



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et  
Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la  
Recherche Scientifique  
جامعة البليدة 1  
Université Blida 1



كلية علوم الطبيعة والحياة  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire

### *Mémoire de fin d'étude*

*En vue de l'obtention du Diplôme De Master en Biologie*

*Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire*

*Thème*

*Les Caractéristiques génétiques et cliniques de la mucoviscidose*

*Présenté par :*

*Melle. Boukrid Hanane*

*&*

*Melle. Fettel Rania*

*Soutenu le : 19 /09/2021*

*Devant le Jury :*

**Mme Keskas . S**

**M.A.A**

**Présidente**

**Mme Benchabane .S**

**M.C.A**

**Examinatrice**

**Mr Bouaamra .A**

**Professeur**

**Promoteur**

**Mr Guetarni .D**

**Professeur**

**Co-promoteur**

**2020 / 2021**

## **Remerciements**

*On tient tout d'abord à remercier **ALLAH** le tout puissant de nous donner le courage pour réaliser ce travail.*

*Nous adressons nos remerciements à notre promoteur Mr. Le **Professeur Bouamra abderrezak** ; pour la confiance qu'il nous a accordée en acceptant d'encadrer ce mémoire de fin d'étude.*

*Un immense merci à notre co-promoteur Mr. le **professeur Guetarni Djamel** pour nous avoir dirigé dans ce travail, et pour la pertinence de ses remarques.*

*Nous remercions également les membres du jury Mme **Keskas.S** et Mme **Benchabane.S** pour l'honneur qu'elles nous accordent en acceptant de juger notre travail.*

*Nos remerciements s'adressent également à tous les enseignants et les professeurs du département de biologie de l'université de Blida 1 pour leurs efforts fournis pendant toute la période d'étude, on cite principalement Mme **Saadi Leila** pour sa gentillesse, son aide et sa disponibilité.*

## ***Dédicace***

*À toute la famille **Boukrid & Terfai***

*A ma Chère Mère, A mon cher Père Dont le mérite, les sacrifices et les qualités humaines m'ont permis de vivre ce jour.*

*A mon cher grand-père et ma chère grand-mère Pour tout l'exemple et l'amour exceptionnel que vous me portez depuis mon enfance.*

*A mes Frères et mes sœurs **wiam, Soulef, Adem , Abd illah***

*Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès que dieu vous protège et vous garde.*

*A mon binôme **Rania** qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail.*

*À mes chers collègues : **chahinez, Radhia, marwa et brahim***

***Hanane.***

## ***Dédicace***

*Je dédie ce modeste travail*

*À mes chers parents pour leurs soutiens, leurs patiences, leurs encouragements durant mon parcours scolaire.*

*À ma chère sœur **Assia**, et mon cher frère **Sidali**, source de joie et de bonheur.*

*À toute ma famille **Fettel & Rais** ainsi mon fiancé et sa famille, source d'espoir et de motivation.*

*À tous mes amis qui m'ont encouragé dans les moments difficiles, tout particulièrement : **Chahinez, khaoula et brahim**.*

*A **Hanane**, chère amie avant d'être binôme.*

***Rania.***

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Les organes atteints de la mucoviscidose.....	2
<b>Figure 2</b> : Pays disposant d'un registre de la fibrose kystique, reproduit avec l'autorisation de la US Cystic Fibrosis Foundation.....	5
<b>Figure 3</b> : Répartition des patients par tranche d'âge .....	6
<b>Figure 4</b> : la transmission de la mucoviscidose aux enfants.....	7
<b>Figure 5</b> : Représentation schématique de la localisation et de la structure du gène CFTR .....	9
<b>Figure 6</b> : répartition des anomalies moléculaires dans le gène .....	10
<b>Figure 7</b> : Les différentes classes de mutations de la protéine CFTR.....	11
<b>Figure 8</b> : La mutation d508 .....	13
<b>Figure 9</b> : Biogenèse de la protéine CFTR .....	14
<b>Figure 10</b> : du gène CFTR a la structure protéine CFTR.....	16
<b>Figure 11</b> : Représentation schématique du transport des ions Cl <sup>-</sup> dans une cellule épithéliale .....	17
<b>Figure 12</b> : Régulation du canal CFTR.....	18
<b>Figure 13</b> : Schéma des possibles fonctions régulatrices du canal CFTR .....	19
<b>Figure 14</b> : Conséquence du dysfonctionnement de transport ionique sur la clairance mucociliaire dans la mucoviscidose .....	21
<b>Figure 15</b> : amplification multiplexe par ARMS .....	29
<b>Figure 16</b> : Organigramme du dépistage de la mucoviscidose.....	31
<b>Figure 17</b> : Analyse électrophorétique des contrôles, des échantillons de patients normaux et inconnus pour la détection de la mutation $\Delta F508$ .....	32
<b>Figure 18</b> : exemple des résultats obtenus avec la technique du dot blot inversé.....	34
<b>Figure 19</b> : détection de la mutation G551D par la digestion enzymatique.....	35
<b>Figure 20</b> : Mécanismes d'action et exemple de molécules correctrices et potentiatrices ....	38

## Liste des tableaux

**Tableau 1** : les étapes de la PCR .....26

**Tableau 2** : Avantages et limites des méthodes de détection des mutations du gène CFTR 36

## Tableaux des annexes

**Annexe I** : Principaux traitements symptomatiques actuels de la mucoviscidose ..... i

**Annexe II** : Matériel non biologique utilisé ..... i

**Annexe IV** : Les modulateurs de CFTR selon la classe de mutation..... iii

## Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ADP: Adenosine Diphosphate

ARN : Acide Ribonucléique

ASL : Airway surface Liquid ou Liquid de Surface des voies aérienne

ARMS: L'amplification refractory mutation system

ASO: Allele Specific Oligonucleotide

ATP: Adénosine Triphosphate

CF: fibrose cystic

CFTR: Cystic fibrosis Transmembrane conductance

CRISPR/Cas9: Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/Cas9 nucleases

COP II : Coat complexe II

CRCM : Centre de ressources et de compétences sur la mucoviscidose

Domaine R : Domaine Régulateur

DTM : Domaine transmembranaire

DPN : Potentiel de la différence Transépithéliale Nasale

DNTP: Désoxyribonucleotide Triphosphate

Enac : Epithelial NA<sup>+</sup> channel

ERQC : Endoplasmique Réticulum Quality Contrôle

ECFS : European CF society

F508 Del : Délétion d'une phénylalanine en position 508

HSP: Heat Shock Protein

ICL: Intracellular Loop

iPSCs : cells induced pluripotent stem cells

LPC : liquid périciliaire

MSD : membrane spanning domain

MDR : drogue Multi-Resistante

MV : Mucoviscidose

NBD: Nucleotid Biding Domain (domain de liaison aux nucleotide)

NPV: Major Vault Protein

ORCC: Outwardly Rectefing Chloride Channel

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PAGE : Polyacrylamide gel electrophoresis

PCR : Polymerase Chain Reaction

Pi : Phosphate inorganique

PKA : Protéine Kinase A

PKC : Protéine Kinase C

PM : Poids Moléculaire

RE : Réticulum Endoplasmique

PI : pancréas insuffisant

PS : pancréas suffisant

Pb : paire de base

RCPG : Récepteur Couplé a la protéine G

TMD : Domaine Transmembranaire

TIR : Trypsine immunoréactive

VEMS : Volume expiratoire maximale par seconde

IPSCs : cellules souches pluripotentes induites

## Table des matières

<b>Introduction générale.....</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre I : Généralités .....</b>	<b>2</b>
<b>I.1. Définition.....</b>	<b>2</b>
<b>I.2. Les principaux symptômes de la mucoviscidose.....</b>	<b>2</b>
<b>I.3. Historique .....</b>	<b>3</b>
<b>I.4. Épidémiologie.....</b>	<b>4</b>
<b>Chapitre II : Les caractéristiques Génétiques .....</b>	<b>7</b>
<b>II.1. La transmission de la mucoviscidose.....</b>	<b>7</b>
<b>II.2. Le gène CFTR.....</b>	<b>8</b>
<b>II.3. Répartition des anomalies moléculaires dans le gène CFTR.....</b>	<b>9</b>
<b>II.4. Les classes de mutations .....</b>	<b>10</b>
<b>II.5. La mutation delta f 508... ..</b>	<b>12</b>
<b>II.6. La protéine CFTR .....</b>	<b>13</b>
<b>II.6.1. La biogenèse.....</b>	<b>13</b>
<b>II.6.2. La structure.....</b>	<b>15</b>
<b>II.6.3. Le Rôle .....</b>	<b>16</b>
<b>II.6.3.1. Canal CL .....</b>	<b>16</b>
<b>II. 6.3.2. Régulation d'autre canaux ioniques .....</b>	<b>18</b>
<b>II. 6.3.3. Régulation du PH intracellulaire .....</b>	<b>20</b>
<b>II.6.3.3. Rôle dans l'inflammation .....</b>	<b>20</b>
<b>II.7. La physiopathologie .....</b>	<b>20</b>
<b>II.8. Le diagnostic et le dépistage de la mucoviscidose.....</b>	<b>22</b>

<b>III. Le diagnostic de la mucoviscidose .....</b>	<b>23</b>
<b>III.1. Le diagnostic biologique.....</b>	<b>23</b>
<b>III.1.1. Le test de la sueur .....</b>	<b>23</b>
<b>III.1.2. Dosage de la trypsine immuno réactive .....</b>	<b>24</b>
<b>III.1.3. La mesure de la différence du potentiel nasale .....</b>	<b>25</b>
<b>III.2. Le diagnostic moléculaire.....</b>	<b>25</b>
<b>III. 2.1. La PCR.....</b>	<b>25</b>
<b>III.2.2. L'analyse des produits PCR de l'exon 10 par électrophorèse en gel de Polyacrylamide.....</b>	<b>27</b>
<b>III.2.3. L'analyse de produits PCR par hybridation avec sondes oligonucléotidiques spécifiques (ASO) .....</b>	<b>27</b>
<b>III.2.4. La séparation électrophorétique de produits de PCR après digestion enzymatique.</b>	<b>27</b>
<b>III.2.5. Détection des mutations CFTR par PCR/ARMS dans un échantillon de la population algérienne .....</b>	<b>28</b>
<b>IV. Interprétations des Résultats .....</b>	<b>30</b>
<b>Perspectives thérapeutiques de la mucoviscidose .....</b>	<b>37</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>40</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>41</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>i</b>

## Résumé

La mucoviscidose, ou cystic fibrosis, est la plus fréquente des maladies de transmission autosomique récessive chez la population caucasienne, et la principale cause d'insuffisance respiratoire sévère chez l'enfant caucasien.

La maladie est provoquée par une anomalie de la protéine CFTR (*Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator*), polypeptide de 1 480 acides aminés produit d'un gène situé sur le bras long du chromosome 7. La protéine CFTR est un canal ionique de faible conductance pour le passage des ions chlorure, dont l'anomalie au cours de la mucoviscidose est responsable d'un défaut de sécrétion extracellulaire des ions chlorure et d'une réabsorption excessive de sodium à travers les membranes apicales. Il en résulte un défaut d'hydratation et une augmentation de la viscosité du mucus bronchique qui favorisent l'obstruction, la dilatation puis l'infection et l'inflammation bronchique.

Plus de 2000 mutations du gène CFTR ont été identifiées, dont la plus fréquente est la mutation Delta F508. La gravité de la maladie dépend de la ou des mutations du gène *CFTR*, une présentation clinique est nécessaire pour le diagnostic de la mucoviscidose. Deux principaux examens permettent de poser le diagnostic : le test à la sueur et l'analyse génétique. Une fois le diagnostic confirmé, un bilan fait le point sur les divers organes atteints par la maladie.

Les traitements mis au point ont permis un gain important dans la qualité et l'espérance de vie. Aux seuls traitements symptomatiques actuellement utilisés devrait s'ajouter dans un futur relativement proche de nouvelles thérapies agissant sur la protéine ou le gène CFTR.

L'objectif de cette revue bibliographique est de décrire l'aspect génétique et clinique de la fibrose kystique.

**Mots clés :** Mucoviscidose, CFTR, ions chlorure, Delta F508 , test de la sueur ,PCR ,PAGE .

## **Abstract**

Cystic fibrosis is the most common autosomal recessive disease in Caucasian population and the leading cause of severe respiratory failure in Caucasian children.

The disease is caused by a defect in the CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator) protein, a polypeptide of 1,480 amino acids produced by a gene located on the long arm of chromosome 7. The CFTR protein is a low conductance ion channel for the passage of chloride ions, whose abnormality in cystic fibrosis is responsible for a defect in extracellular secretion of chloride ions and an excessive reabsorption of sodium through the apical membranes, resulting in a lack of hydration and an increase in the viscosity of bronchial mucus that promotes obstruction, dilation and then infection and inflammation of the bronchi.

More than 2000 mutations in the CFTR gene have been identified, the most common being the Delta F508 mutation. The severity of the disease depends on the mutation(s) in the CFTR gene, a clinical presentation is necessary for the diagnosis of cystic fibrosis. Two main examinations allow the diagnosis: the sweat test and the genetic analysis. The objective of this bibliographic review is to present the clinical and diagnostic genetic characteristics of the disease.

Current treatments have led to an important gain in quality of life and life expectancy. This is associated with advances in scientific research, particularly in the field of gene therapy and protein therapy.

The objective of this literature review is to describe the genetic and clinical aspect of cystic fibrosis.

**Key words:** Cystic fibrosis, CFTR, chloride ions, Delta F508, sweat test, PCR, PAGE.

## ملخص

التليف الكيسي هو أكثر الأمراض الصبغية المتنحية شيوعا في أوروبا وأمريكا الشمالية والسبب الرئيسي لفشل الجهاز التنفسي الحاد لدى الأطفال القوقازيين .

سبب المرض هو عيب في بروتين CFTR: عديد ببتيدي من 1480 حمض أميني ينتج بواسطة جين يقع على الذراع الطويلة للكروموسوم 7 وهو قناة أيونية منخفضة التوصيل لمرور أيونات الكلور،

خلل هذا البروتين في التليف الكيسي مسؤول عن خلل في إفراز أيونات الكلور خارج الخلية وإعادة امتصاص مفرط للصوديوم من خلال الأغشية الفمية، مما يؤدي إلى نقص الترطيب وزيادة لزوجة مخاط الشعب الهوائية وانسدادها وتوسعها ثم التهابها.

تم تحديد أكثر من 2000 طفرة في جين CFTR، وأكثرها شيوعا هي طفرة Delta F508. تعتمد شدة المرض على نوع

الطفرة في جين CFTR لتشخيص التليف الكيسي فحصان رئيسيان يسمحان بذلك: اختبار العرق والتحليل الجيني. أدت العلاجات الحالية إلى مكاسب مهمة في نوعية الحياة ومتوسط العمر المتوقع. بالإضافة للتقدم في البحث العلمي، لا سيما في مجال العلاج الجيني والعلاج البروتيني.

الهدف من هذه المراجعة البليوغرافية هو تقديم الخصائص الجينية السريرية والتشخيصية لمرض التليف الكيسي.

**الكلمات المفتاحية:** التليف الكيسي، CFTR، أيونات الكلور، Delta F508، اختبار العرق، PCR

# **Introduction**

La Mucoviscidose ou fibrose kystique du pancréas c'est une maladie génétique rare de transmission autosomique récessive, touche principalement le système respiratoire et le système digestif et ses annexes, provoquant une insuffisance respiratoires et pancréatique irréversibles.

Le terme de Mucoviscidose est dérivé du latin. "**Mucus**" désigne le "mucus" et "**viscidus**" Signifie "dur".

Dans le monde, La population caucasienne étant fortement présente en Europe et en Amérique du Nord elle est la plus touchée (**Mirtajani et al,2017**), en France le nombre de naissances concernés de cette maladie est estimé à 1 sur 3500 .et ce n'est pas le cas pour les populations asiatiques, africaines ou afro -américaines qui sont moins touchées selon l'organisation de santé mondiale. Par ailleurs, l'amélioration de la qualité de vie chez les personnes malades permet d'augmenter leurs l'espérance de vie (environs plus 30 ans), bien que des progrès très importantes ont été réalisés depuis quelques années en recherche fondamentale, en génétique et en biologie moléculaire.

En Algérie, la Mucoviscidose reste une maladie mal connue, seuls les cas plus sévères sont diagnostiqués mais ils ne sont pas enregistrés car il n'existe pas de registre pour cette pathologie à cause de l'absence des centres spécialisés et les possibilités thérapeutiques limités (**Boukari, 2015**).

L'objectif du présent travail est une contribution à une meilleure connaissance de l'aspect génétique et clinique de la fibrose kystique et des techniques de biologie moléculaire utilisées pour le diagnostic de la maladie en vue de présenter les traitements actuels et les avancées thérapeutiques en cours de développement dans le monde.

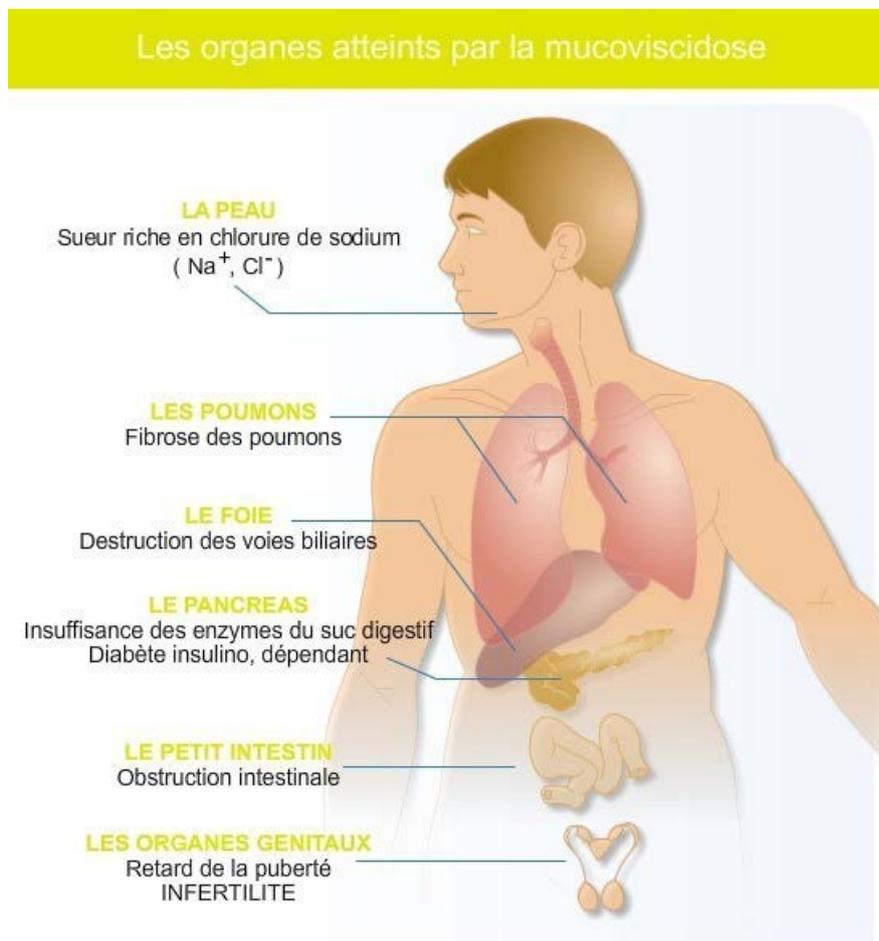
# Partie théorique

## I. Généralités

### I.1. Définition

La mucoviscidose ou la fibrose kystique est une maladie chronique qui touche principalement le système respiratoire, digestive et ses annexes (pancreas, foie...) et reproducteur et les glandes sudoripares, elle n'est pas contagieuse et concerne les garçons bien que les filles. Peut être détectée à la naissance, pendant l'enfance ou à l'âge adulte. Elle est plus fréquente chez la population caucasienne.

### I.2. Les principaux symptômes de la mucoviscidose



**Figure 1** : Les organes atteints de la mucoviscidose

Au niveau respiratoire : des problèmes respiratoires qui se manifestent par une gêne pour respirer (dyspnée) présente au début durant les efforts, puis provoquée même par les activités quotidiennes, l'obstructions des voies aériennes et bronchiolites.

La toux et les crachats (expectorations) épais et opaques sont constants, des infections chronique, polype nasaux...(Masson.,2006)

Au niveau du foie : La bile est sécrétée par le foie, cette substance permet de digérer les lipides. Le mucus d'une personne malade peut obstruer les canaux biliaires, inhibant la circulation de la bile et par conséquent, la digestion des graisses qui ne sont plus absorbées par l'organisme. (Billet Arnaud,2010)

Au niveau de l'intestin : Dès les premiers jours du nouveau-né atteint de mucoviscidose il apparaît un iléus Méconial ce qui ralentit le transit et contribue à la malabsorption des nutriments dans l'intestin. Un syndrome d'obstruction intestinale distale ; C'est l'équivalent d'un iléus méconial tardif. Il touche environ 40 % des patients. (C. Knoop et al ,2010)

Au niveau du pancréas : Les sécrétions visqueuses et semi-solides obstruent les canaux pancréatiques ,et Les enzymes digestives produites par le pancréas ne peuvent plus être libérées dans l'intestin entraînant une malabsorption des nutriments et une insuffisance nutritionnelle (Davis et al, 1996 ;Roulet.M et al,1997) ; Le pancréas se fibrose progressivement aboutissant à sa destruction par une Autodigestion en raison de l'accumulation d'enzymes digestives .La fonction endocrine du pancréas peut être aussi affectée, ce qui entraîne le développement d'un diabète insulino-dépendant au cours de la puberté (une carence en insuline). Les patients présentant une atteinte pancréatique sont dits pancréas insuffisant(PI) et présentent une pathologie plus grave que les patients dits pancréas suffisant (PS) (Billet Arnaud,2010).

Au niveau des glandes sudoripares : Chez les patients mucoviscidosiques, la consistance et la quantité de sueur sécrétée sont normales mais sa teneur en sel est trop élevée.

Au niveau de l'appareil reproducteur : un retard de puberté est observé dans les deux sexes. Des problèmes d'infertilité, azoospermie obstructive chez l'homme et la présence d'un mucus cervicale anormale chez la femme (Sedrati.KH, 2008).

### **I.3. Aperçu historique**

La mucoviscidose était connue depuis longtemps et mentionnée dans la littérature des récits relatant l'histoire d'enfants au "Baiser Salé".

En **1985** : Le locus du gène responsable de la maladie fut localisé sur le bras long du chromosome 7 en 7q31 grâce à un marqueur RLFP par Tsui et al.

En 1991 : Anderson et al. Apportèrent les preuves que le CFTR était bien un canal chlore.

## I.4. Épidémiologie de la mucoviscidose

### Dans le monde

L'incidence de la maladie varie selon l'origine géographique et ethnique (figure 2) et de la fréquence des mutations responsables de la maladie. La migration des populations et le mariage consanguin sont aussi des facteurs qui influent la répartition de cette pathologie, la population caucasienne en Amérique du Nord et en Europe est la plus touchée.

L'Europe est rapportée à ont le plus haut niveau de mucoviscidose (**Mirtajani et al,2017**), Elle touche actuellement 7114 patients en France, parmi lesquels 44,1 % sont des enfants (**Thouvenin et al., 2021**), l'incidence de la maladie est de 1 :4700 (**Castellani Cet al ,2009**).

En Allemagne l'incidence est de 1 :13300. (**Schulz Set al,2006**), En Espagne est de 1 :3570, en Italie est 1 :4238. (**Farrell PM ;2008**).

La forte incidence de la mucoviscidose dans L'Europe a poussé les pays du continent à mener des programmes de dépistage et la création de l'Européen CF Society (ECFS) en 2004, le processus a été accélérer... Par conséquent, la situation est très claire. (**Southern KW et al,2007**).

En Amérique du Nord Aux États-Unis et au Canada, la fréquence de la mucoviscidose est proche de 1/3700.Cette fréquence est expliquée par la migration des populations caucasiennes dans ces pays.

En Amérique du Sud, dans des pays comme l'Uruguay et l'Argentine où la population est dans 90% des cas caucasoïde, sa fréquence est de 1/3900. Alors qu'elle est réduite jusqu'à 1/8500 au Mexique, en Colombie et au Chili où la population est composée de 57% à 85% de métis (caucasoïde et amérindien) (**OUCHTATI. A, Dali. H ;2018**).

Au Moyen-Orient, l'incidence de la mucoviscidose varie en fonction des groupes ethniques et du taux de mariages consanguins. Des études effectuées dans ces pays ont montré que la fréquence maximale a été observée en Jordanie (1/2500) et la minimale aux Émirats-Arabes (1/16000). À noter qu'en Turquie l'incidence est de 1/10000 (**Centres de référence maladies rares et mucoviscidose ; 2010**).

La MV est beaucoup plus rare dans les populations d'Asie et d'Afrique noire, n'est certainement pas uniquement une maladie caucasienne (**Mayer Lacrosniere et al., 2021**)mais la fréquence diminue dans les populations noires (1/7056)en Afrique , et est plus faible chez les populations de la méditerranée selon l'organisation mondiale de la santé (**OMS, 2002**).

En Asie : L'analyse statistique des différents continents concernant la prévalence de la mucoviscidose a montré que l'Asie a le taux le plus bas de patients avec la maladie (**Mirtajani et al., 2017**). Selon les données de l'OMS, il n'y a pas d'informations détaillées sur cette prévalence.



**Figure 2** : Pays disposant d'un registre de la fibrose kystique, reproduit avec l'autorisation de la US Cystic Fibrosis Foundation(**Jackson, A. D., et Goss, C. H, 2017**).

### En Algérie :

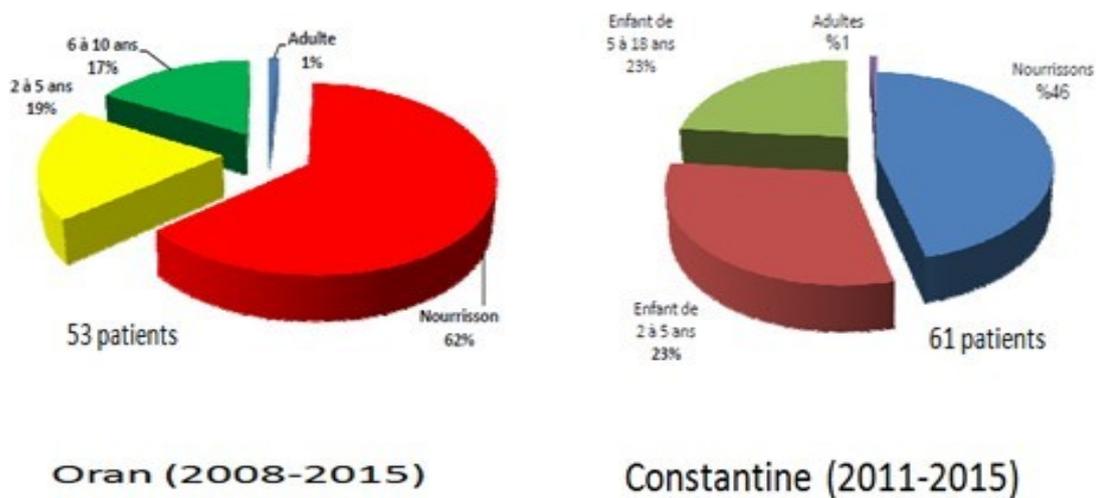
L'incidence de la mucoviscidose n'est pas connue, car les cas diagnostiqués ne sont pas enregistrés et notifiés, Seules les formes les plus sévères de la maladie sont diagnostiquées, c'est à cause de l'absence des centres spécialisées et les possibilités thérapeutique limités (**Radoui et al. ,2015**).

Les données de la littérature sur le profil clinique de la mucoviscidose et sur le spectre des mutations du gène CFTR en Algérie sont pauvres en raison d'un manque d'études.

En 2006 un projet algérien a été réalisé pour l'amélioration du diagnostic, la prise en charge des patients atteints de la MV et le développement d'un réseau nationale de la maladie par des stages de formations dans un centre de référence en France et la mise en place du test de la sueur (**Radoui et al.,2015**); Les résultats du test de la sueur obtenus par l'hôpital pédiatrique à Oran sur une période de 7 ans (2008-2015) étaient 53 patients ,et par l'hôpital CHU Constantine (2011-2015) étaient 61 patients atteints de la MV (**Radoui et al.,2015**) dont la plupart sont des nourrissons et enfants, cependant peu de malades dépassaient l'âge de

l'enfance, ça revient au manque des moyens et de formations (figure 3).

Compte tenu du taux de consanguinité élevé, qui atteint 38.80 % en Algérie (**Bachir et al, 2017**), il fait peu de doute que cette maladie de transmission autosomique récessive est plus fréquente qu'on ne le pense.



**Figure 3** : Répartition des patients par tranche d'âge (**Radoui et al,2015**).

Il y'a aussi le projet de Sediki fatima qui est focalisée sur la recherche des mutations du gène CFTR responsable de la mucoviscidose dans un échantillon de 24 patients appartenant à 24 familles non apparentées à l'aide de différentes technique de biologie moléculaire.

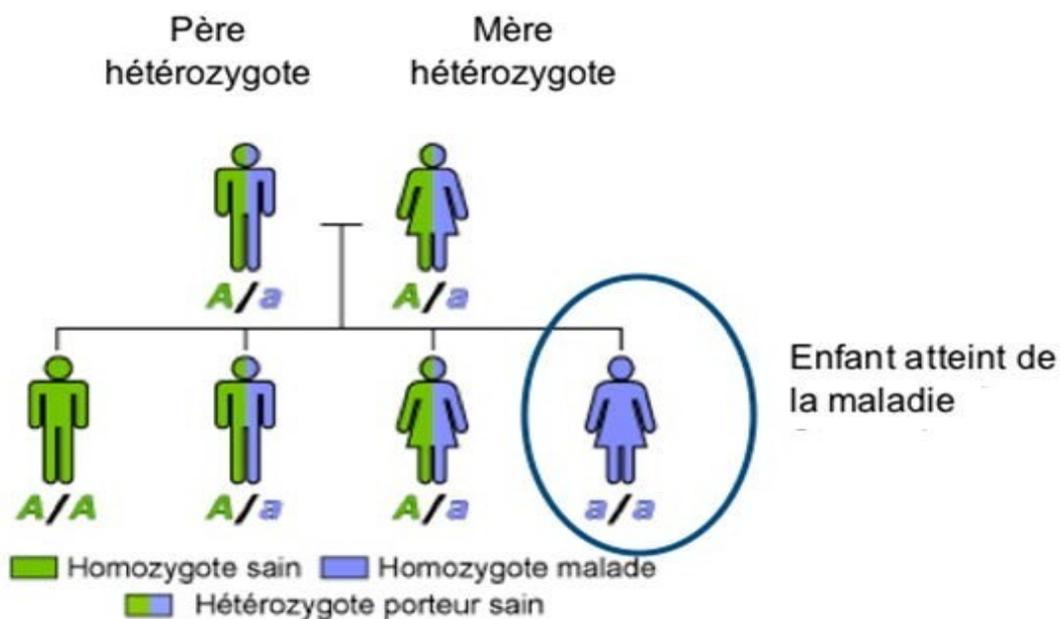
Ils sont intéressés à trois mutations qui de par la littérature semblent spécifiques à la population Algérienne : c.680T>G (L227R), c.3907A>C (N1303H), c.422C>A (A141D). Les effets délétères de ces mutations ont été étudiés par le biais d'une combinaison de logiciels d'étude in silico et de modélisation moléculaire tridimensionnelle (3D).

## II. Les caractéristiques génétiques

La mucoviscidose est la maladie génétique autosomique récessive. Elle est due par une mutation au niveau du gène CFTR (pour Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator)(Thouvenin et al, 2021).

### II.1. La transmission de la maladie

La mucoviscidose est transmise selon un mode autosomique récessif. Cela signifie qu'il est nécessaire que les deux parents possèdent le gène muté pour qu'il y ait un risque de transmission de la maladie. À chaque grossesse, ils ont un risque sur quatre de transmettre la fibrose kystique leur enfant (figure 4).



**Figure 4** : la transmission de la mucoviscidose aux enfants

([www.orpha.net/orphaschool/formations/transmission/Ressources/2-AR/AR0.png](http://www.orpha.net/orphaschool/formations/transmission/Ressources/2-AR/AR0.png))

Les deux parents portent une copie du gène muté (**a**), et une copie du gène normal (**A**) : ils ne sont pas malades (hétérozygotes).

L'enfant **a/a** a récupéré les deux gènes mutés de son père et de sa mère : il est atteint de la mucoviscidose (homozygote).

Les enfants **A/a** portent le gène, ils sont hétérozygotes : ils ne développeront pas la maladie, mais risquent de transmettre le gène comme leurs parents. On les appelle porteurs sains.

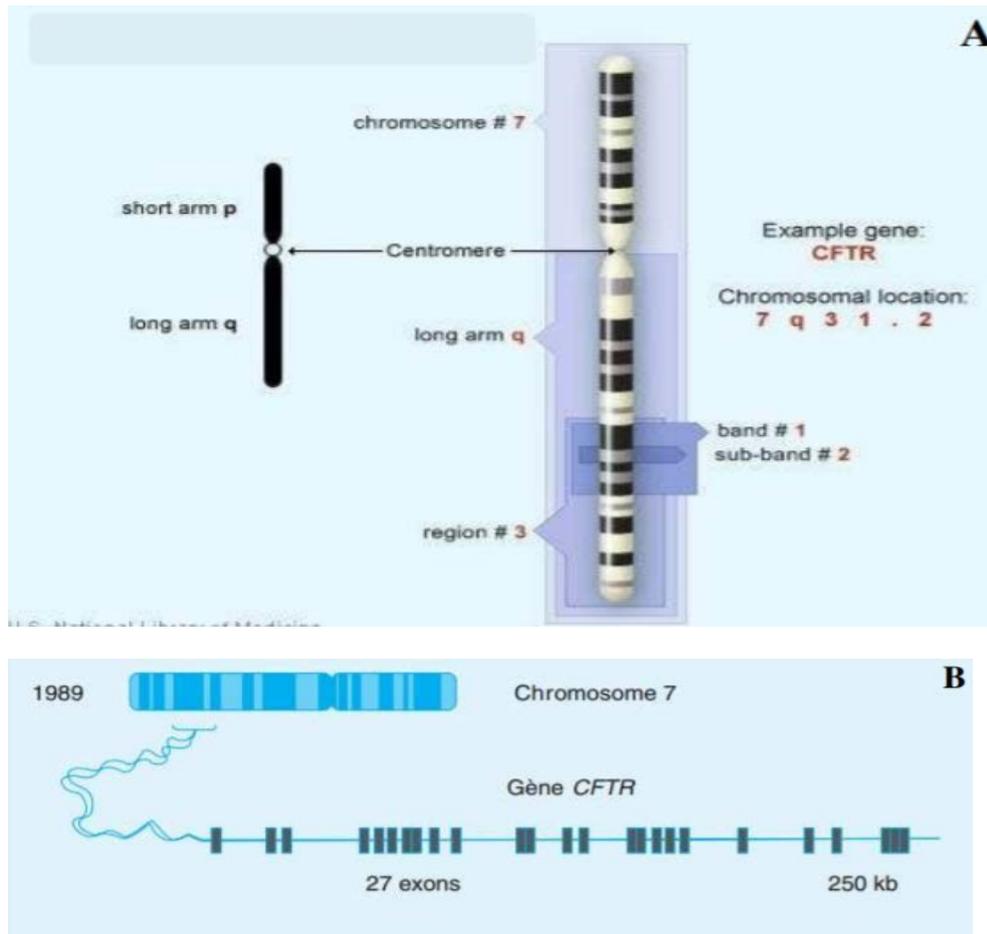
L'enfant A/A n'a pas récupéré le gène muté ni de sa mère ni de son père : il n'est pas malade et ne risque pas de transmettre la maladie. (Orphaschool. Transmission des maladies génétiques ([www.orpha.net/orphaschool/formations/transmission/Ressources/2-AR/AR0.png](http://www.orpha.net/orphaschool/formations/transmission/Ressources/2-AR/AR0.png)))

## II.2. Le gène CFTR

Le gène CFTR est le premier gène autosomique qui a été cloné. En utilisant une approche de liaison génétique, les généticiens ont pu identifier le gène en 7q et le cloner par la suite en 1989, alors qu'ils n'avaient aucune connaissance préalable de la protéine responsable de la maladie (Férec, 2011).

Le gène CFTR responsable de la mucoviscidose est situé sur le bras long du chromosome 7 (7q31.2) (Figure 5A), a une taille de 230 kb et comporte 27 exons numérotés de 1 à 24 avec des exons dédoublés 6a et 6b, 14a et 14b, 17a et 17b. Il est transcrit en ARNm de 6,1Kb, dont la partie codante est de 4,4Kb. Le promoteur CFTR a été caractérisé comme un promoteur de type "gène de ménage" ou "housekeeping", et ne semble pas contenir les éléments régulateurs nécessaires à une expression cellule ou tissu spécifique (Harris.A,1992) ;(Belmadi N, 2015).

Il code pour une protéine CFTR de 1480 acides aminés, d'un poids moléculaire (PM) de 170 kDa, dont la fonction principale est celle d'un canal ionique qui permet aux ions Cl<sup>-</sup> de sortir des cellules épithéliales exocrines et qui module les actions d'autres canaux ioniques permettant le transport des cations Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup> (Belmadi N, 2015).



**Figure 5** : Représentation schématique de la localisation (A) et de la structure (B) du gène CFTR (Belmadi N, 2015).

À ce jour, plus de 2001 mutations du gène ont été identifiées. La mutation F508del ( $\Delta F508$ ), qui entraîne la suppression d'une phénylalanine en position 508, est la plus fréquente. Cette mutation peut être détectée chez plus de 70 % des personnes (A. Munck, M. Roussey, 2008). D'autres délétions importantes, telles que des délétions simples d'un ou plusieurs exons, et des délétions compliquées incorporant des insertions de séquences génomiques inversées, ont également été découvertes. ( Bobadilla.L et al,2002)

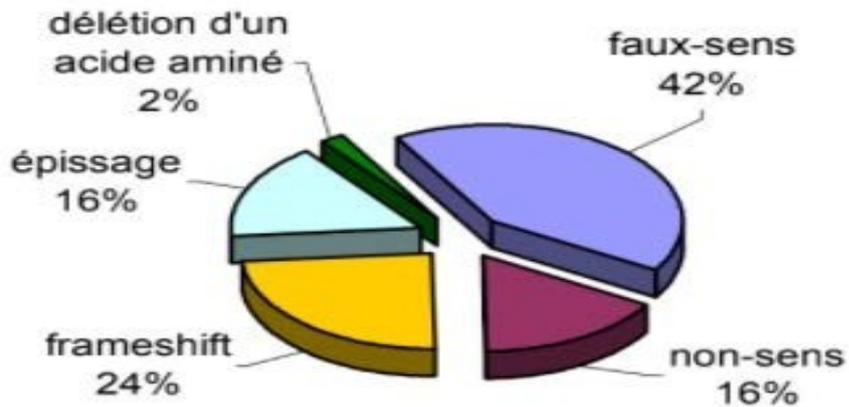
La plupart des mutations du gène CFTR sont des mutations ponctuelles, qui se répartissent comme suit :

### II.3. Répartition des anomalies moléculaire dans le gène CFTR

Le gène CFTR présente un large éventail de défauts moléculaires. De nombreuses mutations ont été identifiées dans le gène CFTR. Outre les délétions d'acides aminés, le gène CFTR peut être muté de quatre façons

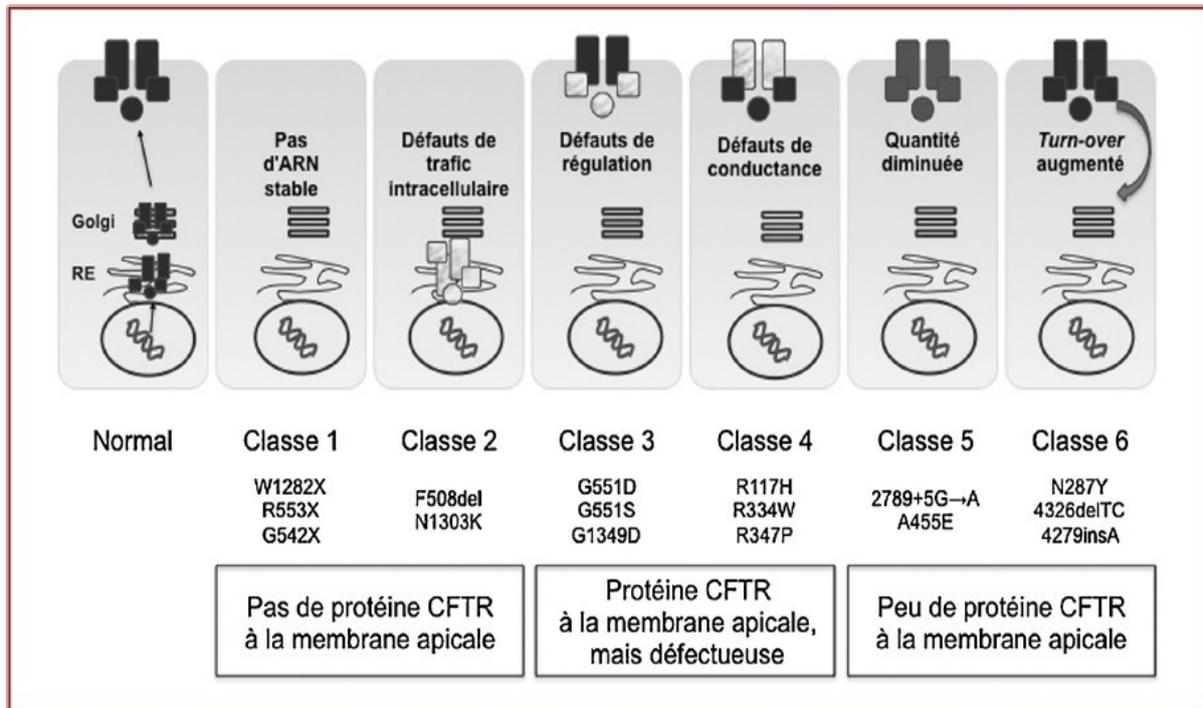
- Mutations faux-sens (42%)
- Mutations non-sens (16%),
- Mutations « frameshift » (24%),
- Mutations d'épissage (16%).

Les 2% restant correspondent à des mutations localisées dans le promoteur ou à des délétions dans le cadre de lecture (Figure 6) <http://www.genet.sickkids.on.ca>.



**Figure 6** : répartition des anomalies moléculaires dans le gène (<http://www.genet.sickkids.on.ca>.)

## II.4. Les classes de mutations dans le gène CFTR



**Figure 7 :** Les différentes classes de mutations de la protéine CFTR (**Fajac et Sermet-Gaudelus, 2013**)

### Classe I : Mutations affectant la biosynthèse de la protéine CFTR

Sont définies par l'absence d'un codon stop aberrant, ce qui entraîne la création d'un ARN messager instable, qui est rapidement dégradé, et un arrêt de la synthèse protéique pendant la phase de traduction. Par conséquent, la protéine est tronquée, rapidement dégradée et absente dans la cellule. Elles représentent 5 à 10 % de toutes les mutations de CFTR (mutation non-sens, ex : G542X) (**Fajac et Sermet, 2013**).

### Classe II : Mutations entraînant un défaut de maturation de la protéine CFTR.

Regroupent les mutations résultant d'une altération de processus de maturation et d'adressage de la protéine CFTR au sein du réticulum endoplasmique et de l'appareil de Golgi aboutissant à une dégradation prématurée de la protéine. Ce sont des mutations faux-sens où un acide aminé est substitué par un autre, comme pour la mutation N1303K, ou supprimé, comme pour la mutation F508del (**Audouset et Prévotat, 2019**).

**Classe III :** Mutations ayant pour effet un défaut de régulation de la protéine CFTR.

Les domaines de liaison des nucléotides de CFTR, qui régulent l'activité du canal Cl<sup>-</sup>, sont principalement affectés par ces mutations, entraînant un défaut de fixation ou l'hydrolyse de l'ATP. La protéine est produite et se trouve au niveau de la membrane apicale, mais elle n'est pas activée. Ces altérations sont des mutations faux-sens représentent 4 à 5 % des patients (exemple : mutation G551D) ( **Fajac et Sermet,2013; Audousset et Prévotat, 2019**).

**Classe IV :** Mutations altérant la conductance du canal Cl<sup>-</sup>

Les mutations de cette classe perturbent la sélectivité ionique et la durée d'ouverture du canal CFTR. Essentiellement situées dans les domaines transmembranaires, il s'agit de mutations faux-sens qui produisent une protéine correctement positionnée et ayant une activité canal Cl<sup>-</sup> AMPc dépendante. Les caractéristiques de ces canaux sont cependant différentes de celles du canal CFTR sauvage, avec une diminution du flux d'ions et une Sélectivité modifiée. Il s'agit en général de mutations à effet modéré, dont la plus fréquente est la mutation (R117H), qui conserve une activité de canal chlorure résiduelle (**SEDIKI F.Z, 2015**).

**Classe V :** Mutations touchant la stabilité de l'ARNm.

Les mutations de classe V entraînent la production d'une protéine CFTR normale mais en faible quantité du fait d'un défaut de stabilité de l'ARN messager (Mutations faux-sens altérant le routage (A455E)). Elles se situent sur le promoteur, les sites d'épissage, ou la partie codante du gène CF. La biosynthèse de CFTR est donc fortement réduite (**Audousset et Prévotat, 2019**).

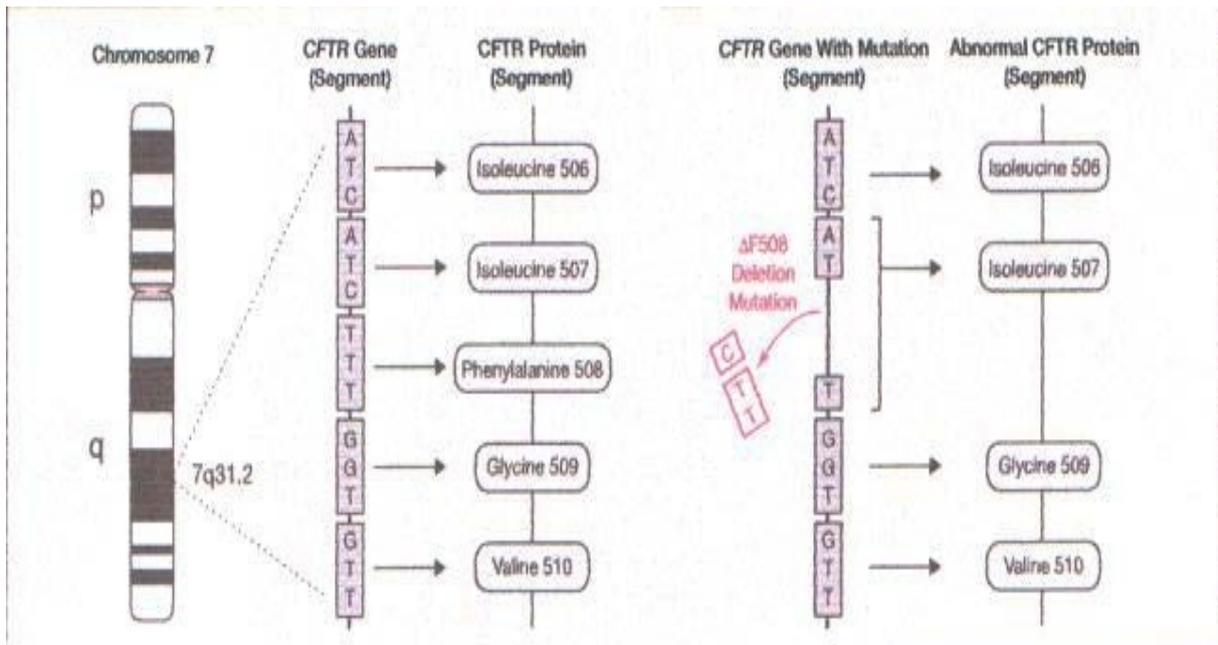
**Classe VI :** Mutations affectant la stabilité de la protéine

Les mutations de cette classe entraînent une augmentation du turn-over de la protéine CFTR, en raison d'un défaut de stabilité de la protéine.

Les mutations de classes IV, V, VI sont généralement associées à un phénotype clinique moins sévère que les mutations I, II ou III (**Fajac et Sermet, 2013**).

## II.5. La mutation $\Delta F508$

C'est une mutation de classe II, localisée dans le domaine NBD1 (codé par l'exon 10). La mutation  $\Delta F508$ , qui correspond à la perte d'un résidu phénylalanine en position 508 de la protéine due à une délétion de 3 nucléotides CTT (Figure 8). Elle perturbe la maturation de la protéine CFTR, en empêchant sa glycosylation et son routage vers la membrane cytoplasmique des cellules épithéliales.



**Figure 8** : La mutation  $\Delta F508$  (vastag B,2003)

## II.6. La protéine CFTR

La protéine CFTR est une glycoprotéine transmembranaire de 1480 acides aminés, et de 170 kDa environ pour la forme mature. Elle appartient à la famille des protéines ABC (ATP Binding Cassette), impliquées dans le transport transmembranaire ATP-dépendant de diverses molécules telles que les ions, les peptides, les acides aminés et le cholestérol (belmadi.N,2015).

Présente principalement sur la membrane des cellules des voies respiratoires et le système digestif, qui a un rôle dans la régulation des flux hydro électrolytiques transmembranaires responsables de la qualité des sécrétions exocrines (Manus.,2020 ;Thouvenin et al.,2021).

L'absence ou la non fonctionnalité de cette protéine provoque un épaissement et une stase des sécrétions hydroélectrolytiques épithéliales au niveau pulmonaire, pancréatique mais aussi au niveau du tractus du tube digestif et de l'appareil génital (ANGELOT.,2005).

## II.6.1. La biogenèse de la protéine CFTR :

Comme la plupart des protéines, la protéine CFTR est assemblée au niveau du RE (Réticulum Endoplasmique) sous forme d'un précurseur et elle va subir un processus de maturation par différentes étapes de Glycosylation. Cette forme immature (ou forme A, 130kDa) est pliée et intégrée à la membrane du RE. Les cycles de repliement de la protéine CFTR sont contrôlés par le système ERQC (Endoplasmique Reticulum Quality Control) soit indirectement via des interactions avec des molécules chaperonnes, Hsp70/Hsc70, Hdj-2, Hsp90 et calnexine, soit directement via les N-glycannes indépendamment des chaperonnes, lesquelles jouent aussi le rôle dans la stabilité de la protéine CFTR (Glozman et al., 2009).

Elle est ensuite glycosylée par addition de deux groupes de glucide sur la 4<sup>ème</sup> boucle extracellulaire. Cela modifie son poids moléculaire à 150 kDa. Cette nouvelle forme immature est appelée forme B. Elle quitte le RE par des vésicules « coat complex II » (COPII) (Figure 9) en direction de l'appareil de Golgi. La dernière étape de la maturation a lieu au niveau du Golgi et se traduit par une modification des groupes de glycosylation. Cette nouvelle forme mature s'appelle la forme C et possède un poids moléculaire de 170 kDa.

CFTR est ensuite adressée à la membrane plasmique pour y exercer ses différentes fonctions (Turnbull et al., 2007).

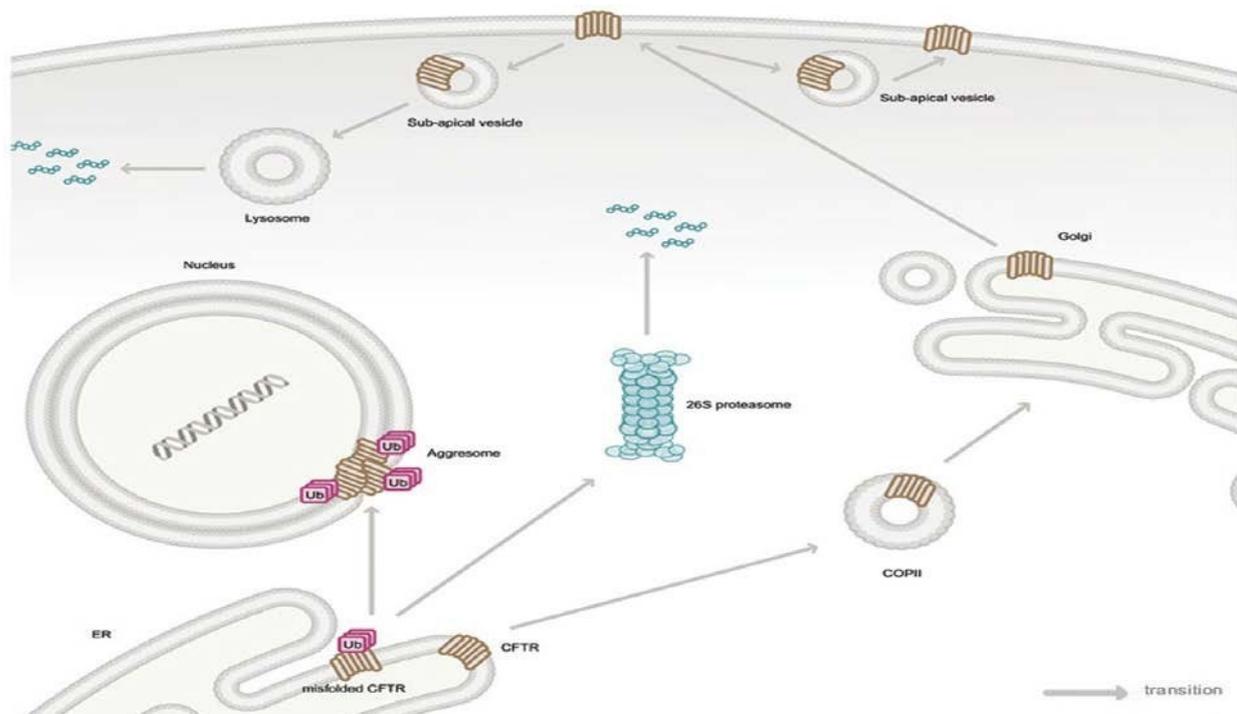


Figure 9 : Biogenèse de la protéine CFTR (Turnbull et al., 2007).

### **La dégradation de CFTR :**

Au cours de la traduction ribosomale de l'ARNm de CFTR à partir du noyau, il est incorporé de manière co-traductionnelle dans la membrane du RE. Si CFTR est mal replié dans le RE, il est ubiquitylé et rétrotransféré vers le cytosol, où le protéasome 26S le dégrade (70 % des protéines CFTR synthétisées sont dégradées). La protéine CFTR ubiquitylée est localisée dans une structure aggresome péricentriolaire lorsque le protéasome est inhibé (**Turnbull et al., 2007**).

La demi-vie de la protéine CFTR au niveau de la membrane cellulaire est très courte. En effet, CFTR est rapidement internalisée par endocytose et est recyclée à la surface et dégradée par les lysosomes et le protéasome (Figure 9).

### **II.6.2. La structure de la protéine CFTR**

La protéine CFTR est formée de deux motifs contenant chacun 6 domaines transmembranaires en hélice (TMD : Trans-Membrane Domain ou MSD : Membrane-Spanning Domain) reliés entre eux par des boucles intra- et extracellulaires (ICL : intracellular loop, ECL : extracellular loop). Cette glycoprotéine comporte également deux domaines de fixation à l'ATP (NBD : Nucleotide Binding Domain) reliés par un domaine régulateur (domaine R) cytoplasmique (Figure 10). Ce dernier riche en sérine est la cible de phosphorylation par les protéines kinase A et C (PKA et PKC) (**bonini.J, 2015**)

Les caractéristiques de la protéine CFTR sont similaires aux protéines de MDR ou aux glycoprotéines et sont présentes chez de nombreux organismes (bactéries, levures, mammifères). Elle est impliquée dans le transport de substances ionisées à travers la membrane. La protéine CFTR est surtout localisée dans la région apicale des cellules de plusieurs épithéliums de l'appareil pulmonaire, du tractus intestinal, des canaux pancréatiques des glandes salivaires et bronchiques, en particulier au niveau des cellules ciliées des voies aériennes proximales et distales (**LOUMI.O, 2006**).

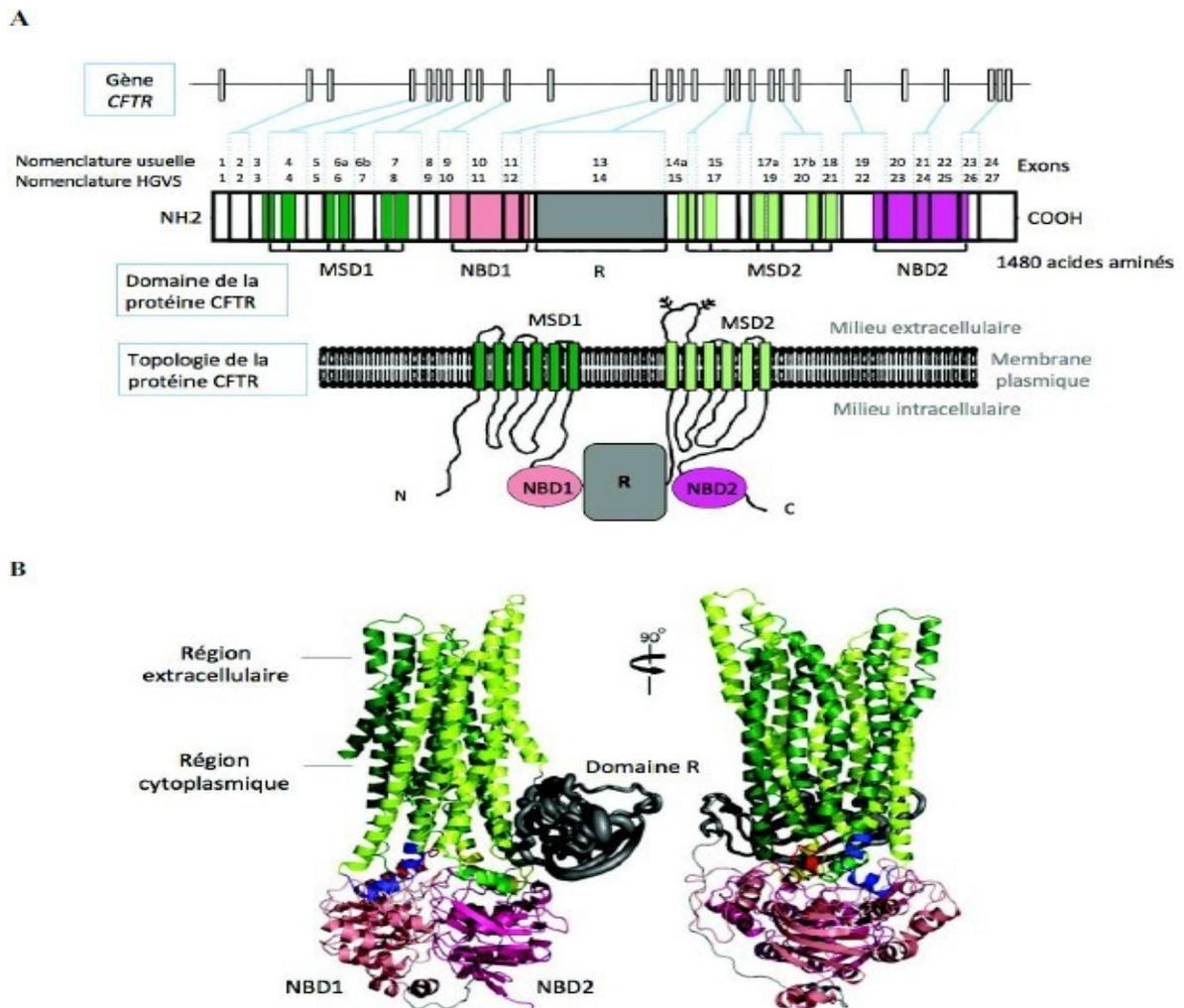
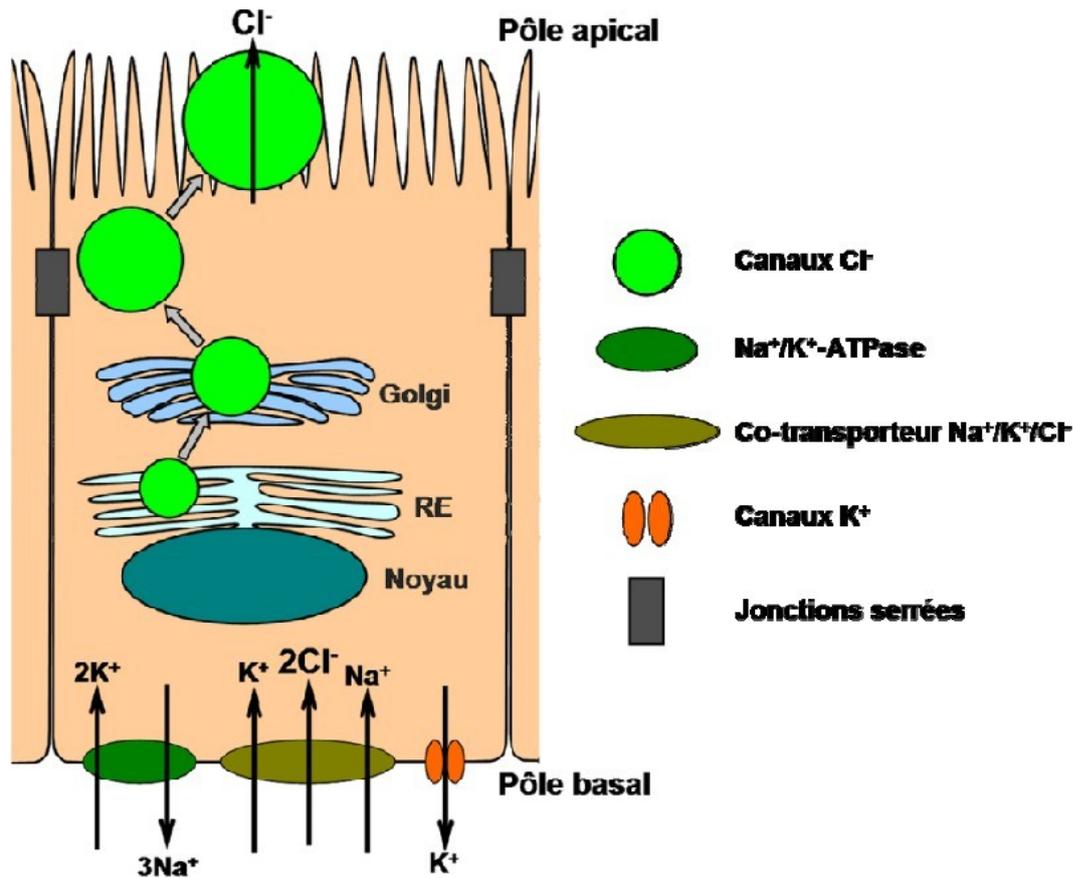


Figure 10 : du gène *CFTR* à la structure protéine *CFTR* (bonini.J, 2015)

## II.6.3. Fonctions de la protéine *CFTR*

### II.6.3.1. *CFTR*, un canal $\text{Cl}^-$

L'absorption de  $\text{Na}^+$  et la sécrétion de  $\text{Cl}^-$  sont les principaux aspects de l'activité épithéliale dans un épithélium sécrétoire. Dans ces épithéliums, le flux est dirigé du pôle basolatéral vers la lumière. La pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase fournit la puissance motrice pour le transport secondaire actif des ions  $\text{Cl}^-$ . Les co-transporteurs  $\text{Na}^+/\text{K}^+/2\text{Cl}^-$  permettent aux ions  $\text{Cl}^-$  de pénétrer dans la membrane basolatérale et de quitter le côté apical par diffusion passive à travers les canaux  $\text{Cl}^-$  (Figure 11).

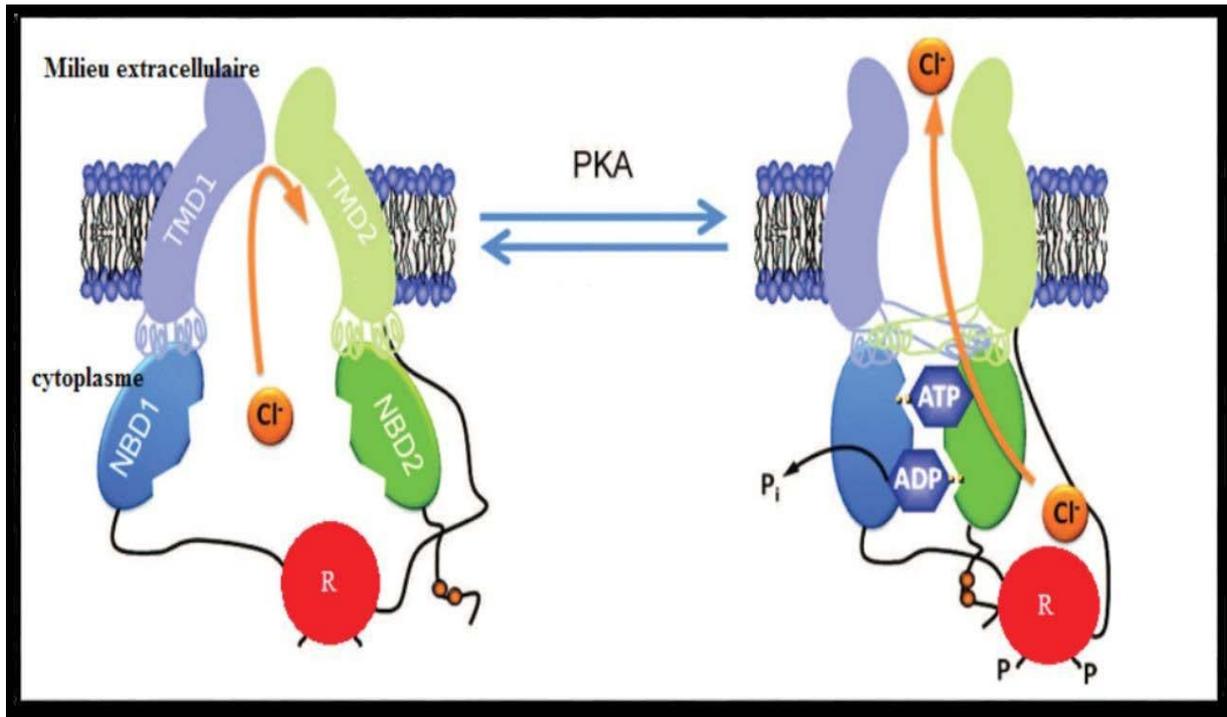


**Figure 11** : Représentation schématique du transport des ions  $\text{Cl}^-$  dans une cellule épithéliale (Sylvain.C ,2011)

Les ions chlorures entrent dans la cellule par le pôle basal via le co-transporteur  $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$  et en ressortent par le pôle apical via les canaux  $\text{Cl}^-$ , comme CFTR.

### Fonctionnement de la protéine CFTR

Sous l'influence de la Phospho-Kinase A (PKA), toutes ou une partie seulement des sérines régulatrices du domaine R peuvent être phosphorylées. Dans les deux cas, cette phosphorylation permet la fixation de l'ATP sur un NBD. La liaison de l'ATP induit un changement de conformation de la protéine, la dimérisation de NBD1-NBD2 (un couplage Fonctionnel), et l'ouverture du pore. Si le domaine R n'est que partiellement phosphorylé, l'ATP est hydrolysée en ADP qui se dissocie rapidement du NBD, et le canal reprend sa forme fermée. Si toutes les sérines régulatrices du domaine R sont phosphorylées, une molécule d'ATP peut se fixer sur le deuxième NBD, et stabiliser le canal dans sa conformation ouverte (sediki F.Z,2015)



**Figure 12** : Régulation du canal CFTR d'après (Chen et al, 2006).

Dans les cellules bronchiques, le gradient favorise le passage à l'intérieur vers la lumière dans les cellules sudoripares c'est l'inverse la sécrétion se fait de la lumière vers la cellule.

### II.6.3.2 La Régulation des autres canaux :

La protéine CFTR participe aux flux ionique transépithélial qui s'accompagne d'un flux d'eau Modulant l'hydratation du mucus (Quinton ,1994). Elle régule le fonctionnement d'autres Canaux ioniques de la cellule épithéliale.

#### A. Régulation positive d'ORCC :

En activant un canal Cl<sup>-</sup> rectifiant sortant (ORCC : Outwardly Rectifying Chloride Channel) L'activation du CFTR sous l'effet de la PKA est associée à une sortie d'ATP qui agit par un mécanisme Autocrine sur un récepteur purinergique (PR) couplé à une protéine G (RCPG), ce système active le canal ORCC et l'efflux d'ions Cl<sup>-</sup> (Figure 13).

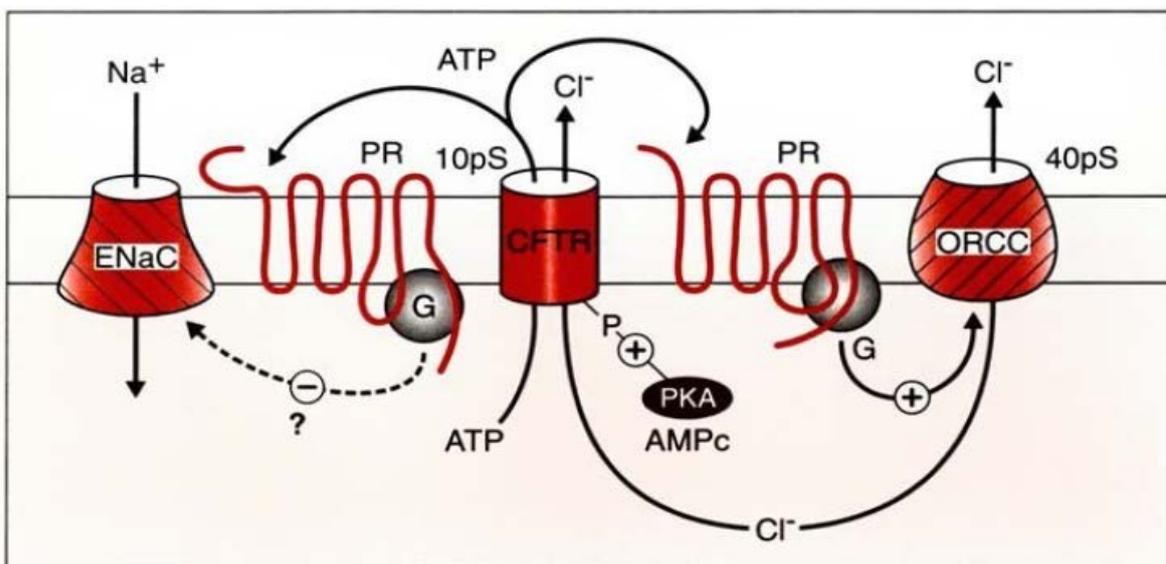
## B. Régulation négative d'ENaC

Un mécanisme identique pourrait inhiber l'activité du canal sodique sensible à l'amiloride (ENaC) responsable de l'absorption d'ions sodium  $\text{Na}^+$  (Figure 13) (Kahn, 1995).

Autres études ont montrés que le CFTR et ENaC interagiraient *via* des éléments associés à la membrane et au cytosquelette " L'actine pourrait être une de ces éléments" (Schwiebert E.M. *et al.*, 1999). Ce serait cette interaction indirecte qui permettrait à CFTR d'interférer avec la régulation d'ENaC *via* la PKA.

- Dans les épithélia respiratoires et intestinaux, l'activité d'ENaC est inhibée par CFTR.
- Dans les glandes sudoripares, épithélium purement absorbant, l'activité d'ENaC

Augmente avec l'activité de CFTR (Reddy M.M. et Quinton P.M., 2003) ; l'activation de ENaC dans ce cas est due à la fonction canal  $\text{Cl}^-$  de CFTR donc la direction du Courant  $\text{Cl}^-$  influence le mécanisme d'interaction entre CFTR et ENaC (ENaC est Activé lorsque le  $\text{Cl}^-$  est absorbé, alors qu'ENaC est inhibé lorsque le  $\text{Cl}^-$  est sécrété.).



**Figure 13** : Schéma des possibles fonctions régulatrices du canal CFTR (Kahn, 1995).

Le CFTR est positionné comme un régulateur central du transport du sel et de l'eau. (Donaldson and Boucher, 2006)

### II.6.3.3. La Régulation du PH intracellulaire

La protéine CFTR est capable d'influencer le pH, en acidifiant le PH des organelles Cellulaires. Ce rôle est particulièrement important lors d'invasions bactériennes. En effet, dans les macrophages, les phagosomes contenant les bactéries phagocytées fusionnent avec les lysosomes pour former le phagolysosome. Ici, les bactéries sont détruites par des enzymes dont l'activité est optimale dans un environnement acidifié par l'intermédiaire, entre autres, de CFTR (Sylvain. N, 2011).

### II.6.3.4. Rôle dans l'inflammation :

CFTR est indirectement impliqué dans le système immunitaire et dans le processus d'infection/inflammation observé chez les patients en raison de sa fonction dans l'acidification des organelles intracellulaires, un phénomène nécessaire à l'élimination des germes, en outre le CFTR joue le rôle d'un récepteur pour les bactéries *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella typhi*.

Récemment, il a été mis en évidence l'implication de CFTR dans la mise en place de la réaction immunitaire contre l'invasion de *Pseudomonas aeruginosa*. L'association entre la bactérie et CFTR va en effet entraîner le recrutement de la protéine MVP (Major Vault Protéine ou LRP, Lung Resistance-related Protein) puis l'internalisation de la bactérie provoquant ainsi l'activation du facteur nucléaire NF $\kappa$ B (Nuclear Factor  $\kappa$  B). Ce phénomène conduit alors à l'apoptose de la cellule infectée et à l'élimination de l'infection bactérienne.

Les macrophages alvéolaires jouent un rôle fondamental dans la phagocytose des cellules apoptotiques. Ils permettent ainsi d'éviter une nécrose secondaire, qui induirait une inflammation locale. L'apoptose des cellules épithéliales est augmentée et les fonctions phagocytaires des macrophages sont altérées. Par ailleurs, les macrolides activent la différenciation des monocytes en macrophages aux propriétés anti-inflammatoires et dont les fonctions sont orientées vers l'efferocytose (phagocytose des cellules apoptotiques), le nettoyage des débris cellulaires, le remodelage et la réparation tissulaire après agression.

Les cellules épithéliales ont notamment la propriété de sécréter des peptides à activité antimicrobienne à très large spectre (Anti-Microbial Peptides – AMP). Les défensines ils détruisent les agents pathogènes principalement par perméabilisation membranaire. Ils peuvent être exprimés de façon constitutive (ex :  $\beta$ -défensines-1), ou bien être induits par un stimulus inflammatoire (ex :  $\beta$ -défensines-2). Leur déficit est une des causes explorées dans les pathologies respiratoires chroniques avec comme la mucoviscidose .

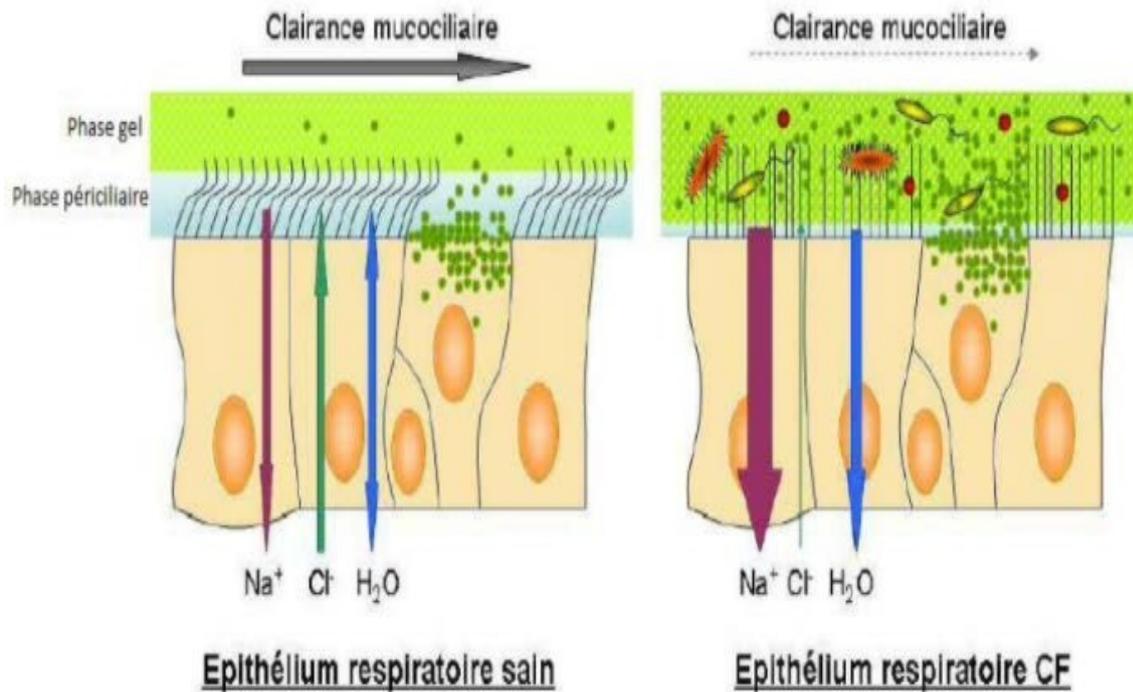
Chez les malades atteints de mucoviscidose, l'absence de CFTR rompt cette cascade de réactions initiant la réponse immunitaire précoce, ce qui conduit à la colonisation des voies aériennes par cette bactérie pathogène opportuniste. **(Julien Micoud, 2008).**

## **II.7. Physiopathologie de la mucoviscidose**

Chez une personne saine, les cellules pulmonaires produisent un mucus fluide : l'ASL (liquide de surface des voies respiratoires) constitué de deux phases : une phase aqueuse (le liquide périciliaire ou LPC) et une phase muqueuse **(Farhat.R,2014).**

La sécrétion active de chlore vers le LPC est assurée par les canaux CFTR, qui interagissent avec les canaux sodium pour limiter leur activité. Ce mouvement de chlore entraîne un mouvement de sodium et d'eau. Le transport du chlorure et d'autres ions maintient le LPC hydraté et permet aux cils de battre d'une façon normale, ce qui facilite l'élimination des corps étrangers, tels que les microbes, les bactéries et les particules de poussière, qui viennent de se déposer sur ce mucus et y sont retenus prisonniers. Grâce aux mouvements des cils vibratiles des cellules de l'épithélium pulmonaire, le mucus quitte les bronches et remonte ensuite vers la gorge pour être évacué par la bouche. Ce mucus constitue donc un élément important et nécessaire à la propreté et au nettoyage des voies respiratoires (Figure 14) **(Sedrati.KH, 2008 ;Ouchtati.A,2018).**

Chez une personne atteinte de mucoviscidose, les sécrétions deviennent abondantes, plus visqueuses et collantes ; ce qui rend son évacuation très difficile induisant une obstruction bronchique. L'accumulation de mucus et la diminution de la clairance produisent un environnement propice à la croissance de certaines bactéries, ce qui entraîne une colonisation bactérienne et une infection des poumons et des voies respiratoires. Ces infections sont causées par une variété de bactéries, dont les plus courantes sont *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, et *Haemophilus influenzae* **(Marie.G,2013).**



**Figure 14** : Conséquence du dysfonctionnement de transport ionique sur la clairance mucociliaire dans la mucoviscidose (SAUSSEREAU, 2012).

Dans l'épithélium des glandes sudoripares, le flux ionique est inversé ; les ions chlorure ne quittent pas la cellule mais y pénètrent par l'intermédiaire de la protéine CFTR. Physiologiquement, cette absorption de chlorure minimise la perte de chlorure de sodium (NaCl) par la sueur, empêchant ainsi l'organisme de se déshydrater. Chez les personnes mucoviscidosiques. Les ions chlorure ne sont plus réabsorbés, ce qui entraîne une accumulation de NaCl responsable de la déshydratation aiguë (Billet Arnaud,2010).

## II.8. Le diagnostic et le dépistage de la mucoviscidose

Bien qu'il existe un dépistage néonatal en France depuis 2002, il est possible de porter le diagnostic de mucoviscidose à tout âge, notamment si l'enfant est né avant 2002 ou à l'étranger

Le diagnostic clinique est difficile, en raison de la banalité de certains symptômes respiratoires récidivants et des troubles nutritionnels difficiles à quantifier. Cependant le diagnostic de mucoviscidose doit être évoqué devant un iléus méconial chez un nouveau-né, une saveur anormalement salée de la peau, une stéatorrhée, un retard staturo-pondéral, des infections chroniques avec hypersécrétion bronchique, une toux chronique, une atteinte hépatique avec ictère ou un prolapsus rectal (Ouchtati.A,2018).

# **Diagnostic de la mucoviscidose**

### **III. Diagnostic de la mucoviscidose**

Une présentation clinique est nécessaire pour le diagnostic de la mucoviscidose. L'aspect clinique est compatible avec l'affection, de même que la mise en évidence d'un dysfonctionnement de la protéine CFTR. Il existe des techniques permettant de mettre en évidence un dysfonctionnement de la CFTR (**M. BOCHUD et al,2010**)

- Un test de la sueur avec une concentration de chlore supérieure à 60 mmol/l.
- Une étude moléculaire qui a révélé la présence des mutations dans le gène CFTR.
- La mesure directe de la fonction de CFTR au niveau de l'épithélium nasal (anomalies bioélectriques)
- Dosage de la trypsine immunoréactive (TIR).

L'ensemble du matériel non biologique et les solutions utilisés pour le diagnostic biologique chez les patients mucoviscidosiques est rapporté dans les annexes.

#### **III.1. Le diagnostic biologique**

##### **III.1.1. Le test de la sueur**

Le test de la sueur consiste à mesurer les concentrations sudorales des ions chlorure et/ou sodium, C'est le test le plus important pour confirmer le diagnostic de mucoviscidose Les patients atteints de cette maladie présentent en effet des concentrations de sueur anormalement élevées en raison d'un défaut de réabsorption des ions chlorure dû à une anomalie génétique de la protéine CFTR, Il se déroule en trois étapes : iontophorèse avec de la pilocarpine pour provoquer la sudation ,recueil de la sueur et mesure des ions chlorure et/ou sodium dans l'échantillon de sueur(**Nguyen-Khoa et al., 2012**)

Le risque d'erreur de ce test est élevé, il requiert un personnel expérimenté.

##### **III.1.1.1 Stimulation de la sudation**

La première technique de stimulation de la sudation mise au point par Schwachman en 1955, consistait à provoquer une hyperthermie des sujets par l'utilisation d'un sac en plastique, Cette méthode est peu confortable.

La sueur est obtenue après l'iontophorèse a la pilocarpine, drogue cholinergique qui stimule les glandes sudoripares. Comme ce médicament ne traverse pas la barrière épidermique, l'iontophorèse va lui permettre de passer jusqu'aux glandes sudoripares. Cette méthode est

réalisée à l'aide d'un ampèremètre d'ionisation à deux électrodes. Dans la plupart des cas, on utilise le bras droit ou le bras gauche. La peau doit être indemne de toute altération (eczéma, écorchure) et débarrassée des chlorures physiologiques restants par un lavage soigneux. La jonction électrique se fait par des compresses imprégnées d'une solution d'acide sulfurique pour la cathode et d'une solution de sulfate de pilocarpine pour l'anode. Les électrodes sont fixées par des élastiques sur la face antérieure de l'avant-bras, préalablement nettoyé. Un courant de 1,5 à 4 mA est appliqué pendant 6 minutes. La peau est ensuite lavée à l'eau distillée et séchée (Storni et al., 2001).

### **III.1.1.2. Recueil de la sueur**

Elle se fait par l'utilisation d'un papier filtre qui a été pré-pesé à 0,1 mg. Celui-ci sera placé sur la surface stimulée, puis recouvert d'un film plastique fixé hermétiquement sur la peau pour éviter l'évaporation. Le papier filtre est retiré à l'aide d'une pince après 30 à 60 minutes de transpiration et pesé instantanément. Un test fiable nécessite au moins 100 mg. Si plusieurs échantillons sont prélevés, ils seront traités indépendamment (Storni et al., 2001).

### **III.1.1.3. Dosage de chlorure dans la sueur**

Le dosage est effectué sur un échantillon qui a été dilué avec de l'eau distillée. C'est le principe de l'approche de GIBSON et COOKE, qui est utilisée conjointement avec un titrage classique de Schales et Schales.

Il est possible de mesurer le taux de chlorures directement à l'endroit de l'émission sans recueil réel, par une électrode sélective posée à l'endroit de la stimulation (Sedrati .KH,2008).

## **III.1.2. Dosage de la trypsine (dépistage néonatal)**

La trypsine est une protéine de 201 acides aminés, d'un poids moléculaire de 23 kDa et qui possède quatre ponts disulfures, synthétisée par les cellules acineuses du pancréas, sous la forme d'une pro-enzyme qui rend le trypsinogène inactif, Dans la circulation, seules d'infimes quantités de trypsine sont retrouvées et elle est principalement liée à deux inhibiteurs de protéase, l'alpha-1-antitrypsine et l'alpha-2-macroglobuline. Les anticorps anti-trypsine

reconnaissent ces deux formes de trypsine de manière différente (la trypsine immunoréactive) (**Garnotel R,2006 ; Sedrati .KH,2008**).

Le dosage de la trypsine immunoréactive (TIR) est la meilleure technique pour le dépistage néonatal, qui se fait à partir du sang prélevé aux alentours de 3eme jour de vie par incision avec une micro lance au niveau de la face latéro-postérieure du talon. Il est déposé par goutte sur papier buvard puis séché à température ambiante pendant deux à trois heures, avant d'être expédié au laboratoire (**Sedrati.KH,2008**), le dosage peut également être effectuer sur sérum (Figure 16).

### **III.1.3. La mesure de la différence de potentiel nasal (DPN)**

Le but de la mesure de la (DPN) est d'étudier les problèmes de fonctionnement de la CFTR in vivo. Pour mesurer les courants bioélectriques, une électrode est insérée dans la muqueuse nasale et une autre dans le bras (annexe III). Des techniques normalisées de DPN ont été établies, permettant de distinguer le profil des patients atteints de mucoviscidose de celui des témoins. Cependant, en raison des mauvaises conditions locales liées à la pathologie infectieuse rhino-sinusienne de ces patients, le DPN peut être affecté (**Prulière-Escabasse.V, 2019**)

## **III.2 Diagnostic moléculaire (détection des mutations par des techniques)**

Le clonage du gène CFTR et l'identification des mutations causales ont permis de mettre en œuvre des stratégies de diagnostic moléculaire adaptées à la situation clinique, Les différentes techniques utilisées reposent presque toutes sur l'analyse de fragments d'ADN du gène CFTR amplifiée par PCR (**Schwarz, 1998**).

La PCR est donc une étape préalable pour pouvoir appliquer ensuite d'autre techniques.

### **III.2.1 La PCR (Polymérase Chain Réaction)**

Une technique de Réplication ciblée in vitro qui permet d'obtenir des quantités importantes d'un fragment d'ADN spécifique de longueur définie à partir de quelques cellules ou d'une quantité minimale d'échantillon biologique, la réaction se fait dans un thermocycleur. La PCR a révolutionné le domaine du diagnostic moléculaire et est devenue une technique de routine dans le domaine de la santé publique ( **Sánchez B., 2009**).

❖ **Principe**

La réaction repose sur la fixation de deux courtes amorces (primers) dont l'extrémité 3' est libre. Cette réaction de fixation de l'amorce sur la molécule d'ADN correspond à une hybridation dépendante de trois paramètres, la température, la concentration en sel du milieu et la composition en nucléotide de l'amorce, en présence des désoxyribonucléiques (DNTP) et d'une ADN polymérase thermorésistante (TAQ polymérase) (Henegariu, O.,1997).

Trois étapes sont nécessaires pour la réalisation d'un cycle d'amplification (tableau 1)

- **La dénaturation thermique de l'ADN** : à 95°C, les liaisons d'hydrogène sont rompues et les 2 brins se séparent. L'ADN passe sous forme simple brin dans le milieu.
- **Hybridation des amorces** : le milieu réactionnel contient 2 amorces, chacune complémentaire d'un des 2 brins. La température permettant la fixation des amorces sur les monobrins d'ADN est comprise entre 50°C et 65°C. Les amorces en large excès, s'hybrident dès lorsqu'elles rencontrent les séquences complémentaires.
- **La polymérisation** : intervention de la TAQ polymérase qui allonge les amorces en y incorporent les désoxyribonucléiques complémentaires de la séquence de la matrice auquel elle est hybridée. Cette étape s'effectue à une température de 72 °C.

**Tableau 1** : les étapes de la PCR

<b>Les étapes de la PCR</b>	<b>Température</b>
Dénaturation des 2 brins d'ADN	94 °C
Hybridation des amorces	50°C -65°C (en fonction de la longueur de l'amorce)
Polymérisation	72°C

### **III.2.2 L'analyse des produits PCR de l'exon 10 par électrophorèse en gel de Polyacrylamide**

#### **❖ Principe**

Il repose sur la séparation de molécules chargées électriquement, en fonction de leur charge et de leur taille et ce, sous l'influence d'un champ électrique, l'ADN est chargé négativement donc les différents ADN possèdent la même densité de charge et migreront vers le pôle positif, soit l'anode. De plus, le gel de polyacrylamide est réticulé, donc les molécules d'ADN de petites tailles migrent plus vite que les molécules de grandes tailles (**Yahia. M, 2007**).

Les fragments n'étant pas colorés naturellement, il faudra les faire « apparaître » sur leurs supports par différentes méthodes (colorant spécifique, autoradiographie...).

Le gel de Polyacrylamide est une matrice de séparation utilisée en électrophorèse de biomolécule. Il est constitué d'acrylamide qui est l'unité de base et de bisacrylamide (méthylène-bisacrylamide) qui est l'agent pontant (**Sediki.,2015**).

### **III.2.3. L'analyse de produits PCR par hybridation avec sondes oligonucléotidiques spécifiques (ASO) ou reverse dot blot**

Le dot-blot inversé est l'une des techniques les plus largement utilisées pour diagnostiquer la fibrose kystique, détecter de mutations connues du gène CFTR et distinguer les sujets homozygotes, hétérozygotes et les sujets de type sauvage (**ESHAQUE, B et DIXON, B.,2006**).

### **III.2.4. La séparation électrophorétique de produits de PCR après digestion enzymatique**

Technique simple permet de détecter les mutations qui modifient des sites de restriction naturels par des enzymes de restriction qui sont isolées de bactéries et portent le nom de la bactérie de laquelle elles sont dérivées (**Schwarz, 1998 ; Shrimpton ,A .E ,2000**) ces enzymes appartiennent à la classe des endonucléases et sont capables de cliver les liaisons phosphodiester entre deux nucléotides à l'intérieur d'un acide nucléique et reconnaître spécifiquement une courte séquence, de 4 à 10 pb, et de cliver l'ADN au site reconnu.

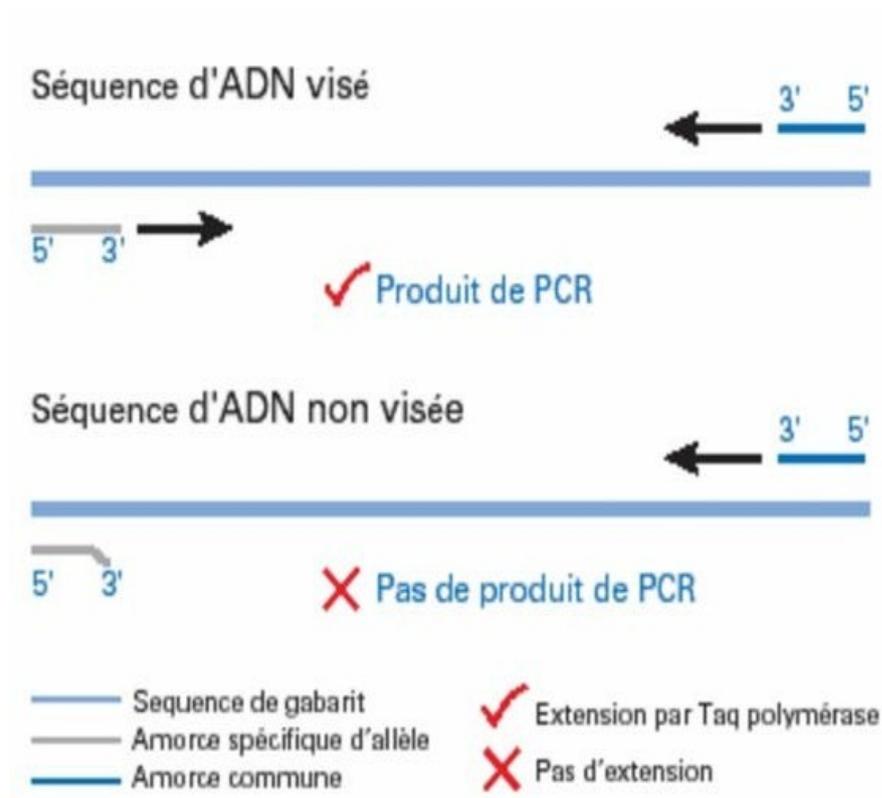
### **III.2.5. Détection des mutations CFTR par PCR/ARMS dans un échantillon de la population algérienne**

En Algérie, les données de la littérature sur le profil clinique et le spectre des mutations du gène CFTR sont pauvres. Dans cette étude, ils ont étudié 24 familles algériennes non apparentées, ayant au moins un enfant atteint de FC.

Des extraits d'ADN provenant des échantillons de sang des patients et des parents ont été testés pour les mutations du gène CFTR en utilisant le kit CF30 d'Elucigene qui est basé sur une technique de PCR/ARMS (Sediki FZ et al, 2014).

#### **❖ Principe de PCR/ARMS**

L'amplification refractory mutation system est une technique qui consiste à amplifier un fragment d'ADN en sélectionnant des amorces de manière que seule la séquence altérée ou la séquence normale soit amplifiée (Wagner et al, 1990 ; Litia et al, 1992). En général, la base mutante se trouve près de l'extrémité 3' de l'une des amorces. La stringence est augmentée afin que l'amplification ne peut se produire que si l'appariement est idéal. Trois oligonucléotides synthétiques sont utilisés dans cette méthode, un pour chaque mutation : une amorce 5' commune et deux amorces en 3' du brin d'ADN à étudier. La seule différence entre ces dernières est leur nucléotide 3' terminal, l'une étant complémentaire de la séquence normale et l'autre étant complémentaire de la séquence mutante. Les amorces de type sauvage et mutant sont utilisées en même temps dans les réactions de PCR (Figure 15). Ce protocole est appliqué aux patients présentant un test de la sueur douteux et négatif, et ce en employant un Kit commercialisé CF30 ELUCIGENE™ qui permet la détection simultanée de 30 mutations (Loumi.O,2006).



**Figure 15** : amplification multiplexe par ARMS (Loumi.O, 2006).

#### ❖ Protocole opératoire

L'amplification multiplexe a été réalisée dans un tube PCR (0.2ml) contenant (Loumi.O,2006)

0.5 µl de Tampon de dilution

2.5 µl de colorant de charge (contenant les différentes amorces)

1.7 µl d'H<sub>2</sub>O

0.3 µl d'Ampli Taq Gold® (2.5 UI/ µ)

1.7 µl d'ADN

Une activation de l'enzyme AmpliTaq Gold® est réalisée par PCR.

# **Interprétation des Résultats**

## **IV. Interprétation des résultats**

### **IV .1. Résultats de test de la sueur**

Les résultats sont exprimés en milliéquivalents (mEq) ou en millimoles (mmol) de chlorure par litre de sueur, lorsque la valeur de chlore est inférieure à 40 mmol/l, le test est normal ; lorsqu'elle est supérieure à 60 mmol/l, le test est positif ; mais la répétition du test à deux reprises est nécessaire pour confirmation de la présence d'une mucoviscidose. Entre 40 et 60 le test est douteux, il faudra également le répéter ; si le deuxième s'avère être négatif, un troisième test sera nécessaire pour contrôle et confirmation (**Welsh et Smith, 1996 ; Naimi et Chabani, 1997**). La sensibilité de ce test est de 98%, la spécificité est de 83%, et la valeur prédictive positive de 99,5% (**Schwachman et Mahmoodian, 1981**).

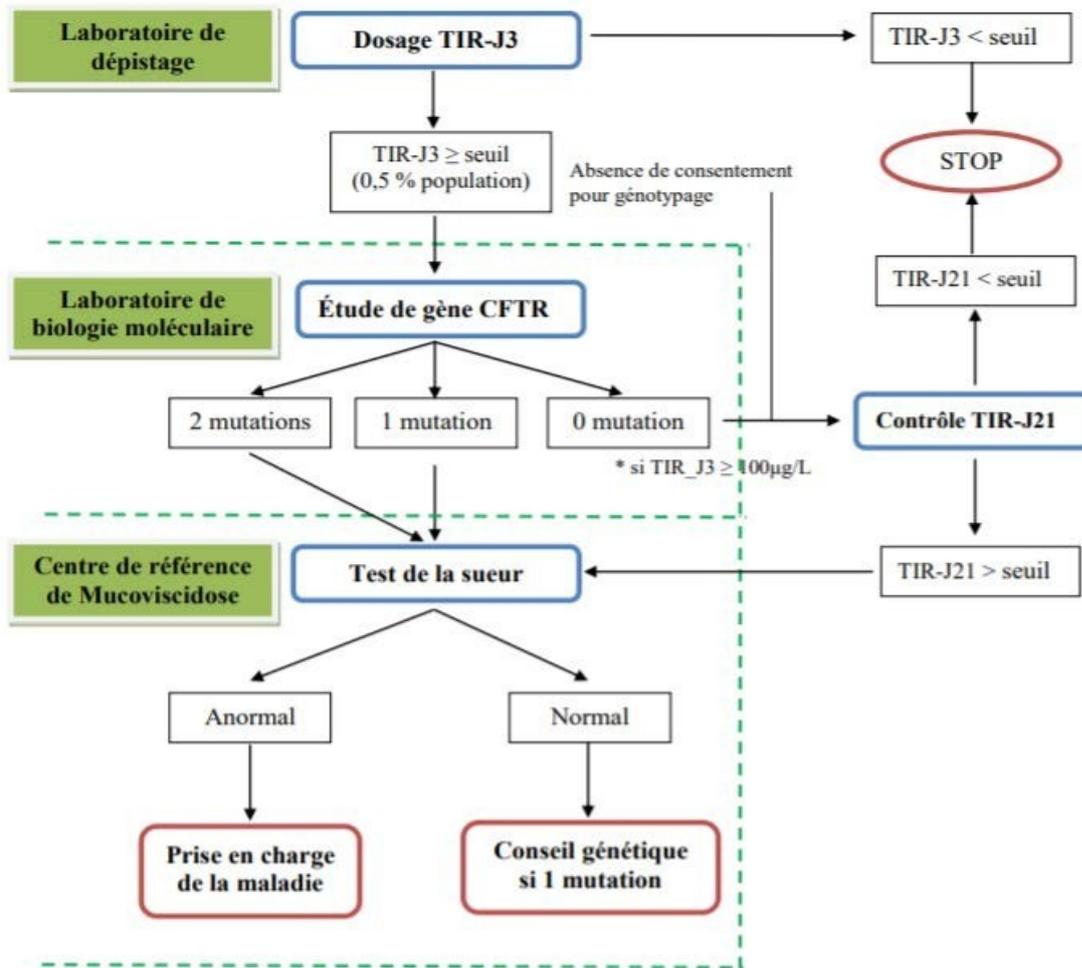
Pour les bases biologiques de ce test : dans les autres organes cibles de la CF, le mécanisme physiopathologique essentiel est habituellement le défaut du transport trans-épithéliale de chlore (**Quinton, 1999**). Dans les glandes sudoripares, du sujet non mucoviscidosique, la sueur élaborée par les cellules glandulaire est presque isotonique ; elle emprunte ensuite les canaux sudoripares avant d'être excrétée (**Quinton, 1999**). Les cellules épithéliales canalaire forment une couche confluyente imperméable à l'eau qui absorbe activement le Na<sup>+</sup> par des canaux ENaC apicaux. Le chlore est absorbé passivement à travers les canaux Cl/CFTR. L'eau ne suivant pas, il en résulte un liquide sudoral hypotonique. Ce mécanisme visant à préserver les électrolytes dans l'organisme.

Chez ses patients, dont le test de la sueur est positif, l'absorption de chlore dans les canaux excréteurs n'est plus possible, la couche épithéliale étant imperméable au chlore du fait de l'absence de canaux Cl/CFTR. Dans ces conditions, l'absorption de sodium ne peut plus se produire ce qui explique la concentration élevée de Na Cl dans leur sueur (**Yahia. M, 2007**)

Ils ont constaté que les résultats du test de la sueur sont identiques quel que soit le génotype des autres mutations CFTR : que l'enfant soit  $\Delta F508$  homozygote ou  $\Delta F508$  hétérozygote, ou non porteur de la mutation  $\Delta F508$ . Les mêmes résultats ont été retrouvés par (**Farrell et al, 1996 ; Wilschanski et al, 1995**).

### **IV .2. Résultats du dosage de la trypsine**

Dans le sérum les valeurs de références chez l'adulte de 140 à 400  $\mu\text{g/l}$  et chez le nouveau-né de 1 à 16 jours, < 1000  $\mu\text{g/l}$  (**Garnotel R, 2006**).



**Figure 16** : Organigramme du dépistage de la mucoviscidose (Radoui,2012)

Si le dosage est trop élevé, un test génétique est effectué pour rechercher des anomalies (mutations) dans le gène CFTR. Si aucune mutation n'est découverte, le test TIR est répété à l'âge de 3 semaines ; si les résultats sont normaux, l'enfant n'est pas malade. Si au contraire des mutations du gène sont retrouvées, et aussi dans les cas où ce dernier dosage de TIR est anormal, les enfants sont dirigés vers le Centre de ressources et de compétences sur la mucoviscidose (CRCM) pour une confirmation ou une infirmation du diagnostic par un test de la sueur (Figure 16).

Le test positif confirme le diagnostic de mucoviscidose, et le bébé sera traité immédiatement. L'enfant n'est pas malade et ne peut pas transmettre la maladie si le test de la sueur est négatif et qu'aucune mutation n'est identifiée. Par contre s'il est négatif mais qu'une mutation génétique est découverte, l'enfant ne sera pas malade, mais le gène muté sera transmis à sa descendance. Les parents se verront ensuite proposer une consultation génétique. (Masson, 2006)

### IV.3. Résultats de (DPN)

Le DDP nasal est une valeur négative exprimée en millivolts (mV) ; chez les patients atteints de CF, le DDP nasal est presque deux fois plus élevé (en valeur absolue) que dans le groupe témoin. D'après une étude faite par Meharzi et ces collaborateurs, chez 50 patients CF d'âge moyen de 10 ans et de 21 sujets témoins d'âge moyen de 8 ans, la DDP nasale est retrouvée chez les patients CF ( $-28 \pm 8$  mV) par rapport au groupe témoin ( $-8 \pm 3$  mV) (Meharzi A et al, 1995).

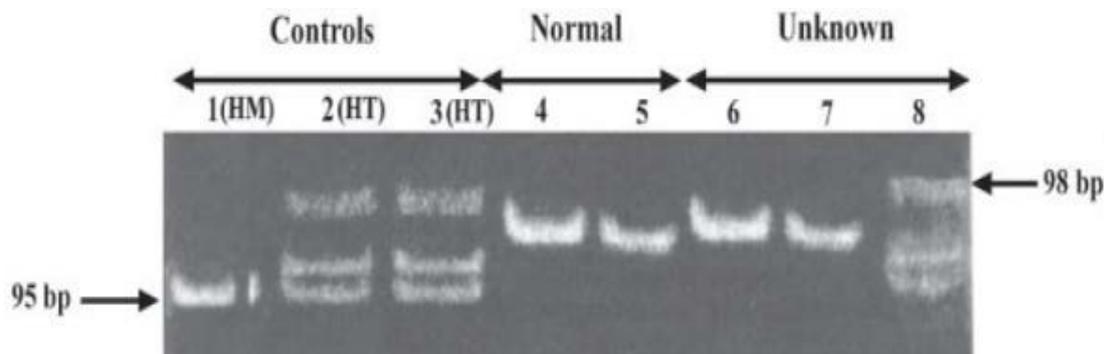
La mesure de la DDP nasale paraît reproductible, aussi bien chez les sujets sains que chez les patients CF, elle constitue une aide au diagnostic de mucoviscidose mais c'est un examen long, délicat et nécessitant un personnel entraîné (Sedrati.KH,2008).

### IV.4. Résultats du diagnostic moléculaire

#### IV .4.1. Résultats de L'analyse des produits PCR de l'exon 10 par électrophorèse en gel de Polyacrylamide

La mutation la plus fréquente de la fibrose kystique,  $\Delta F508$ , est une délétion de trois paires de bases (pb) dans l'exon 10 du gène CFTR, la méthode la plus simple pour la détecter est l'amplification d'un petit fragment de l'exon 10 du gène CFTR, suivie d'une électrophorèse sur gel de Polyacrylamide (PAGE) et la visualisation des produits par coloration à l'éthidium ou d'argent.

Le produit PCR normale de l'exon 10 est de 98 bp. Lorsque la délétion  $\Delta F508$  est présente, le produit PCR est de 95bp (3pb plus court) (Schwarz, 199 ; Kakavas ,K et al,2006 )



**Figure 17 :** Analyse électrophorétique des contrôles, des échantillons de patients normaux et inconnus pour la détection de la mutation  $\Delta F508$  (Kakavas, K et al., 2006).

L'électrophorèse des produits PCR après digestion par des enzymes appropriés permet l'identification des mutations, la détermination de la taille de chaque fragment d'ADN en mesurant leur distance de migration en la comparant à celle de ce marqueur de taille, ainsi que la confirmation de l'état hétérozygote ou l'état homozygote pour la mutation concernée.

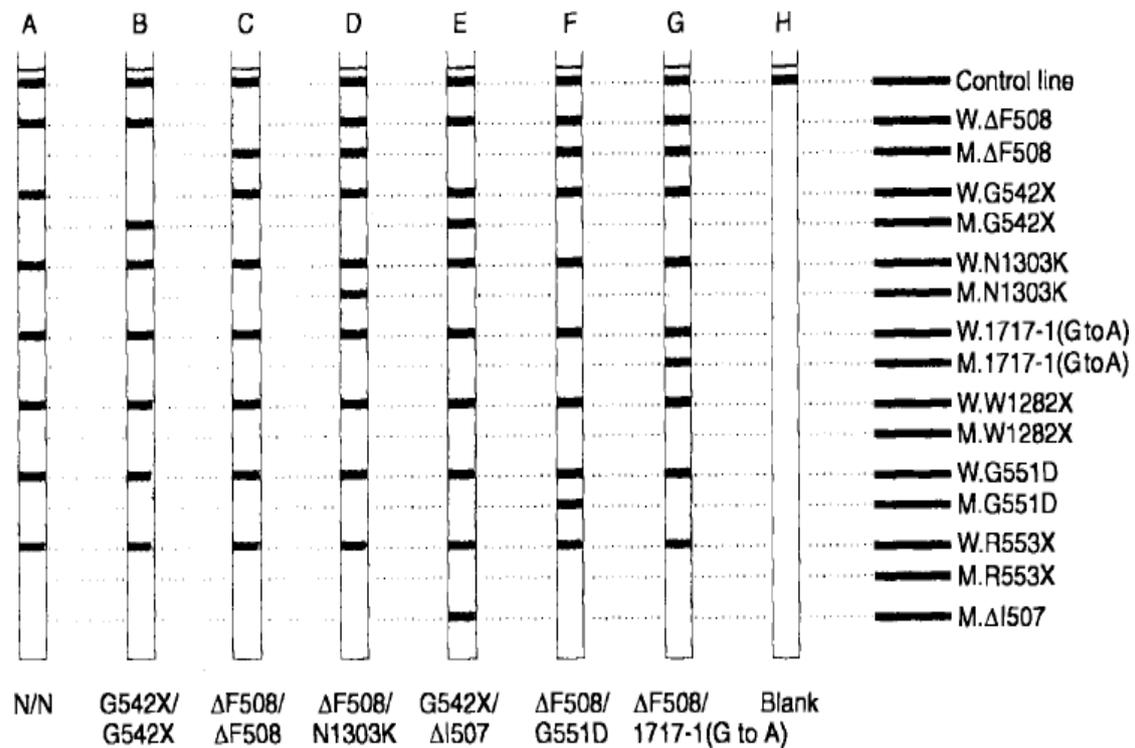
Tous les échantillons (1,2,3,4,5,6,7,8) ont été analysés par PAGE (Polyacrylamide gel électrophorèses). 1 : homozygote  $\Delta F508$  ( $\Delta F508/\Delta F508$ ) ; 2 et 3 hétérozygote  $\Delta F508$  ( $\Delta F508/\text{normal}$ ) ; 4 et 5 normal ; 6,7,8 échantillons de patients inconnus.

Les échantillons 6 et 7 du patient inconnu ne contiennent aucune mutation (normal/normal), tandis que l'échantillon 8 du patient inconnu contient la mutation  $\Delta F508$  ( $\Delta F508/\text{normal}$ ) avec trois bandes ; L'une de ces bandes mesure 98 pb, la deuxième 95 pb et la troisième se situe entre les deux autres. Ces trois bandes sont des produits hétérodimères (HT) de PCR d'allèles normaux et mutés. Les homodimères (HM) sont des produits PCR provenant des mêmes allèles mutés ( $\Delta F508$ ) Présentés par une bande de 95pb.

Ces résultats démontrent que l'analyse PAGE peut être utilisée pour identifier la mutation  $\Delta F508$ .

#### **IV.4.2. Résultats de L'analyse de produits PCR par hybridation avec sondes oligonucléotidiques spécifiques (ASO) ou reverse dot blot**

L'utilisation des multiples oligonucléotides spécifiques d'un allèle (ASO) de type sauvage (Wild) ou des ASO mutés (mutant). Immobilisés sur une petite membrane sur lesquelles le produit PCR marqué à la biotine est hybridé. Cette technique est capable de détecter les mutations suivantes :  $\Delta F508$ , G542X, NI303K, 1717-IWI282X, G551D, R553X et  $\Delta F507$  par l'hybridation du produit de la PCR avec leurs homologues de type sauvage (Wild) ou mutés (Mutant) (Schwarz, 1998 ; Eshaque ,B et Dixon,B ,2006).



**Figure 18** : exemple des résultats obtenus avec la technique du dot blot inversé (Schwarz, 1998).

La figure montre des bandes de membrane qui ont été hybridées avec de l'ADN amplifié. Le génotype de chaque individu peut facilement être lu sur la bande de dot blot inversée (figure 18)

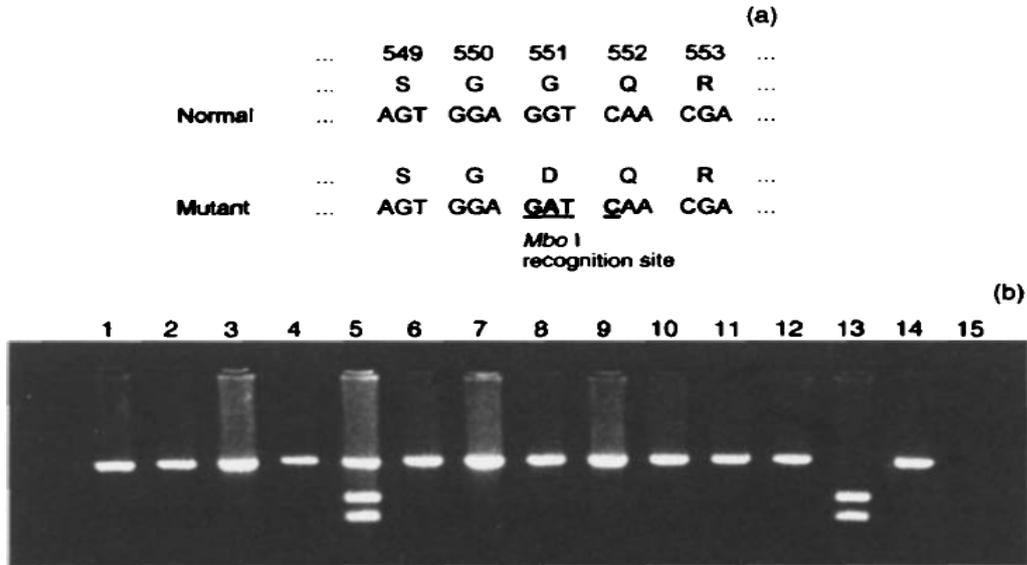
La bande A : est le résultat d'un échantillon négatif pour toutes les mutations du test car seuls les signaux du type sauvage (W) sont présents.

La bande B : L'ADN amplifié provenant d'un individu homozygote G542X s'hybride uniquement avec la sonde mutante G542X et avec la sonde normale de chacune des autres mutations.

La bande C : L'ADN amplifié provenant d'un individu homozygote F508 s'hybride uniquement la sonde mutante F508 et avec la sonde normale de chacune des autres mutations.

Les bandes D E F G (hétérozygotes) : Un signal positif avec une sonde mutante (M) indique la présence d'une mutation.

#### IV.4.3. Résultats de la séparation électrophorétique de produits de PCR après digestion enzymatique



**Figure 19** : détection de la mutation G551D par la digestion enzymatique (Schwarz, 1998)

Un changement de la séquence d'ADN peut détruire ou créer site de restriction, qu'on peut le distinguer de la séquence normale. La mutation G551D crée un site de reconnaissance Mho I site de reconnaissance au niveau du codon 551 (GATC) (figure 19a).

L'électrophorèse sur gel d'agarose des produits de digestion de l'exon 11 par MboI génère un fragment de 425 pb dans le cas normal. Tandis que la digestion du produit mutant donne 2 fragments : 243pb et 182 pb (figure 19b).

L'échantillon 5 provenant d'un individu hétérozygote pour la mutation (G551D/ normal) .il est présenté par trois bandes ; la première correspond à un allèle sain (425 pb), les deux autres bandes est le résultat de la digestion d'un allèle muté (243pb ,182 pb).

L'échantillon 13 provenant d'un individu homozygote (G551D /G551D) présenté par deux bandes le résultat de la digestion des 2 allèles mutés.

Les autres échantillons sont négatifs pour la mutation G551D (Schwarz, 1998).

#### IV.4.4. Résultats de Détection des mutations CFTR par PCR/ARMS dans un échantillon de la population algérienne

Seulement cinq mutations différentes ont été identifiées. Sur les 48 allèles étudiés, les mutations les plus fréquentes étaient : c.1521\_1523delCTT (F508del) 18,75%, c.579+1G>T(711+1G>T) 12,5%, c.1624G>T (G542X) 10,41%, c.3909C>G (N1303K) 4 %, et c.1652G>A (G551D) 2 %. Le kit Elucigene CF30 met en évidence une partie des mutations CFTR dans la population algérienne. Il reste important pour un premier dépistage car il révèle les mutations les plus fréquentes. Toutes ces informations sont intéressantes pour le dépistage et le conseil génétique en Algérie et dans les pays européens où l'immigration maghrébine est importante. (Sediki FZ et al, 2014).

Le choix des méthodes par un laboratoire dépend de leur sensibilité, leur fiabilité et les outils disponibles et maîtrisés. Chaque méthode a ses avantages et ces limites (tableau 2)

**Tableau 2 :** Avantages et limites des méthodes de détection des mutations du gène CFTR (Sedrati ,2008).

Méthodes de détection	Avantages	Limites
La digestion enzymatique (PCR+digestion +gel de contrôle )	simple et rapide	Non spécifique ,( si deux mutations aboutit le même site de coupure par un enzyme de restriction )
Hybridation a des ASO (reverse dot blot )	Rapide ,automatisable Détection de plusieurs mutations a la fois	Mise au point délicate
Ligation d'oligonucléotides (OLA )	Rapide ,détection de plusieurs mutations a la fois	Nécessité de l'utilisation d'un séquenceur d'ADN (couteux)
ARMS	Rapide ,détection de plusieurs mutations a la fois	-Choix critique des Amorces -Résultat fondés sur l'absence de produit PCR -non distinctions des homozygotes et hétérozygotes

# Perspectives et conclusion

❖ Les traitements actuels de la mucoviscidose

La prise en charge thérapeutique actuelle de la MV reste basée sur des traitements respiratoires et nutritionnels dits « symptomatiques » améliorant le profil évolutif de la maladie (annexes). Même s'ils sont contraignants et doivent être poursuivis durant toute la vie du malade, ces traitements ont permis d'allonger l'espérance de vie des patients (**Reix P et al.,2012**).

La prise en charge respiratoire a toujours pour objectif principal de faciliter le drainage des sécrétions bronchiques grâce à la réalisation régulière de séances de kinésithérapie respiratoire (Bellon G,et al 2009) .Les phénomènes infectieux aigus et chroniques sont jugulés, selon le statut microbiologique des patients, par une antibiothérapie curative ou préventive secondaire , La prise en charge nutritionnelle doit avoir pour objectif de limiter le risque de dénutrition dont on connaît l'impact négatif sur l'état respiratoire et la survie des malades (Durupt S, et al.,2015).

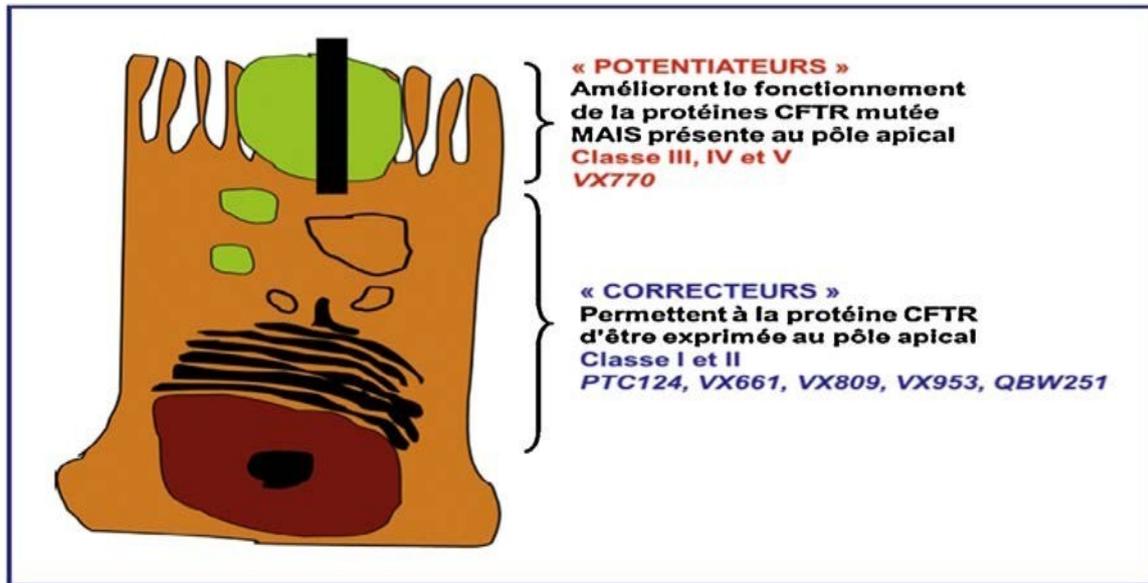
Des nouvelles cibles thérapeutiques sont été découvertes pour corriger le défaut initial de la maladie : le gène défectueux ou la protéine défectueuse elle-même.

La thérapie protéique présente l'intérêt d'agir directement sur le défaut biologique de base lié au dysfonctionnement de CFTR et restaurer ou renforcer la fonction de la protéine grâce à des molécules qui commencent à être disponibles :

1-Molécules correctrices : corrigent les défauts de la protéine CFTR et la rendent disponible dans l'épithélium.

2-Molécules potentiatrices : augmentent la quantité d'activité résiduelle de la protéine (la protéine CFTR est présente dans l'épithélium mais n'a qu'une faible fonction)

Ces traitements (**Annexes**) sont dits « personnalisés » car ils dépendent de la classe de la mutation responsable de la MV (**Durupt S, et al.,2015 ; Hubert D, et al.,2016**)



**Figure 20 :** Mécanismes d'action et exemple de molécules correctrices et potentiatrices  
( Durupt S, et al.,2015)

La thérapie génique consiste à remplacer le gène déficient en introduisant une ou plusieurs copies du gène CFTR sauvage dans le noyau des cellules cibles ( **Fajac et Sermet,2013**). Par l'utilisation d'un vecteur pour comprimer et transporter le gène d'intérêt dans l'intérieur de la cellule cible, où il sera produit pour un bénéfice thérapeutique (annexes)

En effet, bien que le transfert du gène dans des cellules épithéliales respiratoires ait été réalisé avec succès, l'expression de CFTR reste transitoire et des effets secondaires sont engendrés, comme par exemple des problèmes de toxicité et de réactions immunitaires. Ainsi, après toutes ces années de recherche, cette approche qui paraissait prometteuse et avait laissé naître de nombreux espoirs, n'a pas encore répondu aux attentes (Stéphanie.M, 2014).

Autres approches d'édition génomique sont actuellement en cours de perfectionnement, faisant appel à des ciseaux moléculaires.

1-L'ingénierie des nucléases à doigts de zinc (ZFNs) approche a permis une correction ciblée de lamutation $\Delta$ F508 (C.M. Lee et al ,2012)

2-les nucléases de transcription dites TALENs (Transcription Activator-Like Effector Nucléase) (J.K. Joung et al ,2013)

3-Le système CRISPR/Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/Cas9 nucleases) est un nouveau système simple, rapide et efficace pour couper l'ADN à un endroit

spécifique du génome. Il est constitué d'un ARN guide qui cible une séquence d'ADN associé à l'enzyme CAS 9 (un ciseau moléculaire) qui coupe l'ADN. Il Permet une réparation endogène de mutations au niveau du locus CFTR des cellules souches intestinales de patients (Schwank, B et al , 2013)

L'édition du génome dans les iPSCs (cellules souches pluripotentes induites), suivi, d'une culture et d'une différenciation, peut être utilisée pour le développement de la thérapie combinée d'édition du génome et de transplantation cellulaire utilisant les propres cellules du patient CF. Ces approches récentes sont fort intéressantes, mais il reste encore beaucoup de chemin à parcourir pour obtenir des résultats cliniquement significatifs (**Smirnikhina SA et al,2020**)

#### ❖ **Conseil génétique**

Lorsqu'un diagnostic de mucoviscidose est posé, au-delà de la prise en charge de l'enfant, une Prise en charge génétique s'impose pour le couple et ses apparentés un conseil génétique doit être proposer.

Une information complète leur sera donnée sur la maladie elle-même, sur le risque de récurrence à chaque grossesse et une possibilité de diagnostic prénatal, s'ils le souhaitent, leur Sera proposée (**Sediki,2015**).

La mucoviscidose est la maladie autosomique récessive grave la plus fréquente dans la population d'origine caucasienne. Elle est due à des anomalies du gène *CFTR*.

Le diagnostic de la maladie a longtemps reposé sur une combinaison de symptômes cliniques (gastro-intestinaux et/ou respiratoires) et un taux élevé de chlorure dans la sueur. Après le clonage du gène *CFTR* en 1989, l'analyse génétique et la détection des mutations responsables de la fibrose kystique est progressivement devenue un aspect important du diagnostic. L'association du test de la sueur et de l'analyse génétique a simplifié le diagnostic de la maladie dans la plupart des cas.

La mucoviscidose est présente en Algérie mais elle est mal connue où les moyens diagnostiques et l'offre de soins sont considérablement limités et pour améliorer cette situation, la formation médicale doit être poursuivie, L'idée que la maladie est exceptionnelle et inexistante doit être combattue (Radoui ,2012).

Il est indispensable de développer des centres de référence de la mucoviscidose bien répartis dans le territoire et des laboratoires de biologie moléculaire pour l'étude du gène *CFTR* ainsi que l'amélioration d'étude des mutations génétiques in Silico par l'utilisations des outils bioinformatiques .

Enfin créer un registre national de la maladie et des associations de malades en faveur de la lutte contre la Mucoviscidose elles contribueront efficacement à la diffusion de l'information et soutiendront les personnes qui en souffrent.

# **Références bibliographiques**

- [1] ANGELOT., F. Pathologies associées aux mutations et polymorphismes du gène cystic fibrosis transmembrane conductance regulator ou CFTR. Thèse de doctorat : Pharmacie : Université de Franche Comté, 2005, 9p.
- [2] Audousset, C., Prévotat, A., 2019. Cas clinique n° 1 : Prise en charge d'une mucoviscidose : à chaque mutation son traitement ? Revue des Maladies Respiratoires Actualités 11, 3–9. [https://doi.org/10.1016/S1877-1203\(19\)30002-3](https://doi.org/10.1016/S1877-1203(19)30002-3)
- [3] Bachir, S., Aouar, A., & Moussouni, A. (2017). Etude Anthropo-sociologique de la consanguinité dans la population de " Beni Abbés" dans le sud-ouest Algérien. *Antropo*, (37), 69-82.
- [4] Bellon G, Reix P. La mucoviscidose. In: Pneumologie pédiatrique. Paris: Flammarion Médecine-Sciences; 2009. p.270—81.
- [5] Billet Arnaud. Relations structure-fonction du CFTR : étude de l'influence de l'extrémité C-terminale du NBD1 et son environnement moléculaire sur l'adressage, l'activité et la pharmacologie des canaux .2010 thèse de doctorat .Potiers
- [6] Bochud, Murielle, Feliman, f ; Vader , j.-p ; et al .Mucoviscidose : illustration de la complexité de dépistage génétique : Dépistage .Revue médicale suisse ,2010, vol.6 ,no 256,p 1395-1399
- [7] Bobadilla J.L. , M. Macek, J.P. Fine, P.M. Farrell, Cystic fibrosis: a worldwide analysis of CFTR mutations--correlation with incidence data and application to screening, Hum. Mutat. 19 (2002) 575–606. doi:10.1002/humu.10041.
- [8] Boukari, R., 2015. La mucoviscidose: évolution de la prise en charge en Algérie. Archives de Pédiatrie 22, 5–6. [https://doi.org/10.1016/S0929-693X\(15\)30004-X](https://doi.org/10.1016/S0929-693X(15)30004-X)

- [9] Chen L, Patel RP, Teng X, Bosworth CA, Lancaster JR, Jr., Matalon S (2006) Mechanisms of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator activation by S-nitrosoglutathione. *The Journal of biological chemistry* 281: 9190-9199.
- [11] Harris A & Higgins CF. (1991). Immunocytochemical localization of the cystic fibrosis gene product CFTR. *Proc Natl Acad Sci USA* 88, 9262-9266.
- [12] Chinet T, Fajac I, Ferec C, Garcia Carmona T, Nguyen Khoa T, 2000, Diagnostic de la mucoviscidose chez l'adulte, *RevMal Respir*, 17:739-748.
- [13] Chinet, Th.; and Blouquit, S.; (2003). Génétique et biologie cellulaire de la mucoviscidose. *Revue du praticien*. 53 : 130-134.
- [14] Donaldson, S. H. and Boucher, R. C. (2006) 'Physiopathologie de la mucoviscidose', *Annales Nestlé* (Ed. française), 64(3), pp. 101–109. doi: 10.1159/000099043.
- [15] De Boeck, K. (2006) 'Méthodes diagnostiques, caractéristiques cliniques et conseil dans la mucoviscidose', *Annales Nestlé* (Ed. française), 64(3), pp. 119–130. doi: 10.1159/000099045.
- [16] Davis, P.B., M. Drumm, and M.W. Konstan. 1996. Cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 154:1229-1256.
- [17] Durupt S, et al. La mucoviscidose en 2014 : actualités thérapeutiques. *Rev Pneumol Clin* (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.pneumo.2014.11.008>
- [18] ESHAQUE, Bithi et DIXON, Brian. Technology platforms for molecular diagnosis of cystic fibrosis. *Biotechnology advances*, 2006, vol. 24, no 1, p. 86-93.
- [19] Fajac, I. and Sermet-Gaudelus, I. (2013) 'Mucoviscidose : nouvelles thérapeutiques ciblant la protéine CFTR', *Revue des Maladies Respiratoires*, 30(4), pp. 255–261. doi: 10.1016/j.rmr.2012.10.631.

[20] FARHAT., R. Multiples conséquences physiopathologiques de mutations et d'allèles complexes du gène CFTR : l'importance des études génétique, moléculaire, cellulaire & in silico dans la détermination de l'impact de ces variations sur l'épissage et la protéine. Thèse de doctorat : Biologie santé. Université de Poitiers, 2014, 4-26p

[21] Férec, C., 2011. La mucoviscidose : du gène CFTR au conseil génétique 18.

[22] Garnotel R, Jaisson S. Dépistages des maladies métaboliques en pédiatrie. Biotribune 2006 ;18 :36-39

[23] Harris, A. (1992) 'Cystic fibrosis gene', British Medical Bulletin, 48(4), pp. 738–753. doi: 10.1093/oxfordjournals.bmb.a072575.

[24] Henegariu, O., Heerema, N. A., Dlouhy, S. R., Vance, G. H., & Vogt, P. H. (1997). Multiplex PCR: critical parameters and step-by-step protocol. *Biotechniques*, 23(3), 504-511

[25] Hubert D, et al. Nouvelles thérapeutiques de la mucoviscidose ciblant le gène ou la protéine CFTR. Revue des Maladies Respiratoires (2016)<http://dx.doi.org/10.1016/j.rmr.2015.11.010>

[26] Jackson ,A.D et Goss ,C.H.(2017).épidémiologie of CF :how registries can be used to advance our understanding of the CF population .Journal of Cystic fibrosis .17(3),297-305.

[27] Jennifer Bonini. Identification d'éléments régulateurs du gène CFTR et applications pour la mucoviscidose. Génétique humaine. Université Montpellier, 2015. Français. <NNT :2015 MONTT004>

[28] Joung.J.K ,J.D. Sander, TALENs: a widely applicable technology for targeted genome editing,Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 14 (2013) 49–55. doi:10.1038/nrm3486

[29] Julien Micoud. Rôles des interactions interdomaines dans le comportement cellulaire de

La protéine CFTR. Biologie cellulaire. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2008.

Français. tel-00363323

[30] Kahn, A. (1995) 'La mucoviscidose est bien due à l'altération d'un régulateur transmembranaire de la conductance', médecine/sciences, 11(11), p. 1612. doi: 10.4267/10608/2358.

[31] Kakavas, K. V., Noulas, A. V., Kanakis, I., Bonanou, S., & Karamanos, N. K. (2006). Identification of the commonest cystic fibrosis transmembrane regulator gene  $\Delta F508$  mutation: evaluation of PCR–single strand conformational polymorphism and polyacrylamide gel electrophoresis. *Biomedical Chromatography*, 20(10), 1120-1125

[32] Knoop.C, M. Dumonceaux, B. Rondelet, M. Estenne. 2010. Complications de la transplantation pulmonaire : complications médicales. 4(27) : 365-382

[33] La mucoviscidose ; Centres de référence maladies rares et mucoviscidose ; Novembre 2010 page 127.

[34] Lee.C.M, R. Flynn, J.A. Hollywood, M.F. Scallan, P.T. Harrison, Correction of the  $\Delta F508$  Mutation in the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Gene by Zinc-Finger Nuclease Homology-Directed Repair, Bio Research Open Access. 1 (2012) 99–108. doi:10.1089/biores.2012.0218.

[35] Ioumi,O, diagnostic phénotypique, biochimique et moléculaire de la mucoviscidose dans une population algérienne infantile , adulte et azoospermique, thèse de doctorat, Spécialité Génétique, université de science et de technologie « HOUARI BOUMEDIENE », faculté des sciences biologique, Soutenue le 27 /09/ 2006.

[36] Maherzi A, Ategbo S, Pharaon I, Munck A, Cezard JP, Foucaud P, Navarro J, 1995; Différence de potentiel transépithélial nasal dans la mucoviscidose : applications clinique de sa mesure, La Presse médicale, 24: 437-440.

[37] Manus J.-M., 2020. Mucoviscidose : accord pour un accès à un médicament innovant. Revue Francophone des Laboratoires 2020, 7. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(20\)30005-8](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(20)30005-8)

[38] Marie G. Transfert de la pédiatrie à l'adulte de patients atteints de mucoviscidose : le vécu des patients et des équipes au CHU de Nice. Médecine humaine et pathologie. 2013.

[39] Masson, L., (2006) PFH MUCOVISCIDOSE 5.ification of the commonest cystic fibrosis transmembrane regulator gene  $\Delta F508$ .

[40] Mayer Lacrosniere, S., Gerardin, M., Clainche-Viala, L.L., Houdouin, V., 2021. Phenotypic Presentations of Cystic Fibrosis in Children of African Descent. Genes 12, 458. <https://doi.org/10.3390/genes12030458>

[41] Mirtajani, S., Farnia, Poopak, Hassanzad, M., Ghanavi, J., Farnia, Parissa, Velayati, A., 2017. Geographical distribution of cystic fibrosis; The past 70 years of data analyzis. Biomed Biotechnol Res J 1, 105. [https://doi.org/10.4103/bbrj.bbrj\\_81\\_17](https://doi.org/10.4103/bbrj.bbrj_81_17)

[42] Munck.A, M. Roussey, Le dépistage néonatal de la mucoviscidose : stratégie et résultats nationaux, Arch. Pédiatrie. 15 (2008) S1–S6. doi:10.1016/S0929-693X(08)73940-X.

[43] Nawal Belmadi. Développement, formulation et biodistribution de vecteurs synthétiques pour le transfert de gènes dans le cadre de la thérapie génique de la mucoviscidose. Médecine humaine et pathologie. Université de Bretagne occidentale - Brest, 2015. Français.

[44] Naimi, D.; Chabani, MI.; (1997). Recherche des mutations du gène CFTR dans le constantinoisJAM. 2: 94-99.

- [45] Nguyen-Khoa, T. et al. (2012) 'Qualités analytiques des techniques de dosage et comparaison des procédures utilisées pour le test de la sueur', *Ann Biol Clin*, 70, p. 8.
- [46] Ouchtati, A, Dali, H, Le diagnostic de la mucoviscidose à Constantine, mémoire de master, spécialité génétique, Université des Frères Mentouri Constantine, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, département de biologie animal, soutenu le 28/06/2018.
- [47] Prulière-Escabasse, V. (2019). Muqueuse naso-sinusienne et mucoviscidose. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*. doi:10.1016/j.banm.2019.03.005
- [48] Quinton, P.M.; (1999). Physiological basis of cystic fibrosis: a historical perspective. *Physiol Rev*. 79: S23-S45.
- [49] Quinton PM (1994) Viscosity versus composition in airway pathology. *American journal of respiratory and critical care medicine* 149: 6-7
- [50] Radoui, A.K., Boukari, R., Benhalla, N., Smati, L., Nafti, S., Kadache, C., Bensaadi, N., Maouche, H., Bouchene, Z., Bood, B., Dehimi, A., Touhami, T.K., Sifi, K., Bouchair, N., Bouameur, S., Sediki, F., Cabet, F., Bellon, G., 2015. Mucoviscidose, une maladie révélée en Algérie. Retour d'expérience sur la mise en place du diagnostic. 34.
- [51] RADOUI Abdelkarim , LA MUCOVISCIDOSE DE L'ENFANT «Approche épidémiologique et étude clinique dans l'Ouest Algérien», THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES MEDICALES, Spécialité : Pédiatrie, UNIVERSITE D'ORAN, FACULTE DE MEDECINE D'ORAN, DEPARTEMENT DE MEDECINE, soutenue le 17/4/ 2012.
- [52] Reddy M.M., Quinton P.M., Haws C., Wine J.J., Grygorczyk R., Tabcharani J.A., Hanrahan J.W., Gunderson K.L., Kopito R.R. (1996) Failure of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator to conduct ATP. *Science* 271(5257): 1876-1879.
- [53] Reix P, Bréant V, Potie L, Aulagner G. La mucoviscidose. In: *Livre de pharmacie clinique et thérapeutique*. 4<sup>e</sup> éd Elsevier Masson; 2012.

- [54] Ren H.Y, Grove D.E , O. De La Rosa, S.A.Houck , P. Sopha, F. Van Goor, et al., VX-809 corrects folding defects in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator protein through action on membrane-spanning domain 1, *Mol. Biol. Cell.* 24 (2013) 3016–3024. doi:10.1091/mbc.E13-05-0240.
- [55] Romey MC.2006.Caractérisation fonctionnelle de mutants CFTR naturels : intérêt pour la mucoviscidose. *Ann Biol Clin.*64(5) :429-38.
- [56] Roulet, M. F. P. R. I. P. M., Frascarolo, P., Rappaz, I., & Pilet, M. (1997). Essential fatty acid deficiency in well nourished young cystic fibrosis patients. *European journal of pediatrics*, 156(12), 952-956
- [57] Sánchez Bonastre, A. (2009) ‘La reacció en cadena de la polimerasa (PCR)’, *TECA*, (1), pp. 16–19. doi: 10.2436/20.2005.01.29.
- [58] SAUSSEREAU., E. Utilisation des bactériophages comme thérapie lors d’une infection à *Pseudomonas aeruginosa* dans le cadre de la mucoviscidose : efficacité et innocuité. Thèse de doctorat : physiologie et physiopathologie. Université Pierre et Marie Curie, 2012, 29p.
- [59] Schulz S, Jakubiczka S, Kropf S, Nickel I, Muschke P, Kleinsteijn J, *et al.* Increased frequency of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mutations in infertile males. *Fertil Steril* 2006.
- [60] Schwank, B.-K. Koo, V. Sasselli, J.F. Dekkers, I. Heo, T. Demircan, et al., Functional Repair of CFTR by CRISPR/Cas9 in Intestinal Stem Cell Organoids of Cystic Fibrosis Patients, *Cell Stem Cell.* 13 (2013) 653–658. doi:10.1016/j.stem.2013.11.002
- [61] Schwarz, M. J. (1998) ‘DNA Diagnosis of Cystic Fibrosis’, *Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine*, 35(5), pp. 584–610. doi: 10.1177/000456329803500502.

[62] Schwiebert E.M., Benos D.J., Egan M.E., Stutts M.J., Guggino W.B. (1999) CFTR is a conductance regulator as well as a chloride channel. *Physiol. Rev.* 79: S145-S166.92)

[63] Sediki FZ, Radoui A, Cabet F, Zemani-Fodil F, Saidi-Mehtar N, Boudjema A. Detection of CFTR mutations using PCR/ARMS in a sample of Algerian population. *Ann Biol Clin* 2014; 72(5): 549-54 doi:10.1684/abc.2014.0989

[64] SEDRATI Khadidja, Recherche de la mutation  $\Delta F508$  du gène CFTR dans la population de Constantine, Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de Magister, Option : Génétique des Pathologies Humaines, UNIVERSITÉ MENTOURI CONSTANTINE, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Biologie Animale, soutenu le 03/05/2008.

[65] Sermet-Gaudelus I. Ivacaftor treatment in patients with cystic fibrosis and the G551D-CFTR mutation. *Eur Respir Rev* 2013;22:66

[66] Shrimpton, A. E. (2000). R117H and IVS8-5T cystic fibrosis mutation detection by restriction enzyme digestion. *Molecular diagnosis*, 5(3), 235-238.

[67] Shwachmann, HL.; Mahmoodian, A.; and Neff, RK.; (1981)sweat test: sodium and chloride values. *J Pediatr.* 98: 576-8.

[68] Smirnikhina SA, Kondrateva EV, Adilgereeva EP, Anuchina AA, Zaynitdinova MI, Slesarenko YS, et al. (2020) P.F508del editing in cells from cystic fibrosis patients. *PLoS ONE* 15(11): e0242094

[69] Southern KW, Munck A, Pollitt R, Travert G, Zanolla L, DankertRoelse J, et al. A survey of newborn screening for cystic fibrosis in Europe. *J Cyst Fibros* 2007;6:57-65.

- [70] Stéphanie Moisan. Étude des mécanismes de régulation à distance du gène CFTR. Médecine humaine et pathologie. Université de Bretagne occidentale - Brest, 2014. Français.
- [71] Storni, V., Claustres, M., Chinet, T., Ravilly, S., 2001. Diagnostic de la mucoviscidose. Archives de Pédiatrie 8, 818–832. [https://doi.org/10.1016/S0929-693X\(01\)80003-8](https://doi.org/10.1016/S0929-693X(01)80003-8).
- [72] Sylvain Chauvet. Les protéines G<sub>12</sub> et G<sub>13</sub> dans la mucoviscidose : Rôle dans la dégradation de la protéine CFTR mutée F508del et dans le contrôle des jonctions intercellulaires. Sciences agricoles. Université de Grenoble, 2011. Français.
- [73] Thouvenin, G., Ruffin, M., Corvol, H., 2021. Mucoviscidose : un second souffle. Perfectionnement en Pédiatrie 4, 5–9.
- [74] Turnbull, E.L., Rosser, M.F. & Cyr, D.M. The role of the UPS in cystic fibrosis. BMC Biochem 8, S11 (2007). <https://doi.org/10.1186/1471-2091-8-S1-S11>
- [75] Van Goor F, Yu H, Burton B, et al. Effect of ivacaftor on CFTR forms with missense mutations associated with defects in protein processing or function. J Cyst Fibros 2014;13:29—36.
- [76] Vastag B, 2003, Cystic fibrosis gene testing a challenge, JAMA, 289: 2923-2924 [76] Welsh, M.; and Smith, A.; (1996). "La mucoviscidose" Pour la science. 220 : 66-74
- [77] Welsh, M.; and Smith, A.; (1996). "La mucoviscidose" Pour la science. 220 : 66-74

---

[78] Wilschanski, M.; Zielenski, J.; Markiewicz, D.; Tsui, LC.; Corey, M.; Levison, H.; et al.,(1995).Correlation of sweat chlorid concentration with classes of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mutations J Pediatr. 127: 705-10.

[79] World Health Organization. The molecular genetic epidemiology of cystic fibrosis, 2002.

[80] YAHIA Mouloud, diagnostic, physiopathologie et génétique de la mucoviscidose dans la population de l'est et sud algérien gène CFTR et l'absence bilatérale des canaux déférents (ABCD), thèse de doctorat,option biologie moléculaire, université Mentouri Constantine, faculté des sciences de la nature et de la vie, Soutenue le :26/02/2007.

**Sites web :**

<http://www.orpha.net/orphaschool/formations/transmission/Ressources/2-AR/AR0.png>

<http://www.genet.sickkids.on.ca>

<https://slideplayer.fr/slide/10522829/>

# **Les annexes**

**Annexe I:** Principaux traitements symptomatiques actuels de la mucoviscidose ( **Durupt S, et al.,2015**)

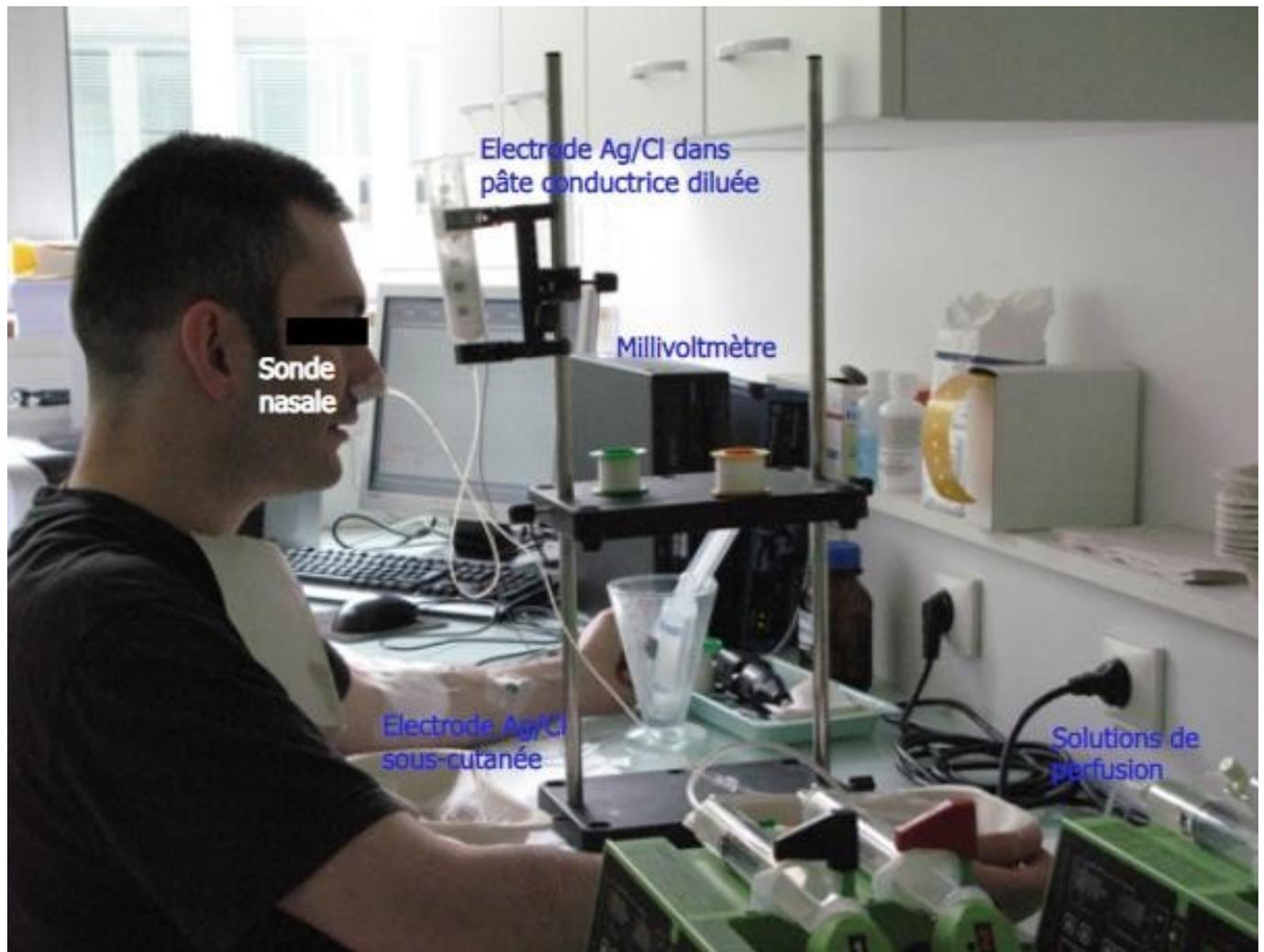
À visée respiratoire	À visée nutritionnelle
Kinésithérapie de drainage systématique	Opothérapie pancréatique
Pulmozyme® (RhDNase; aérosol quotidien)	Vitamines A, D, E, K
Sérum salé hypertonique 6 ou 7% (aérosol)	Compléments nutritionnels <sup>a</sup>
Bronchodilatateurs	
Antibiotiques inhalés (tobramycine, colimycine) <sup>a</sup>	
Azithromycine (à visée immunomodulatrice) <sup>a</sup>	

**Annexe II:** Matériel non biologique utilisé

Matériels	Les Solutions
- Ampèremètre d'ionisation	- Acide sulfurique
- Compresse	- Sulfate de pilocarpine
- Papier filtre	- L'eau distillée
- Pince	
- Micro-lance	
- Papier buvard	

**Annexe III** : la mesure de la différence de potentiel nasal (DPN)

(<https://slideplayer.fr/slide/10522829/>)



**Annexe IV** : Les modulateurs de CFTR selon la classe de mutation (la thérapie protéique )  
(Audousset et Prévotat., 2019).

Classe de mutations	Classe I	Classe II	Classe III	classe IV	Classe V	Classe VI
Exemple de mutation	W1282X G542X	F508del N1303K	G551D G1349D	R117H R334W	A455E	N287Y
Fonction CFTR	Non	Faible	Faible	Partielle	Bonne	Bonne
Traitement	Potentiateur	Combinaison correcteur et potentiateur	Potentiateur	Combinaison correcteurs et Potentiateur	Molécules Amplifiers	Molécules Amplifiers
	<b>Ataluren®</b>	Lumacaftor/ ivacaftor/ <b>Orkambi®</b>	Ivacaftor/ <b>Kalydéco®</b>		Stabiliseurs	Stabiliseurs

L'objectif des molécules amplifiées est d'améliorer la traduction de l'ARNm et d'augmenter ainsi la quantité de protéines CFTR.

**Annexe V** : Schéma illustre simplement le principe de la thérapie génique qui intègre à l'organisme le gène non-muté de la protéine (Ouchtati.A,2018).

