. Genet.* *39*, 186–193.

Stefka, A.T., Feehley, T., Tripathi, P., Qiu, J., McCoy, K., Mazmanian, S.K., Tjota, M.Y., Seo, G.-Y., Cao, S., Theriault, B.R., et al. (2014). Commensal bacteria protect against food allergen sensitization. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *111*, 13145–13150.

Sverrild, A., Kiillerich, P., Brejnrod, A., Pedersen, R., Porsbjerg, C., Bergqvist, A., Erjefält, J.S., Kristiansen, K., and Backer, V. (2017). Eosinophilic airway inflammation in asthmatic patients is associated with an altered airway microbiome. *J. Allergy Clin. Immunol.* *140*, 407-417.e11.

## **T**

Tan, J., McKenzie, C., Vuillermin, P.J., Goverse, G., Vinuesa, C.G., Mebius, R.E., Macia, L., and Mackay, C.R. (2016). Dietary Fiber and Bacterial SCFA Enhance Oral Tolerance and Protect against Food Allergy through Diverse Cellular Pathways. *Cell Rep.* *15*, 2809–2824.

Trompette, A., Gollwitzer, E.S., Yadava, K., Sichelstiel, A.K., Sprenger, N., Ngom-Bru, C., Blanchard, C., Junt, T., Nicod, L.P., Harris, N.L., et al. (2014). Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis. *Nat. Med.* *20*, 159–166.

## **W**

Wickens, K., Barry, D., Friezema, A., Rhodius, R., Bone, N., Purdie, G., and Crane, J. (2005). Fast foods - are they a risk factor for asthma? *Allergy* *60*, 1537–1541.

## **Y**

Yatsunencko, T., Rey, F.E., Manary, M.J., Trehan, I., Dominguez-Bello, M.G., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Baldassano, R.N., Anokhin, A.P., et al. (2012). Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature* *486*, 222–227.

## **Z**

Zhang, R., Kubo, M., Murakami, I., Setiawan, H., Takemoto, K., Inoue, K., Fujikura, Y., and Ogino, K. (2015). L-Arginine administration attenuates airway inflammation by altering L-arginine metabolism in an NC/Nga mouse model of asthma. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 56, 201–207.

Zimmermann, N., and Rothenberg, M.E. (2006). The arginine-arginase balance in asthma and lung inflammation. *Eur. J. Pharmacol.* 533, 253–262.



## تأثير فيتامين (د) والألياف الغذائية على نشاط المصل والرجيناز اللعابي في الربو التحسسي غير المنضبط عند الأطفال

### الملخص

**مقدمة:** يعتبر الربو التحسسي أحد أكثر الأمراض الالتهابية المزمنة شيوعًا في الجهاز التنفسي عند الأطفال. يتميز بتفاعلات بواسطة الجلوبولين المناعي IgE استجابة لمسببات الحساسية تحت تأثير وسطاء مضادين للالتهابات يفرزهم Th2 ، هؤلاء الوسطاء يؤمنون بتضخيم المسار المعتمد على أرجيناز.

**الهدف:** تقييم نشاط أرجيناز في الأطفال الذين يعانون من الربو قبل وبعد مكملات فيتامين (د) و / أو الألياف الغذائية.

**المواد والطرق:** أجرينا دراسة مقارنة لـ 82 طفلاً مصاباً بالربو تتراوح أعمارهم بين 4 سنوات و 17 سنة مقسمة إلى أربع مجموعات بما في ذلك مجموعة مراقبة و 3 مجموعات تستكمل بفيتامين د والألياف الغذائية وفيتامين د والألياف الغذائية. تم تقييم نشاط أرجيناز في الأمصال واللعاب من المرضى قبل وبعد المكملات.

**النتائج:** زاد نشاط أرجيناز المصل بشكل كبير بعد إضافة الألياف الغذائية ؛ في حين انخفض ذلك من أرجيناز اللعاب بعد إضافة مكملات فيتامين د

**الخلاصة:** في الختام ، أظهرت نتائجنا تأثير الألياف الغذائية على زيادة أرجيناز المصل وتأثير فيتامين (د) على انخفاض أرجيناز اللعاب عند الأطفال المصابين بالربو.

**الكلمات المفتاحية:** الربو التحسسي ، أرجيناز ، الألياف الغذائية ، فيتامين د.

## Effet de la vitamine D et des fibres alimentaires sur l'activité de l'arginase sérique et salivaire au cours de l'asthme allergique non contrôlé chez l'enfant

### Résumé

**Introduction :** L'asthme allergique est l'une des maladies inflammatoires chroniques des voies respiratoires les plus courantes chez les enfants. Elle se caractérise par des réactions à médiation par les immunoglobulines IgE en réponse aux allergènes sous l'action des médiateurs anti-inflammatoires sécrétés par les Th2. ces médiateurs amènent à l'amplification de la voie dépendante de l'arginase.

**Objectif :** Evaluer l'activité de l'arginase chez les enfants asthmatiques avant et après supplémentation par la vitamine D et / ou les fibres alimentaires.

**Matériels et méthode :** Nous avons mené une étude comparative sur 82 enfants asthmatiques âgés de 4 à 17ans divisés en quatre groupes dont un groupe témoin et 3 groupes supplémentés en vitamine D, fibres alimentaires, vitamine D et fibres alimentaires. L'activité de l'arginase a été évaluée dans les sérums et la salive des patients avant et après la supplémentation.

**Résultats :** l'activité de l'arginase sérique a hautement augmentées après la supplémentation en fibres alimentaires ; alors que celle de l'arginase salivaire a diminué après la supplémentation en vitamine D.

**Conclusion :** En conclusion, nos résultats ont montré l'effet des fibres alimentaires sur l'augmentation de l'arginase sérique et celui de la vitamine D sur la diminution de l'arginase salivaire chez les enfants asthmatiques.

## Effect of Vitamin D and Dietary Fiber on Serum and Salivary Arginase Activity in Uncontrolled Allergic Asthma in Children

### Abstract

**Introduction:** Allergic asthma is one of the most common chronic inflammatory diseases of the respiratory tract in children. It is characterized by reactions mediated by IgE immunoglobulins in response to allergens under the action of anti-inflammatory mediators secreted by Th2. These mediators ammen to the amplification of the arginase-dependent pathway.

**Objective:** To evaluate the activity of arginase in children with asthma before and after supplementation with vitamin D and / or dietary fiber.

**Materials and methods:** We conducted a comparative study of 82 asthmatic children aged 4 to 17 years divided into four groups including a control group and 3 groups supplemented with vitamin D, dietary fiber, vitamin D and dietary fiber. The activity of arginase was evaluated in the sera and saliva of patients before and after supplementation.

**Results:** The activity of serum arginase has greatly increased after dietary fiber supplementation; while that of salivary arginase decreased after vitamin D supplementation.

**Conclusion:** In conclusion, our results showed the effect of dietary fiber on the increase of serum arginase and that of vitamin D on the decrease of salivary arginase in children with asthma.

**Key words:** allergic asthma, arginase, dietary fiber, vitamin D.

