

## DIAGNOSTIC PHYSIOPATHOLOGIE ET GENETIQUE DE LA MUCOVISCIDOSE DANS UNE POPULATION INFANTILE DE L'EST ET DU SUD ALGERIEN

Reçu le 17/10/2007 – Accepté le 11/10/2009

### Résumé

Afin d'effectuer un diagnostic phénotypique et génotypique de la mucoviscidose chez une partie de la population algérienne, notre étude a été réalisée sur 16 enfants avec des symptômes évocateurs de la mucoviscidose chez lesquels le contexte clinique a été confirmé par un test de la sueur. Cependant, les anomalies du gène CFTR ont été déterminées par électrophorèse en gel de polyacrylamide (10%) des produits PCR (Polymerase Chain Reaction), après digestion enzymatique, puis visualisation aux ultraviolets (UV) après action du bromure d'éthidium.

Toutes les mutations détectées lors de notre étude ont déjà été identifiées chez des patients atteints par cette pathologie dans les pays du pourtour du bassin méditerranéen. Toutefois, le nombre important de mutations trouvé par rapport à celui des patients étudiés témoigne que l'origine de cette grande variabilité clinique qui caractérise la maladie est la conséquence d'une grande diversité des défauts moléculaires du gène CFTR.

**Mots clés:** Fibrose cystique, mucoviscidose, mutations CFTR, diagnostic génétique du CF, symptômes cliniques.

### Abstract

In order to do a phenotypical and genotypical diagnosis at a part of the Algerian population, our survey has been carried on 16 patients with evocative symptoms of the cystic fibrosis at that the clinical context has been confirmed by a sweat test. However, anomalies of the CFTR gene have been determined by electrophoresis in gel of polyacrylamide of the PCR products (Polymérase chain reaction), after enzymatic digestion, then visualized to the ultraviolet (UV) after action of the ethidium bromide.

All mutations detected at the time of our survey have already been identified at patients attained by this pathology in other populations of the world. However, the important number of found mutation with regard to the one of the studied patients testifies that the origin of this big clinical variability that characterizes the illness in the consequence of an enormous diversity of molecular defects of the CFTR gene.

**Keywords:** Cystic Fibrosis (CF), mutations CFTR, genetic diagnosis of Cystic Fibrosis, clinical symptoms

M. YAHIA<sup>1</sup>  
D. NAIMI<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Biologie et Physiologie Cellulaire et Moléculaire, Département de Biologie, Université de Batna. Algérie.

<sup>2</sup> Laboratoire de Biologie et Physiologie Cellulaire et Moléculaire, Département de Biologie, Université Mentouri Constantine. Algérie.

ملخص

: ( )  
(PCR)

.(CFTR)

16  
CFTR

La mucoviscidose est la maladie génétique létale la plus fréquente des maladies héréditaires chez les sujets d'origine européenne, de transmission autosomique récessive. Sa fréquence varie selon l'origine géographique et ethnique des patients, elle serait en Europe de l'ordre de 1 sur 3000 à 5000 naissances, plus faible dans les populations noires, asiatiques et arabes [19]. Son incidence exacte en Algérie est inconnue en raison d'un manque d'études. Elle affecte la plupart des organes comportant un tissu épithélial, siège de transport hydro électrolytique transépithélial, notamment les voies aériennes, le pancréas, les voies biliaires, l'intestin, les glandes sudoripares et le tractus génital [12].

Le gène dont les anomalies sont responsables de la mucoviscidose code pour une protéine canal Cl<sup>-</sup> dénommée CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) qui exerce de multiples fonctions dans la cellule, l'une des plus importantes est le contrôle des transports de sodium et de chlore à travers les épithéliums de divers organes en particulier le poumon [28]. Cette fonction défectueuse se traduit d'une part par une production de sécrétions anormalement visqueuses qui obstruent les canaux excréteurs de ces organes cibles ; une dilatation, une inflammation et une atrophie sont alors observées. D'autre part, elle se traduit également par une augmentation de la concentration en sodium et en chlore dans la sueur, à la base du test de la sueur.

Le peu d'intérêt porté à l'étude de la mucoviscidose et des diverses mutations de son gène en Afrique du Nord, particulièrement en Algérie, nous a poussé à orienter notre étude sur le diagnostic phénotypique et génotypique de la maladie chez une partie de la population algérienne.

## MATERIEL ET METHODES

### Patients

Notre étude a été réalisée sur 16 patients dont l'âge varie de 7 mois à 9 ans, et qui présentent des symptômes évocateurs de la mucoviscidose (Tableau 1). Le contexte clinique de la maladie a été confirmé chez ces derniers par un test de la sueur.

### Techniques

#### Test de la sueur

Consiste à mesurer la concentration du chlorure dans la sueur, il se décompose en trois étapes [34]:

- **Stimulation de la sueur** : la pilocarpine, molécule cationique douée de propriétés cholinergiques est transportée au niveau des glandes sudoripares par ionisation transcutanée. A l'aide d'un ampèremètre à ionisation muni de deux électrodes, le courant est appliqué sur l'avant bras (2 à 5 mA) pendant 5 minutes. La jonction électrique est réalisée par des compresses imbibées d'une solution de pilocarpine

à 0.064% sous l'anode (fil et pole de couleur rouge), et de sulfate de potassium 1% sous la cathode (fil et pole de couleur noir). La peau est ensuite lavée à l'eau distillée et séchée.

- **Recueil de la sueur** : un papier filtre préalablement pesé est posé sur la surface stimulée, recouvert d'un film plastique collé hermétiquement à la peau pour éviter tout risque d'évaporation. Après 30 à 60 mn de sudation, le papier filtre est retiré à l'aide d'une pince, et immédiatement repesé, puis est placé dans un récipient clos. Le test exige au moins 150 mg de sueur.
- **Dosage des ions chlorures dans la sueur** : pour le dosage de ces ions, nous avons utilisé la méthode de Schales [31] ; le papier filtre imbibé de sueur, est plongé dans 5ml d'eau distillée. Après extraction (5 à 10 mn), la solution est titrée avec du nitrate mercurique 0.01N en milieu acide nitrique et en présence de diphénylcarbazone comme indicateur coloré. Le virage est marqué par l'apparition d'une coloration violette stable.

**Tableau 1 :** Origine, âge, sexe et symptômes cliniques des patients recrutés

P	Origine	CS <sup>1</sup>	Age <sup>2</sup>	Sexe	Symptômes cliniques
P	Menaâ	Oui	1A	F	OIR,APS,IPE,RC
P	Ain Touta	Oui	9M	F	APM, IPE
P	Ain Azel	Non	4A	F	APM, IPE
P	El-Kala	Oui	2A	M	APM,OIR,IPE
P	Sidi-Okba	Non	2A	M	OIR, IPE
P	Mzad chiche	Oui	6A	M	APS,IPE,RC
P	El-Oued	Non	7M	M	APM, IPE
P	Djamaa	Oui	8A	F	APM,IPE,OIR
P	Djamaa	Oui	5A	M	APM,IPE
P	Souk-Naaman	Oui	1A	M	APS, IPE,RC
P	Tebessa	Oui	6A	F	APM, IPE
P	Ouargla	Non	4A	F	IPE , DT
P	Chechar	Non	9A	F	OIR,APS,IPE
P	Guelma	Non	18M	M	OIR, IPE, RC
P	Chir	Oui	3A	M	IPE,OIR,APS,RC
P	Deraan	Non	2A	M	APM

1 : consanguinité, 2 : A=Ans, M=Mois

P: patient, OIR : obstructions intestinales répétées, APS : atteinte pulmonaire sévère, IPE : insuffisance pancréatique exocrine, RC : retard de croissance, APM : atteinte pulmonaire modérée, DT : diabète, NF : non fait

### Protocole d'analyse génétique des mutations CFTR

Pour la réalisation de cette étude, nous avons effectué une extraction d'ADN à partir d'environ 5ml de sang à l'aide du kit d'extraction Nucleon BACC3 commercialisé par amersham life science selon la méthode de Miller [24], qui consiste à la lyse des globules par le réactif A du kit puis destruction des membranes des globules blancs par le détergent (SDS) contenue dans le réactif B du kit suivie d'une déprotéinisation à l'aide de perchlorate de sodium, d'une extraction d'ADN par un traitement au chloroforme. Après centrifugation, l'ADN est piégé dans la phase aqueuse supérieure puis précipité dans l'éthanol absolu froid et solubilisé dans un tampon tris 10Mm à pH 8.5, puis cet ADN est amplifié par la technique de PCR dont les conditions ont été décrites par [16]et [8]. 10 à 15 µl de

DNA pur sont ajoutés au tampon PCR contenant les amorces, les nucléotides, MgCl<sub>2</sub>, la Taq polymérase et enfin trois à cinq gouttes de paraffine sont ajoutées dans les tubes afin d'éviter l'évaporation. Les tubes sont placés dans le thermocycler et les réactions en chaîne, ont été programmées durant 28 cycles à 94°C pendant une minute (pour dénaturation) puis à 62°C pendant 45 mn (pour hybridation) et enfin à 72°C (pour élongation). Les produits PCR sont ensuite séparés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide 10% après digestion enzymatique [22] puis visualisés aux UV après coloration au bromure d'éthidium [7].

## RESULTATS ET DISCUSSION

**Tableau 2:** Phénotypes et génotypes de 16 patients mucoviscidosiques de l'Est et Sud Algérien

Le test de la sueur positif chez nos patients est lié à un défaut de transport transépithélial de chlore. Dans les glandes sudoripares du sujet non mucoviscidosique, la sueur élaborée par les cellules glandulaires est presque isotonique, elle emprunte ensuite des canaux sudoripares avant d'être excrétée, les cellules épithéliales canalairees forment une couche confluyente imperméable à l'eau qui absorbe activement le Na<sup>+</sup> par les 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

P	Test de sueur mEq/l	Mutations CFTR
P01	95, 100	ΔF508/ ΔF508
P02	80, 110	Δ F508/S549N
P03	65,90,90	ΔF508/W1282X
P04	92, 95	W1292X/W1292X
P05	72 , 80	R334W/ R347H
P06	100-129	ΔF508/ ΔF508
P07	86,86,92	N1303K/ R553X
P08	109 ,89, 93	ΔF508/ N1303K
P09	87,107	ΔF508/ N1303K
P10	172, 192	ΔF508/ ΔF508
P11	80,115	G542X/ G542X
P12	65,104	G85E/Y122X
P13	70,80	ΔF508/ΔF508
P14	80,100	W1282X/W1282X
P15	NF	ΔF508/ ΔF508
P16	89 ,100	ΔF508/ G542X

électrolytes dans l'organisme [29].

Chez nos patients dont le test de la sueur est positif (Tableau 2), l'absorption de chlore dans les canaux excréteurs n'est plus possible, la couche épithéliale étant imperméable au chlore du fait de l'absence ou d'un fonctionnement réduit 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 [11].

Nous avons constaté que nos résultats du test de la sueur sont identiques quel que soit le génotype des autres mutations CFTR, que l'enfant soit ΔF 508 homozygote ΔF 508 hétérozygote ou non porteur de la mutation ΔF 508. Les résultats sont en accord avec ceux de plusieurs auteurs [17] ; [33]. Notre étude nous a révélé également que le test de la sueur ne permet pas d'identifier les hétérozygotes [23].

L'analyse de 32 chromosomes CF provenant de ces patients a montré que la mutation ΔF508 est la plus fréquente : 10/16 (62,5%). Cette fréquence est située entre deux extrêmes, la plus élevée au Danemark (87,2%) et la plus basse en Turquie (21,3%) [15].

Un taux de 31,25% (soit 5/16) des patients sont hétérozygotes composites avec ΔF508 sur un allèle et une autre mutation du gène CFTR sur l'autre chromosome, 5/16 (31,25%) sont homozygotes pour la mutation ΔF508, 3/16 (18,75%) ont la mutation N1303K, 2/16 (12, 5%) portent la mutation W1282X, 2/16 (12,5%) ont la mutation G542X.

Les autres mutations (G85E, Y122X, R553X, R334W, R347H et S549N) sont détectées seulement chez un seul patient.

Nous avons constaté qu'à l'état homozygote, la mutation ΔF508 est associée à la forme classique de la maladie, avec une augmentation des électrolytes dans leur sueur, une insuffisance pancréatique exocrine et une atteinte obstructive des poumons, le plus souvent, sévère chez l'ensemble des malades et même avec des occlusions intestinales répétées chez deux patients ayant ce même génotype. Ceci confirme qu'un même génotype ne peut pas exprimer toujours le même phénotype [37].

Chez le reste des homozygotes porteurs des autres mutations (W1282X/W1282X , G542X/G542X, W1292X/W1292X), ainsi que chez les hétérozygotes composites porteurs d'une ou deux mutations légères comme : (ΔF508/S549N, ΔF508/W1282X, R334W/R347H, G85E/Y122X et autres), nous avons constaté qu'en dépit d'un test de sueur pathologique, la majorité des malades présentent une atteinte pulmonaire modérée associée à une insuffisance pancréatique à l'exception du cas (P 16) dont la fonction pancréatique est préservée. Ceci suggère le caractère dominant des mutations dites légères ou peu sévères.

Sur le plan physiopathologique, la mutation ΔF508 est considérée comme la plus sévère, car la protéine CFTR demeure dans le cytoplasme, et n'est pas exprimée dans la membrane apicale. La forme normale de cette protéine est reconnue par deux molécules chaperons Hsp 70 et calnexine, qui forment ensemble des complexes au cours de la maturation, puis s'endissocient. Par contre les complexes formés avec la protéine CFTR ΔF508 ne se dissocient pas et la protéine mutée restant principalement au niveau du réticulum endoplasmique [30]. De plus, la protéine CFTR ΔF508 est moins stable que la protéine normale et les faibles quantités de ce mutant exprimé dans les membranes cellulaires des organes cibles ont une durée de vie plus courte. Ceci induit soit un dysfonctionnement total, soit un fonctionnement très réduit qui se répercute sur la

circulation du chlore à travers les parois des cellules endothéliales de certaines glandes exocrines. La circulation de chlore amoindrie provoque l'épaississement du mucus et l'accumulation de sécrétions visqueuses associées avec l'obstruction progressive et la destruction subséquente des conduits excréteurs.

Le lien physiopathologique entre cette forme de mutation et ces atteintes sévères est très polymorphe :

Concernant l'atteinte pulmonaire, l'élément central est le liquide de surface bronchique qui recouvre l'épithélium de surface des voies aériennes, et comme la protéine CFTR contrôle les transports ioniques trans-épithéliaux, elle donc participe à la régulation de l'hydratation de ce liquide bronchique [3]. Les cellules de l'épithélium de surface des voies aériennes humaines normales sont équipées à la fois pour une absorption active de sodium et pour une sécrétion active de chlore. L'importance relative de ces deux mouvements conditionne le flux net hydro électrolytique et permet de réguler finement le volume de la couche liquidienne de surface [3]; [9]; [10]. Le canal CFTR intervient dans la régulation de ces transports ioniques à différents niveaux : c'est d'abord un canal chlore activable par l'AMPc. De plus, CFTR permet l'activation par l'AMPc du canal ORCC (Outwardly Rectifying chloride channel) et exerce une inhibition tonique sur le canal ENaC [3].

Dans les voies aériennes de nos sujets mucoviscidosiques, il y a une hyper absorption de sodium et un défaut de sécrétion de chlore qui se traduit par une augmentation de l'absorption de sel et donc d'eau. L'hyper absorption de sodium résulte de la levée de l'inhibition tonique qu'exerce CFTR sur les canaux ENaC. L'hyper absorption de sel est d'autant plus marquée que la sécrétion active de chlore est défectueuse et ne peut être stimulée par les agents qui augmentent la concentration intracellulaire d'AMPc. Cela résulte de l'absence ou des dysfonctionnements des canaux Cl/CFTR et des perturbations de la régulation des canaux Cl ORCC. L'hyper absorption de sel et d'eau entraîne donc une déshydratation du liquide de surface bronchique, modifiant les propriétés rhéologiques de ce liquide et altérant la clairance mucociliaire [2]; [3]; [9]; [10]. Cela a pour conséquence la survenue d'infections broncho-pulmonaires répétées et la présence d'une réaction inflammatoire locale intense et délétère. La susceptibilité des voies aériennes mucoviscidosiques aux infections à *Pseudomonas aeruginosa* est très particulière [12] car environ 75 % des sujets malades sont infectés par ce germe. Plusieurs hypothèses sont avancées pour expliquer la colonisation des conduits respiratoires par ce type de bactéries :

- L'épithélium des voies aériennes mucoviscidosiques est en permanence lésé par un état infectieux, d'où

des processus de réparation au cours desquels les cellules épithéliales passent par des phases de différenciation, de migration et de prolifération, alors que ce germe se fixe préférentiellement sur les cellules en cours de réparation par rapport aux cellules normales [13]; [27].

- D'autres travaux suggèrent, à l'inverse, que cette bactérie se lierait à CFTR sur les cellules épithéliales bronchiques normales, ce qui permettrait l'internalisation du germe et sa destruction avec la cellule épithéliale. Ce système d'élimination serait à l'évidence perturbé dans la mucoviscidose correctement localisée, d'où la persistance de ce germe dans les voies aériennes mucoviscidosiques [25].

- Une autre hypothèse considère que *P. aeruginosa* ainsi que d'autres germes pourraient adhérer préférentiellement aux mucines des sujets mucoviscidosiques. En effet, la composition biochimique des mucines bronchiques pourrait être constitutionnellement altérée dans la mucoviscidose avec notamment une augmentation des résidus sulfates [6]; [36]. CFTR pourrait indirectement contrôler ce phénomène en régulant le pH dans les citernes de l'appareil de Golgi ; il en résulterait dans la mucoviscidose une alcalinisation diminuant l'activité d'enzymes pH-dépendantes, comme les sialyltransférases rendant accessibles un plus grand nombre de sites sur les glycoprotéines muciniques pour la sulfatation [36]; [10]. Les infections broncho-pulmonaires répétées et la colonisation des voies aériennes par *P. aeruginosa* sont délétères pour la fonction respiratoire ; elles entraînent une inflammation locale intense avec libération de cytokines, afflux de polynucléaires activés et relargage d'enzymes destructrices telles que l'élastase neutrophile. Cette enzyme protéolytique est en effet capable de léser les cellules épithéliales bronchiques, de cliver les principaux constituants de la matrice extracellulaire, d'altérer la clairance mucociliaire [20]. En outre, les facteurs de virulence sécrétés par *P. aeruginosa* peuvent eux mêmes léser les cellules épithéliales bronchiques, stimuler la sécrétion de mucines, et favoriser la réaction inflammatoire participant ainsi à la destruction cellulaire [5]; [14].

Outre l'inflammation secondaire aux infections microbiennes et à la colonisation des voies aériennes par le germe en question, il pourrait exister une inflammation constitutionnelle indépendante des infections broncho-pulmonaires. Une étude a retrouvé une augmentation du nombre des polynucléaires neutrophiles et de la concentration d'interleukine (IL-8) dans le liquide de lavage bronchaloéolaire d'enfants mucoviscidosiques de 1 à 12 mois même indemnes d'infection broncho-pulmonaire, ce qui suggère l'existence d'une inflammation primitive [21].

D'autres travaux ont montré que les cellules épithéliales des voies aériennes des sujets atteints de mucoviscidose secrètent plus d'IL-8 (pro-inflammatoire) et moins d'IL-10 (anti-inflammatoire) que les cellules de sujets indemnes [4] ; [35].

L'inflammation, qu'elle soit secondaire aux infections ou primitive, joue un rôle central dans les manifestations de la

maladie. Les tissus pulmonaires sont en effet détruits par les infections et par certains produits de l'inflammation avec formation de bronchectasies, puis à un stade ultime, insuffisance respiratoire et décès.

Concernant la physiopathologie de l'insuffisance pancréatique de la mucoviscidose : cette anomalie a été constatée au niveau de la sécrétion canalaire et la sécrétion acineuse. Les sécrétions ductulaires pancréatiques sont des sécrétions hydroélectrolytiques riches en ion bicarbonate.

En fait, le transfert basolatéral de cet ion se fait par l'intermédiaire d'un cotransporteur  $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$  stimulé par l'AMPc sous l'influence d'un gradient électrogénique créée par la dépolarisation membranaire due à CFTR suite à l'excrétion de l'ion  $\text{Cl}^-$ , tandis que sa sortie au niveau du pôle apical se fait par un autre cotransporteur qui est  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ .

Dans la mucoviscidose, l'absence d'activité CFTR entraîne un défaut de dépolarisation de la membrane et donc d'entrée de bicarbonate dans la cellule. Il en résulte un défaut de sécrétion de bicarbonate [32].

Pour l'anomalie de la sécrétion acineuse, il est bien établi qu'après leur synthèse, les enzymes pancréatiques sont véhiculées à travers la cellule acineuse dans les grains de zymogène puis excrétées par un mécanisme d'exocytose. Les membranes des grains de zymogène sont ensuite recyclées par endocytose. Ce phénomène, et non l'exocytose est dépendant du pH alcalin qui règne dans la lumière acineuse grâce à la sécrétion de bicarbonate des cellules ductulaires et peut être également des cellules acineuses les plus proches du ductule.

Dans la mucoviscidose, le défaut de sécrétion de bicarbonate aboutit à une acidification du milieu. L'endocytose des membranes est altérée et il en résulte une accumulation de matériel membranaire au pôle apical des cellules sécrétrices et une dilatation de la lumière acineuse. L'environnement alcalin est également indispensable à la solubilisation des protéines déversées lors de l'exocytose. Il existe donc une corrélation entre le pH luminal et la capacité sécrétoire des cellules acineuses [18].

Selon certains, les hétérozygotes composites sont protégés contre la déperdition hydrique et saline au cours des diarrhées dues à des entérotoxines d'*Escherichia coli* et du *Vibrio cholerae*, ces souches ont en commun la production de toxines qui augmentent la concentration d'AMPc ou de GMPc dans les entérocytes et entraînent une augmentation de la sécrétion de chlorure [1]. Si on admet que les hétérozygotes ont 50% d'activité de la protéine CFTR, leur sécrétion de chlorure en réponse aux toxines bactériennes, sera moins élevée, d'où une déperdition hydrique moins importante et la survie prolongée. Il a été suggéré récemment que la première boucle

extracellulaire de CFTR est nécessaire à l'internalisation de *Salmonella typhi* dans les cellules épithéliales intestinales [26]. La protéine  $\Delta\text{F508}$ , associée à une diminution de l'expression de CFTR à la surface des épithéliums, diminuerait l'entrée du pathogène dans l'épithélium intestinal assurant une protection vis à vis de l'infection, ceci peut être considéré comme l'un des mécanismes de sélection des hétérozygotes.

## CONCLUSION

La mucoviscidose survient chez des individus ayant hérité de deux gènes CFTR mutés. L'absence, l'insuffisance ou le dysfonctionnement de la protéine CFTR altèrent la perméabilité au chlore et au sodium de la membrane des cellules épithéliales, entraînent aussi les perturbations hydro électrolytiques à l'origine de l'hyperviscosité des sécrétions muqueuses.

En dépit des progrès immenses obtenus dans la compréhension dans la physiopathologie de la mucoviscidose, de nombreux mécanismes demeurent obscures. Le diagnostic phénotypique est suggéré par des symptômes cliniques évocateurs et confirmé par un taux élevé de chlore dans la sueur des malades présentant les formes classiques de la maladie. Cependant, la détection des formes frontières de cette pathologie telle que l'atrésie bilatérale des canaux déférents est basée sur l'établissement de plusieurs examens cliniques tels que l'analyse biologique et biochimique du liquide séminal et une observation échographique de l'appareil urogénital des hommes consultant pour stérilité et n'ayant aucun signe apparent de mucoviscidose.

Le diagnostic génotypique repose sur la recherche des mutations dans le gène. Dans notre étude, nous n'avons recherché que des mutations fréquentes dans la zone méditerranéenne qui sont facilement analysables et d'un coût modeste.

Les résultats obtenus confirment que la mucoviscidose est présente au sein de la population algérienne, et illustrent bien comment la combinaison des diverses mutations de ce gène peut conduire à une variation dans le spectre des phénotypes observés chez notre population, d'où l'importance de l'instauration du test à la sueur dans nos hôpitaux pour la confirmation de cette pathologie. Ceci permettrait une mise au point de nouvelles approches thérapeutiques bénéfiques pour les malades car, lors de nos enquêtes, nous avons constaté que beaucoup de malades mucoviscidosiques sont traités comme des asthmatiques en raison de l'absence de diagnostic fiable de cette pathologie héréditaire.

L'étude du spectre de distribution des mutations du gène CFTR sur l'ensemble du territoire algérien est donc indispensable, traduisant une connaissance des familles informatives et l'élaboration de test prénatal, ainsi que l'incidence des hétérozygotes et homozygotes par le biais d'une analyse génétique. Les résultats de l'analyse génétique permettront l'orientation des familles à risque et l'établissement d'un véritable conseil génétique par l'élaboration des programmes d'éducation afin de faire comprendre aux personnes la nature du risque de transmission de mucoviscidose.

Notre travail ne représente qu'une approche sur l'étude des mutations du gène CFTR en Algérie. Beaucoup d'autres mutations restent à rechercher et qui seraient probablement spécifiques à l'Algérie.

De très grandes perspectives, restent à concrétiser par des études plus vastes et plus approfondies.

Le suivi des patients dans des centres de soins spécialisées, l'intensification de la kinésithérapie respiratoire, le développement de l'antibiothérapie antipycocyanique et la prise en charge nutritionnelle, permettront aux jeunes patients de plus d'atteindre l'âge adulte tout en bénéficiant d'une meilleure qualité de vie.

Cependant, en l'absence de traitement curatif, la transplantation pulmonaire est l'ultime recours devant l'insuffisance respiratoire grave. Le développement des recherches dans les domaines de la thérapie génique ou du traitement pharmacologique de la protéine CFTR font espérer des traitements prometteurs.

## REFERENCES

- [1]-Baxter P., Goldhill J., Hardcastle J., Hardcastle P.T., & Taylor C.J. Accounting for cystic fibrosis. *Nature*, (1988), pp. 335 : 211.
- [2]-Boucher R.C. Molecular insights into the physiology of the "thin film" of airway surface liquid. *J Physiol.*, **516**, (1999), pp. 631-8.
- [3]-Boucher R.C. Human airway ion transport. *Am J Respir Crit Care Med.*, **150**, (1994), pp. 271-81 et 581-93
- [4]-Boufield T., Konstan M., & Burfeind P. Normal bronchial epithelial cells constituted produce the anti-inflammatory interleukin-10, which is down regulated in cystic fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol.*, **13**, (1995), pp. 257-61.
- [5]-Britigan B.E., Railsback M.A. & Cox C.D. The *Pseudomonas aeruginosa* secretory product pyocyanin inactivates alpha (I) protease inhibitor: Implications for pathogenesis of cystic fibrosis lung disease. *Infect Immun.*, **67**, (1999), pp.1207-12.
- [6]-Carnoy C., Ramphal R., & Scharfman A. Altered carbohydrate composition of salivary mucins from patients with cystic fibrosis and the adhesion of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Respir Cell Mol Biol.*, **9**, (1993), pp. 323-34.
- [7]-Chehab F., & Wall J. Detection of multiple cystic fibrosis mutations by reverse dot blot hybridisation : A technology for carrier screening. *Hum Genet.*, **89**, (1992), pp. 163-168.
- [8]-Claustres M., Laussel M., & Desgeorges M. Analysis of the 27 exons and flanking region of the cystic fibrosis gene: 40 different mutations account for 92,1% of the mutant alleles in southern France. *Hum Mol Genet.*, **2(8)**, (1993), pp. 1209-1213.
- [9]-Chinet Th. Mucoviscidose, In : Friedlander G., Clérici C (eds). *Biologie et pharmacologie des epithéliums. Paris : EDK.*, (2000), pp. 89-96
- [10]-Chinet, Th. Physiologie de la sécrétion épithéliale .In : Navarro J., Bellon G (eds). *La mucoviscidose. Montpellier: Ed Espaces.*, **34**, (2001), pp.33-48.
- [11]-Chinet Th., & Blouquit S. Génétique et biologie cellulaire de la mucoviscidose. Montpellier: Ed Espaces. **34**: 33-48. *Revue du praticien.*, **53**, (2003), pp. 130-134.
- [12]-Davis P.B., Drumm M.L., & Konstan M.W. State of the art: cystic fibrosis. *Am J Resp Crit Care Med.*, **154**, (1996), pp. 1229 – 56.
- [13]-De Bentzmann S., Roger, P., & Puchelle E. *Pseudomonas aeruginosa* adherence to remodelling respiratory epithelium. *Eur Respir J.*, **9**, (1996), pp. 2145-50.
- [14]-Dening G.M., Wollenweber L.A., Railsback M.A., Cox C.D., Stoll L.L., & Britigan B.E. *Pseudomonas pyocyanin* increase interleukin-8 expression by human airway epithelia cell. *Infect Immun.*, **66**, (1998), pp. 5777-84.
- [15]-Estivill X., Bancells C., & Ramos C. the Biomed CF Mutation Analysis Consortium. Geographic distribution and regional origin of 272 cystic fibrosis mutations in European populations. *Hum Mutat.*, **10**, (1997), pp. 135-54.
- [16]-Fanen P., Ghanem N., & Vidaud M. Molecular characterisation of cystic fibrosis : 16 novel mutations identified by analysis of the whole cystic fibrosis conductance transmembrane regulator (CFTR) coding region and splice junctions. *Genomics.*, **13**, (1992), pp.770-776.
- [17]-Farrell P.M., & Kosciak R.E. Sweat chlorid concentrations in infants homozygous or heterozygous for  $\Delta F$  508 cystic fibrosis. *Pediatrics.*, (1996), pp 524-7.
- [18]-Freedmann S.D., & Alvarez J.G. Pathogenesis of pancreatic disease in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol.*, **Suppl 19**, (1999), 129p.
- [19]-Goossens M. La découverte du gene de la mucoviscidose. *Médecine/science.*, **5**, (1989), pp. 589-91.
- [20]-Hendry J., Elborn JS., Nixon L., Shale D.J., & Webb A.K. Cystic fibrosis: inflammatory response to infection with

- Burkholderia cepacia and Pseudomonas aeruginosa. *Eur Respir J.*, **14**, (1999), pp. 435-38.
- [21]-Khan T.Z., Wagener J.S., Bost T., Martinez J., Accurso F.J., & Riches D.W.H. Early pulmonary inflammation in infants with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.*, **151**, (1995), pp. 1075-82.
- [22]-Kerem B., Rommens J.M., Buchanan J.A., Markiewicz D., Cox T.K., Chakravarti A., Buchwald M., & Tsui L.C. Identification of the cystic fibrosis gene: *Genetic analysis.Science.*, **245**, (1989), pp. 1073-1080.
- [23]-Littlewood J.M. The sweat test. *Arch Dis Child.*, **61**, (1986), pp. 1041-3.
- [24]-Miller S.A., Dykes D.D., & Polesky H.G. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic acids Res.*, **16**, (1988), 1215p.
- [25]-Pier G.B., Grout M., & Zaidi T. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator is an epithelial cell receptor for clearance of Pseudomonas aeruginosa from the lung . *Proc Natl Acad Sci USA.*, **94**, (1997), pp. 12088-93.
- [26]-Pier G.B., Grout M., Zaidi T., Meluleni G., & Mueschenborn S.S. Salmonella typhi uses CFTR to enter intestinal epithelial cells. *Nature.*, **393**, (1998), pp. 79-82.
- [27]-Plotkowski M.C., Debentzmann S., & Pereira S.H.M. Pseudomonas aeruginosa internalization by human epithelial respiratory cells depends on cell differentiation, polarity, and junctional complex integrity. *Am J Respir Cell Mol Biol.*, **20**, (1999), pp. 880-90.
- [28]-Puchelle E. CFTR: une protéine à multiples fonctions. *Médecine/sciences.*, **10**, (1994), pp. 627-9.
- [29]-Quinton P.M. Physiological basis of cystic fibrosis : a historical perspective. *Physiol Rev.*, **79**, (1999), pp. 23-45.
- [30]- Rich D.O., Anderson M.P., Gregory R.J., Cheng S.H., Paul S., & Jefferson D. M. Expression of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator corrects defective chloride channel regulation in CF airway epithelial cell. *Nature.*, **374( 6291)**, (1990), pp. 359-63.
- [31]-Schales O., & Schales S.S. A simple and accurate method for the determination of chloride in biological fluids. *J Biol Chem.*, **140**, (1947), 879p.
- [32]-Soleimani M., & Shumaker H. How cystic fibrosis affects pancreatic ductal bicarbonate secretion . *Pediatr Pulmonol.*, **Supp19**, (1999), pp. 131-2.
- [33]- Tabary O., Zahm J., & Hinnrasky J. Genistein inhibits constitutive and inducible NF.B activation ad decreases IL-B production by human cystic fibrosis bronchial gland cells. *Am J Pathol.*, **155**, (1999), pp. 473-81.
- [34]- Webster H.L. Laboratory diagnosis of cystic fibrosis. *Sciences in CRC Press Inc Boca Raton Florida.*, **18**, (1983), pp. 4-1.
- [35]- Wilschanski M., Zielenski, J., Markiewicz D., Tsui L.C., Corey M., & Levison H. Correlation of sweat chlorid concentration with classes of the cystic fibrosis transmembrane conductance régulator gene mutations. *J Pediatr.*, **127**, (1995), pp. 705-10.
- [36]- Zhang Y., Doranz B., Yankaskas J.R., & Engelhardt J.F. Genotypic analysis of respiratory mucous sulfation defects in cystic fibrosis . *J Clin Invest.*, **96**, (1995), pp. 2997-3004.
- [37]- Zielenski J. Genotype and phenotype in cystic fibrosis. *Respiration.*, **6**, (2000), pp.117-3.