



**HAL**  
open science

# Exposition professionnelle aux agents irritants et asthme : rôle des marqueurs biologiques liés au stress oxydant

Miora Andrianjafimasy

► **To cite this version:**

Miora Andrianjafimasy. Exposition professionnelle aux agents irritants et asthme : rôle des marqueurs biologiques liés au stress oxydant. Médecine humaine et pathologie. Université Paris-Saclay, 2020. Français. NNT : 2020UPASV014 . tel-03242293

**HAL Id: tel-03242293**

**<https://theses.hal.science/tel-03242293v1>**

Submitted on 31 May 2021

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

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

Exposition professionnelle aux agents  
irritants et asthme :  
rôle des marqueurs biologiques liés au  
stress oxydant

**Thèse de doctorat de l'université Paris-Saclay**

École doctorale n° 570 Santé Publique (EDSP)  
Spécialité de doctorat: Santé Publique – Epidémiologie  
Unité de recherche : Université Paris-Saclay, UVSQ, Inserm, CESP, 94807, Villejuif, France  
Réfèrent : Université de Versailles -Saint-Quentin-en-Yvelines

**Thèse présentée et soutenue par visioconférence totale le 27 Mai 2020 par**

**Miora Valérie ANDRIANJAFIMASY**

**Composition du Jury**

**Jean BOUYER**

DR, Université Paris-Saclay, UVSQ, Univ Paris-Sud,  
Inserm, Équipe VIH – Pédiatrie, CESP

Président

**Jorge BOCZKOWSKI**

PU, Inserm U955,  
Institut Mondor de Recherche Biomédicale

Rapporteur & Examineur

**Danièle LUCE**

DR, Inserm UMR-S 1085, Institut de Recherche en Santé,  
Environnement et Travail, IRSET

Rapporteur & Examinatrice

**Pascal GUENEL**

DR, Université Paris-Saclay, UVSQ, Univ Paris-Sud,  
Inserm, Équipe Cancer et environnement, CESP

Examineur

**Sébastien HULO**

MCU-PH, Université de Lille

Examineur

**Isabelle MOMAS**

PU, Inserm UMR S 1153,  
Université, Faculté de Pharmacie de Paris

Examinatrice

**Rachel NADIF**

CR, Université Paris-Saclay, UVSQ, Univ Paris-Sud, Inserm,  
Équipe d'Epidémiologie respiratoire intégrative, CESP

Directrice de thèse

**Orianne DUMAS**

CR, Université Paris-Saclay, UVSQ, Univ Paris-Sud, Inserm,  
Équipe d'Epidémiologie respiratoire intégrative, CESP

Co-encadrante de thèse

## REMERCIEMENTS

---

Je tiens à remercier en premier lieu Rachel Nadif et Orienne Dumas, mes directrices de thèse, de m'avoir accordé leur confiance depuis le stage de master jusqu'à la fin de cette thèse. Je les remercie pour leur encadrement attentif, leurs conseils et leur grande disponibilité tout au long de ces quatre années de recherche. De par leurs qualités pédagogiques, scientifiques et humaines, j'ai beaucoup appris à leurs côtés et je leur en suis très reconnaissante.

Je remercie Monsieur Jean Bouyer d'avoir accepté de présider ce jury de thèse, Madame Danièle Luce et Monsieur Jorge Boczkowski d'avoir accepté de participer au jury de thèse en qualité de rapporteurs et de prendre du temps pour évaluer ce travail. Je remercie Madame Isabelle Momas, Monsieur Pascal Guénel et Monsieur Sébastien Hulo d'avoir accepté de participer à ce jury de thèse en qualité d'examineurs.

Je tiens à remercier également Marie-Hélène Dizier et Patricia Jeannin de l'unité Inserm UMR-S 1124 ainsi que Laurent Orsi de l'équipe Epidémiologie Respiratoire Intégrative du CESP de m'avoir encadré d'un point de vue méthodologique, notamment sur les aspects génétiques de la thèse. Je les remercie pour leurs conseils et leur disponibilité pour répondre à toutes mes questions ainsi que pour relire les travaux que j'ai réalisés dans cette thèse en lien avec l'épidémiologie génétique.

Ce travail a été réalisé en utilisant les données issues de l'étude EGEA (étude Epidémiologique sur les facteurs Génétiques et Environnementaux de l'Asthme). Je souhaite donc remercier tous les participants de l'étude ainsi que toutes les personnes qui ont contribué à l'élaboration de celle-ci, notamment les membres du groupe coopératif EGEA coordonné par : Francine Kauffmann (1991-2012), Valérie Siroux et Isabelle Pin (depuis 2013) pour les

aspects épidémiologiques ; Florence Demenais pour les aspects génétiques ; Isabelle Pin pour les aspects cliniques et Rachel Nadif pour les aspects biologiques.

Je remercie également les personnes qui ont participé à l'élaboration de la matrice emplois-expositions spécifique pour l'asthme (OAsJEM) et l'expertise qui ont servi à l'estimation des expositions professionnelles, particulièrement, Nicole le Moual, Jan-Paul Zock, Oriane Dumas, Theodore Lytras, Eva Andersson, Linnéa Lillienberg, Vivi Schlünssen, Geza Benke, Hans Kromhout, Brigitte Dananche, Dominique Oberson-Geneste et Catherine Quinot.

Je souhaite également remercier les personnes qui ont collaboré à la construction des endotypes d'asthme, particulièrement, Rachel Nadif, Mickael Febrissy et Mohamed Nadif.

Je tiens à remercier également tous les membres de l'équipe Epidémiologie Respiratoire Intégrative du CESP au sein de laquelle j'ai réalisé cette thèse, en particulier, Bénédicte, Benjamin, Diane, Guillaume, Laure, Laurent, Marine, Nicole, Pierre, Raphaëlle, Samira, Stéphanie, et Wassila. Je les remercie de leur accueil chaleureux et leur gentillesse mais également pour tous leurs conseils scientifiques qui m'ont aidé à améliorer tous les travaux réalisés dans le cadre de cette thèse. Aussi, je remercie Ghislaine et Béatrice de leur gentillesse et de m'avoir apporté leur aide dans la gestion de tous les aspects administratifs relatifs à cette thèse. Je remercie également les anciens membres de l'unité avec qui j'ai partagé d'agréables moments, en particulier, Anaïs, Catherine, Emilie, Marion, Sabrina, Sofia, Vanessa et Zhen.

Je remercie également l'équipe de la Maison d'Initiation et de Sensibilisation aux Sciences (MISS), en particulier Valérie Fortuna, Elisabeth Delbecq et Sylvie Sikora ; tous les chercheurs qui ont créé les ateliers scientifiques « Bulles et Mousses », « Vie dans le sol »,

« Couleurs du nano-monde », « Energie » et « A la découverte des insectes » ; et les doctorants co-animateurs des ateliers : Ajmal, Aline, Anne-Sophie, Axel, Lison, Lydia, Mery, Raphaëlle, Romain, Sylvain, Timothée, et Vincent H. avec qui j'ai passé d'agréables moments. Je les remercie de m'avoir permis de réaliser cette expérience de médiation scientifique et de tous les échanges qui ont enrichi ma culture scientifique.

Enfin, je remercie du fond du cœur mes proches, ma famille et mes amis pour leur aide, leur soutien et leur encouragement constants tout au long de mes années d'étude et sans qui je n'aurais pu aboutir à ce travail.

### Articles publiés

Andrianjafimasy M, Zerimech F, Akiki Z, Huyvaert H, Le Moual N, Siroux V, Matran R, Dumas O, Nadif R. Oxidative stress biomarkers and asthma characteristics in adults of the EGEA study. *Eur Resp J*. 2017; 50 (6). DOI: 10.1183/13993003.01193-2017.

Akiki Z\*, Andrianjafimasy M\*, Zerimech F, Le Moual N, Siroux V, Dumas O, Matran R, Nadif R. High level of Fluorescent oxidation products is longitudinally associated with poor asthma control. *Respir Res*. 2019 Sep 6;20(1):203. DOI: 10.1186/s12931-019-1173-0.

\*contribution égale (co-premiers auteurs).

### Articles en cours de finalisation

Andrianjafimasy M, Zerimech F, Akiki Z, Febrissy M, Kromhout H, Matran R, Nadif M, Schlünssen V, Siroux V, Zock JP, Le Moual N, Nadif R, Dumas O. Association between occupational exposure to irritant agents and a distinct asthma endotype in adults (titre provisoire).

Andrianjafimasy M, Orsi L, Margaritte-Jeannin P, Demenais F, Matran R, Zerimech F, Dumas O, Dizier MH, Nadif R. *PIDI* associated to a respiratory endotype related to occupational exposures to irritants (titre provisoire).

### Communications orales

#### *Congrès internationaux*

Andrianjafimasy M, Zerimech F, Akiki Z, Kromhout H, Matran R, Schlünssen V, Siroux V, Zock JP, Le Moual N, Dumas O, Nadif R. Association between occupational exposures to chemicals and irritants and biomarkers of oxidative and nitrosative stress in the EGEA study. Congrès international de l'ISES-ISEE, Ottawa, 26-30 Août 2018.

#### *Congrès nationaux*

Andrianjafimasy M, Orsi L, Margaritte-Jeannin P, Demenais F, Matran R, Zerimech F, Dumas O, Dizier M.H, Nadif R. Gènes liés au stress oxydant, exposition professionnelle aux irritants et profils d'asthme. Séminaire annuel de l'Etude épidémiologique des facteurs Génétiques et Environnementaux de l'Asthme (EGEA), Paris, 24 mai 2019.

Andrianjafimasy M, Zerimech F, Akiki Z, Kromhout H, Matran R, Schlünssen V, Siroux V, Zock JP, Le Moual N, Nadif R, Dumas O. Expositions professionnelles aux agents irritants et marqueurs biologiques des stress oxydant et nitrosant. Séminaire annuel de l'Etude épidémiologique des facteurs Génétiques et Environnementaux de l'Asthme (EGEA), Paris, 4 et 5 juin 2018.

Andrianjafimasy M, Zerimech F, Huyvaert H, Siroux V, Le Moual N, Matran R, Dumas O, Nadif R. Exposition professionnelle aux produits de nettoyage, marqueurs biologiques du stress oxydant et asthme dans EGEA. 39ème Séminaire national de l'Epidémiologie Respiratoire "PEPI", Paris, 10 Novembre 2016.

### **Communications par affiche**

#### *Posters discussions*

Andrianjafimasy M, Zerimech F, Akiki Z, Febrissy M, Kromhout H, Matran R, Nadif M, Schlünssen V, Siroux V, Zock JP, Le Moual N, Dumas O, Nadif R. Association between occupational exposure to irritant agents and adult asthma profiles. Congrès international de l'European Respiratory Society, Madrid, 28 Septembre – 2 Octobre 2019, Eur resp J 2019 54 : PA5245 ; DOI: 10.1183/13993003.congress-2019.PA5245, poster discussion.

Andrianjafimasy M, Akiki Z, Zerimech F, Le Moual N, Siroux V, Dumas O, Matran R, Nadif R. Associations between Fluorescent Oxidation Products (FIOPs) level and change in asthma outcomes. Congrès international de l'European Respiratory Society, Paris, 15-19 Septembre 2018, Eur Resp J 2018 52 : PA3909 ; DOI: 10.1183/13993003.congress-2018. PA3909, poster discussion.

#### *Posters*

Andrianjafimasy M, Zerimech F, Akiki Z, Huyvaert H, Le Moual N, Siroux V, Matran R, Dumas O, Nadif R. Oxidative stress biomarkers and asthma characteristics in adults of the EGEA study. Congrès international de l'European Respiratory Society, Milan, 9-13 Septembre 2017, Eur Resp J. 2017 50 : PA2619 ; 10.1183/1393003.congress-2017.PA2619, poster.

Andrianjafimasy M, Zerimech F, Huyvaert H, Siroux V, Le Moual N, Matran R, Dumas O, Nadif R. Exposition professionnelle aux produits de nettoyage et de désinfection et asthme : rôle des marqueurs biologiques du stress oxydant. Congrès national « Journées de la Recherche Respiratoire », Nice, 14-15 Octobre 2016, poster.

## TRAVAUX REALISES EN DEHORS DE LA THESE

### Articles soumis

Nadif R, Febrissy M, Andrianjafimasy M, Le Moual N, Gormand F, Just J, Pin I, Matran R, Siroux V, Dumas O, Nadif M. Endotypes identified by cluster analysis in asthmatics and non asthmatics and their clinical characteristics 10 years later: the EGEA study.

### Communications

Orsi L, Margaritte-Jeannin P, Andrianjafimasy M, Demenais F, Matran R, Zerimech F, Nadif R, Dizier M.H. Genome-wide association study of Fluorescent Oxidation Products in asthma-ascertained families of the French EGEA study. Congrès international de l'American Society of Human Genetics, Houston (USA), 15-19 Octobre 2019, poster.

Nadif R, Febrissy M, Andrianjafimasy M, Le Moual N, Gormand F, Just J, Pin I, Matran R, Siroux V, Dumas O, Nadif M. Adult asthma phenotypes identified by a cluster analysis on clinical and biological characteristics. Congrès international de l'European Respiratory Society, Paris, 15-19 Septembre 2018, Eur Resp J 2018 52: OA293; 10.1183/13993003.congress-2018.OA293.

### Missions doctorales de médiation et de vulgarisation scientifiques

Animations d'ateliers scientifiques à la Maison d'Initiation et de Sensibilisation aux Sciences à des classes de primaires et collèges.

### Autres activités

Codage des métiers des participants à la troisième enquête de suivi d'EGEA (EGEA3).

Application de la nouvelle matrice emplois-expositions spécifique pour l'asthme (OAsJEM) sur les métiers des participants à la deuxième enquête de suivi d'EGEA (EGEA2) afin d'estimer les expositions professionnelles.



## ABBREVIATIONS

---

3-NT : 3-nitrotyrosine

ABCC1 : ATP binding cassette subfamily c member 1

ADN : acide désoxyribonucléique

ARN : acide ribonucléique

BACA : beta-2 agonistes à courte durée d'action

BALA : beta-2 agonistes à longue durée d'action

BPCO: bronchopneumopathie chronique obstructive

CAQ : composé d'ammonium quaternaire

CAT : catalase

CSI : corticoïdes stéroïdiens inhalés

CSO : corticoïdes stéroïdiens oraux

CTD : comparative toxicogenomics database

CVF : capacité vitale forcée

DALY : disability-adjusted life year

DL: déséquilibre de liaison

e-QTL: expression quantitative trait loci

ECRHS : european community respiratory health survey

EGEA : étude épidémiologique des facteurs génétiques et environnementaux de l'asthme

EOS : éosinophiles

EROs : espèces réactives de l'oxygène

ET : écart-type

FENO : fraction exhalée du monoxyde d'azote

GEE : équation d'estimation généralisée

GINA : global initiative for asthma

GO: gene ontology

GPX ou GSH-Px : glutathion peroxydase

GWAS : genome wide association study

GWIS : genome wide interaction study

GxE : interaction gène-environnement

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : peroxyde d'hydrogène

Hb : hémoglobine

HDAC2 : histone deacetylase 2

HLA : antigènes des leucocytes humains

HLA : human leucocyte antigen

HMW : agents de haut poids moléculaire

HO<sup>•</sup> : radical hydroxyle

HPFS : health professional follow-up study

HRB : hyperréactivité bronchique

HWE: équilibre d'Hardy-Weinber

IC : intervalle de confiance

IgE : immunoglobuline E

IL : interleukine

IMC : indice de masse corporelle

IQR : écart interquartile (interquartile range)

ISAAC : international study of asthma and allergies in childhood

kb : kilos de paires de bases

LMW : agents de petit poids moléculaire

MAF : fréquence de l'allèle mineur

MDA : malondialdéhyde

MEE : matrice emplois-expositions

MG : moyenne géométrique

NEU : neutrophiles

NF-kB : facteur de transcription nucléaire kappa B

NHS : nurses' health study

NO : monoxyde d'azote

NOX4 : nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) Oxidase 4

O<sub>2</sub><sup>-</sup> : anion superoxyde

O<sub>3</sub> : ozone

OAsJEM : matrice emplois-expositions spécifique pour l'asthme (occupational asthma job exposure matrix)

OR : odds-ratio

PDGFD : platelet derived growth factor D

PID1 : phosphotyrosine interaction domain containing 1

POFs : produits d'oxydation fluorescents

PREX1 : phosphatidylinositol-3, 4, 5-trisphosphate dependent rac exchange factor 1

Q1 : 1<sup>er</sup> quartile

Q3 : 3<sup>ème</sup> quartile

SNP : polymorphisme nucléotidique

SO<sub>2</sub> : dioxyde de soufre

SOD : superoxyde dismutase

THM : trihalométhanes

TLR : récepteur toll-like (toll-like receptor)

TRP : transient receptor potential

TSLP : lymphopoïétine stromale thymique

VEGAS : versatile gene-based association study

VEMS : volume expiratoire maximal par seconde

## TABLE DES MATIERES

---

I	INTRODUCTION GENERALE.....	15
II	ETAT DE L'ART.....	19
II.1	Asthme.....	20
II.1.1	Enjeux en santé publique.....	20
II.1.2	Évaluation de l'asthme.....	21
II.1.3	Prise en charge de l'asthme.....	23
II.1.4	Etiologie de l'asthme.....	24
II.1.5	Mécanismes physiopathologiques de l'asthme.....	29
II.1.6	Hétérogénéité de l'asthme.....	31
II.1.7	Synthèse de l'état des connaissances sur l'asthme.....	37
II.2	Rôle du stress oxydant dans l'asthme.....	38
II.2.1	Définition du stress oxydant.....	38
II.2.2	Sources endogènes et exogènes des espèces réactives de l'oxygène.....	39
II.2.3	Marqueurs de défense et de dommages liés au stress oxydant.....	40
II.2.4	Espèces réactives de l'oxygène et marqueurs biologiques liés au stress oxydant dans l'asthme.....	42
II.3	Asthme lié au travail.....	52
II.3.1	Description de l'asthme lié au travail.....	52
II.3.2	Agents de haut poids moléculaire et de petit poids moléculaire.....	55
II.3.3	Expositions professionnelles aux agents irritants.....	58
II.3.4	Mécanismes physiopathologiques de l'asthme lié au travail.....	64
II.3.5	Exposition aux irritants et stress oxydant.....	67
II.3.6	Synthèse de l'état des connaissances sur l'exposition professionnelle aux irritants, l'asthme et le stress oxydant.....	69
II.3.7	Aspects méthodologiques en épidémiologie de l'asthme lié au travail.....	70
II.4	Facteurs génétiques, expositions professionnelles et asthme.....	75
II.4.1	Différentes approches pour étudier les associations génétiques et les interactions gène-environnement.....	75
II.4.2	Associations génétiques dans l'asthme lié au travail induit par les sensibilisants.....	76
II.4.3	Interactions gène-environnement dans l'asthme lié au travail induit par les irritants.....	78
II.4.4	Synthèse de l'état des connaissances sur les facteurs génétiques et l'asthme lié au travail.....	79
III	OBJECTIFS.....	80
IV	MATERIELS ET METHODES.....	81

IV.1	Étude EGEA .....	82
IV.1.1	Population d'étude.....	82
IV.1.2	Données physiologiques et biologiques .....	85
IV.1.3	Génotypage.....	85
IV.2	Caractéristiques cliniques et fonctionnelles liées à l'asthme et caractéristiques liées à l'allergie et à l'inflammation .....	86
IV.2.1	Principales caractéristiques cliniques de l'asthme .....	86
IV.2.2	Exploration fonctionnelle respiratoire.....	89
IV.2.3	Caractéristiques liées à l'allergie et à l'inflammation .....	90
IV.3	Dosage des marqueurs biologiques liés au stress oxydant .....	90
IV.3.1	Dosage des marqueurs de réponse .....	91
IV.3.2	Dosage des marqueurs de dommages.....	92
IV.4	Identification des endotypes .....	93
IV.4.1	Caractéristiques incluses dans les analyses de classification .....	93
IV.4.2	Analyses de classification – modèles de mélange.....	94
IV.5	Estimation des expositions professionnelles .....	95
IV.6	Analyses statistiques.....	98
V	RESULTATS ET DISCUSSIONS .....	99
V.1	Associations entre les marqueurs biologiques liés au stress oxydant, l'asthme et l'exposition professionnelle aux irritants.....	100
V.1.1	Associations entre les marqueurs biologiques liés au stress oxydant et l'asthme.....	100
V.1.2	Associations entre l'exposition professionnelle aux irritants et les produits d'oxydation fluorescents.....	127
V.2	Associations entre l'exposition professionnelle aux irritants et des endotypes d'asthme.....	140
V.3	Associations entre les gènes impliqués dans la réponse au stress oxydant et l'endotype d'asthme CA1 et modification selon l'exposition professionnelle aux irritants.....	160
VI	DISCUSSION GENERALE DES RESULTATS .....	181
VI.1	Synthèse des principaux résultats .....	181
VI.2	Discussion générale .....	182
VI.3	Impacts et perspectives en santé publique et en clinique .....	188
VI.4	Perspectives de recherche .....	189
VII	REFERENCES .....	193
VIII	ANNEXES.....	218

## **LISTE DES FIGURES**

---

Figure 1 : Mécanismes physiopathologiques de l’asthme.....	29
Figure 2 : Hétérogénéité de l’asthme – Évolution des termes phénotypes et endotypes. ....	33
Figure 3 : Mécanismes biologiques, endotypes et options thérapeutiques de l’asthme éosinophilique et non éosinophilique.....	36
Figure 4 : Schéma du stress oxydant.....	38
Figure 5 : Sources endogènes et exogènes des espèces réactives de l’oxygène. ....	39
Figure 6 : Marqueurs de la réponse au stress oxydant et production d'espèces réactives de l’oxygène dans le poumon.....	40
Figure 7 : Schéma des processus d’oxydation causant les dommages liés au stress oxydant..	41
Figure 8 : Représentation de la relation entre l’exposition environnementale, les marqueurs biologiques et l’asthme.....	42
Figure 9 : Représentation schématique des différentes formes d’asthme lié au travail. ....	55
Figure 10 : Représentation schématique des mécanismes physiopathologiques de l’asthme induit par les sensibilisants et l’asthme induit par les irritants.....	65
Figure 11 : Sélection des apparentés du 1 <sup>er</sup> degré des cas asthmatiques.....	83
Figure 12 : Représentation graphique de la conception de l’étude EGEA (questionnaires, collection biologique et génétique). ....	86
Figure 13 : Sélection de la population dans l’étude des associations entre les marqueurs biologiques liés au stress oxydant et l’asthme. ....	101
Figure 14 : Sélection de la population dans l’étude des associations entre les POFs et l’évolution des caractéristiques de l’asthme.....	121
Figure 15 : Représentation schématique de la définition de l’évolution des caractéristiques de l’asthme entre EGEA2 et EGEA3.....	122
Figure 16 : Sélection de la population dans l’étude des associations entre les POFs et l’exposition professionnelle aux irritants. ....	128
Figure 17 : Sélection de la population dans l’étude des associations entre l’exposition professionnelle aux irritants et les endotypes d’asthme.....	142
Figure 18 : Sélection des gènes impliqués dans la réponse au stress oxydant.....	163

## LISTE DES TABLEAUX

---

Tableau 1 : Exemples d'études portant sur l'association entre les activités enzymatiques de la SOD, GPX et CAT, mesurées dans les érythrocytes, et l'asthme et la fonction ventilatoire...	45
Tableau 2 : Exemples d'agents de haut poids moléculaire et de petit poids moléculaire impliqués dans l'asthme professionnel. ....	57
Tableau 3 : Exemples de métiers et agents irritants impliqués dans l'asthme professionnel...	58
Tableau 4 : Liste des agents à risque pour l'asthme classés dans sept grands groupes – OAsJEM. ....	97
Tableau 5 : Description des caractéristiques démographiques et cliniques des 1388 participants selon le statut asthmatique. ....	105
Tableau 6 : Description des marqueurs de réponse au stress oxydant chez les participants non asthmatiques en fonction des caractéristiques démographiques (n=774). ....	107
Tableau 7 : Description des marqueurs de dommages liés au stress oxydant chez les participants non asthmatiques en fonction des caractéristiques démographiques (n=774)....	108
Tableau 8 : Associations entre les marqueurs biologiques liés au stress oxydant et l'asthme vie. ....	109
Tableau 9 : Associations entre les marqueurs de réponse au stress oxydant et les caractéristiques de l'asthme. ....	111
Tableau 10 : Associations entre les marqueurs de dommages liés au stress oxydant et les caractéristiques de l'asthme. ....	112
Tableau 11 : Associations entre les marqueurs de dommages liés au stress oxydant et les marqueurs d'allergie et d'inflammation chez les participants avec un asthme vie. ....	113
Tableau 12 : Description des caractéristiques à EGEA2 des 489 participants. ....	124
Tableau 13 : Description de la concentration des POFs à EGEA2 en fonction de l'évolution des caractéristiques de l'asthme. ....	125
Tableau 14 : Association entre la concentration en POFs à EGEA2 et l'évolution des caractéristiques de l'asthme entre EGEA2 et EGEA3. ....	125
Tableau 15 : Liste des 20 agents irritants classés dans les sous-groupes de produits chimiques hautement réactifs et des biocides – extrait de la matrice OAsJEM. ....	129
Tableau 16 : Description de la population d'étude (n=701). ....	131
Tableau 17 : Description des expositions professionnelles aux irritants. ....	132
Tableau 18 : Associations entre exposition professionnelle aux irritants et POFs chez les non asthmatiques. ....	134

Tableau 19 : Associations stratifiées sur le sexe entre exposition professionnelle aux irritants et POFs chez les non asthmatiques. ....	136
Tableau 20 : Description des caractéristiques des participants en fonction des endotypes d’asthme (n=999). ....	146
Tableau 21 : Description de l’exposition professionnelle actuelle aux agents irritants dans chaque endotype d’asthme. ....	147
Tableau 22 : Comparaison du nombre de participants dans chaque catégorie d’exposition professionnelle estimée avec et sans l’étape de réévaluation par expertise. ....	148
Tableau 23 : Associations entre l’exposition professionnelle actuelle aux irritants et les endotypes d’asthme (n=999). ....	149
Tableau 24 : Associations entre exposition professionnelle vie aux agents irritants et endotypes d’asthme. ....	150
Tableau 25 : Associations entre exposition professionnelle actuelle aux sous-groupes d’irritants et endotype d’asthme CA1. ....	152
Tableau 26 : Associations entre exposition professionnelle actuelle aux agents de petit poids moléculaire et endotypes d’asthme. ....	153
Tableau 27 : Associations entre les 10 tops SNPs et l’endotype d’asthme CA1 (vs NA1). ..	168
Tableau 28 : Etude de robustesse pour les 3 tops SNPs localisés sur le gène <i>PID1</i> . ....	169
Tableau 29 : Association entre les 10 tops SNPs et l’endotype d’asthme CA2 (vs NA1). ....	170
Tableau 30 : Association entre les 10 tops SNPs et l’endotype d’asthme CA3 (vs NA1). ....	170
Tableau 31 : Les tops gènes estimés par les tests de VEGAS.....	171
Tableau 32 : Associations entre les SNPs imputés autour du SNP rs1419958 localisé sur le gène <i>PID1</i> et l’endotype d’asthme CA1 (vs NA1).....	172
Tableau 33 : Associations stratifiées sur l’exposition professionnelle aux irritants entre les 10 tops SNPs et l’endotype d’asthme CA1 (vs NA1). ....	173
Tableau 34 : Eléments de régulation des trois tops SNPs (ou leurs proxies) localisés sur le gène <i>PID1</i> associés à l’endotype CA1. ....	175
Tableau 35 : Produits chimiques extraits de la base de données CTD en interaction avec le gène <i>PID1</i> . ....	176



## I INTRODUCTION GENERALE

---

L'asthme est une maladie respiratoire inflammatoire chronique qui affecte 273 millions de personnes dans le monde [1]. En France, la prévalence de l'asthme chez l'adulte est évaluée à 7% [2].

L'asthme est une maladie hétérogène. Cette hétérogénéité peut être approchée d'une part par la caractérisation de différents phénotypes, définis comme un ensemble de caractéristiques observables résultant de l'interaction entre le génotype et l'environnement [3], et d'autre part, par la caractérisation d'endotypes c'est à dire des sous-types de la maladie définis fonctionnellement et pathologiquement par des mécanismes biologiques distincts [4, 5]. L'étude de ces endotypes permettrait d'affiner la caractérisation de l'asthme afin de mieux comprendre les mécanismes biologiques sous-jacents et d'améliorer la prise en charge de cette maladie [6].

L'étiologie de l'asthme reste mal comprise, il s'agit d'une maladie multifactorielle complexe résultant de facteurs génétiques, environnementaux et comportementaux et de leurs interactions. Ces facteurs peuvent avoir une influence tant sur l'apparition que sur l'expression de la maladie [7] et peuvent donc être associés à différents endotypes. Ainsi, l'hétérogénéité phénotypique de l'asthme résulte probablement d'interactions entre les facteurs génétiques et environnementaux.

L'asthme lié au travail est un bon modèle pour étudier l'asthme en général [8]. Il s'agit de la première maladie respiratoire professionnelle dans les pays industrialisés [9] et 16% de l'asthme de l'adulte est attribuable aux expositions professionnelles [10]. A ce jour, 500 agents ont été identifiés comme étant à risque pour l'asthme professionnel, dont certains sont classés comme sensibilisants et d'autres comme irritants [11]. Pour les agents irritants, il a

longtemps été supposé que seule une exposition à de fortes concentrations pourrait induire un asthme professionnel [12, 13]. Mais des études épidémiologiques récentes ont suggéré un rôle d'une exposition chronique à de faibles concentrations d'irritants dans l'asthme [11]. Cependant, les mécanismes physiopathologiques par lesquels les agents irritants affectent la santé respiratoire restent mal connus [11].

Le stress oxydant a été suggéré comme une des voies biologiques potentielles impliquées dans l'asthme professionnel induit par les irritants [14]. Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre les espèces réactives de l'oxygène et les défenses antioxydantes de l'organisme en faveur des premières [15]. L'inhalation d'agents irritants est susceptible d'induire la libération d'espèces réactives de l'oxygène et d'induire des dommages au niveau de l'épithélium pulmonaire et une inflammation des voies respiratoires [14]. Néanmoins, le rôle de la voie biologique du stress oxydant dans l'asthme professionnel induit par les irritants est mal connu et a été très peu étudié. L'étude des marqueurs biologiques liés au stress oxydant représente une opportunité pour mieux comprendre ce rôle. En effet, les marqueurs qui reflètent soit la réponse au stress oxydant soit les dommages liés à celui-ci se situent dans le continuum entre l'exposition et la maladie [16, 17]. Plusieurs approches peuvent être mises en œuvre pour étudier les marqueurs biologiques : soit étudier les associations entre des marqueurs liés au stress oxydant et l'exposition aux irritants d'une part, et des caractéristiques cliniques de l'asthme d'autre part, comme suggéré dans plusieurs études [18–22] ; soit intégrer des marqueurs avec des caractéristiques cliniques dans l'identification d'endotypes d'asthme [23] et d'étudier l'association entre l'exposition aux irritants et ces endotypes .

L'étude des interactions gènes-environnement (GxE) qui vise à déterminer si les associations entre des expositions environnementales et l'asthme peuvent être modifiées par certains variants génétiques et inversement, constitue une autre approche intéressante pour mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques associés à l'asthme professionnel induit par

les irritants [7]. A notre connaissance, une seule étude a examiné des interactions entre l'exposition professionnelle aux irritants, en particulier les produits de nettoyage, et des gènes impliqués dans la voie du stress oxydant dans l'asthme et a identifié cinq nouveaux gènes associés à l'asthme [24]. De plus, les études d'association génétique réalisées dans l'asthme jusqu'à présent n'ont permis d'expliquer qu'une petite part de la composante génétique de l'asthme [25], probablement en raison de l'absence de prise en compte de son hétérogénéité [26]. Étudier l'association entre des variants génétiques et des endotypes d'asthme permettrait de prendre en compte cette hétérogénéité et de découvrir de nouveaux gènes associés à l'asthme.

Cette thèse a pour objectif général de mieux comprendre par quels mécanismes physiopathologiques l'exposition professionnelle aux agents irritants affecte la santé respiratoire, en se focalisant sur la voie biologique du stress oxydant. Pour répondre à cet objectif général, trois objectifs spécifiques ont été définis : 1) Étudier les associations entre des marqueurs biologiques liés au stress oxydant et des caractéristiques cliniques de l'asthme d'une part, et l'exposition professionnelle aux irritants d'autre part ; 2) Étudier les associations entre l'exposition professionnelle aux irritants et des endotypes d'asthme ; 3) Étudier les associations entre des gènes impliqués dans la voie du stress oxydant et ces endotypes d'asthme et si les associations entre l'exposition professionnelle aux irritants et les endotypes sont modifiées par ces gènes.

Ce manuscrit de thèse est organisé en cinq parties. La première partie présente un état des connaissances sur les aspects cliniques, étiologiques ainsi que sur l'hétérogénéité et les mécanismes biologiques de l'asthme et de l'asthme lié au travail. La deuxième partie présente les différents objectifs de la thèse. La troisième partie décrit les méthodes utilisées pour répondre aux différents objectifs de la thèse, dont la population d'étude, les principales

variables d'intérêt ainsi que les analyses statistiques. La quatrième partie présente et discute les résultats en lien avec les trois objectifs spécifiques de la thèse. Enfin, la dernière partie présente une discussion générale avec une synthèse des résultats, une discussion de différents aspects méthodologiques, l'implication en santé publique ainsi qu'une présentation des perspectives de ce travail.

## II ETAT DE L'ART

---

Cette première partie comprend quatre chapitres sur l'état des connaissances de l'asthme en général dans un premier temps et de l'asthme lié au travail dans un deuxième temps. Le premier chapitre porte sur la définition de l'asthme, ses aspects cliniques, épidémiologiques, étiologiques ainsi que sur son hétérogénéité et les différents mécanismes biologiques sous-jacents. Le deuxième chapitre se focalise sur la voie biologique du stress oxydant et présente un état de la littérature sur les associations entre les marqueurs biologiques liés au stress oxydant et l'asthme. Le troisième chapitre présente une description de l'asthme lié au travail et les différentes expositions professionnelles, en particulier les irritants, et les mécanismes biologiques par lesquels ces expositions affectent la santé respiratoire. Le quatrième chapitre présente un état de la littérature sur les associations génétiques dans l'asthme professionnel.

## **II.1 Asthme**

Selon le Global Initiative for Asthma (GINA) [27], l'asthme se définit comme une maladie inflammatoire chronique des voies respiratoires caractérisée par des épisodes récurrents de sifflements, d'essoufflements, de sensation d'oppression thoracique ou de toux. Ces symptômes sont associés à un débit expiratoire variable dû à une bronchoconstriction ou rétrécissement des voies respiratoires, un épaississement de la paroi bronchique et à une hypersécrétion de mucus. Ces symptômes sont réversibles spontanément ou sous traitement.

### **II.1.1 Enjeux en santé publique**

L'asthme est l'une des maladies respiratoires chroniques les plus communes dans le monde affectant environ 273 millions de personnes en 2017 [1]. Sa prévalence est en augmentation au niveau mondial (augmentation de 12,6 % entre 1990 et 2015) [28]. En 2018, en France, l'enquête ASTHMAPOP a estimé la prévalence de l'asthme actuel à 6,4% et celle de l'asthme sévère à 3,8% chez les adultes [29, 30]. La prévalence varie selon l'âge : elle est plus élevée chez les 15-24 ans et les plus de 65 ans (9,6% et 8,9% respectivement) et plus faible chez les 55-64 ans (5,6%) [31]. Chez les enfants, les garçons ont une prévalence plus élevée que les filles, alors que chez les adultes, les femmes ont une prévalence plus élevée que les hommes, le ratio s'inversant à l'adolescence [32].

L'asthme est classé parmi les trente principales causes de nombre d'années de vie perdues en raison d'une mortalité ou d'un handicap (DALYs<sup>1</sup>) [33]. En 2017, 495000 décès dus à l'asthme ont été observés dans le monde avec une baisse de 0,7% comparée à l'année 2007 [34] et avec une large variabilité entre les continents, l'âge et le statut socio-économique [35].

---

<sup>1</sup> Disability-Adjusted Life Year : unité qui mesure la charge de morbidité globale et définie comme étant la somme des années potentielles de vie perdues en raison d'une mortalité prématurée et des années productives perdues en raison d'un handicap [28].

En France, 1038 décès par asthme étaient survenus en 2006, malgré une baisse de la mortalité entre 2000 et 2006 [2].

Le coût économique lié à l'asthme est considérable et fortement corrélé aux comorbidités, à l'âge et à la sévérité de la maladie [35, 36]. Les coûts liés à la maladie sont classés en coûts médicaux directs, indirects et intangibles. Les coûts directs liés à l'asthme comprennent sa prise en charge telle que les hospitalisations, les admissions aux urgences, les traitements et les examens complémentaires tels que les tests de la fonction ventilatoire ou les tests cutanés. Les coûts médicaux indirects correspondent aux pertes liées à l'absentéisme au travail ou à la mortalité prématurée. Enfin, les coûts intangibles sont liés aux pertes non quantifiables telles que la diminution de la qualité de vie [35, 36]. Une étude européenne conduite chez les adultes a évalué le coût moyen total lié à l'asthme à environ 1600 euros par an et par patient avec une part importante (62,5%) imputables aux coûts indirects [37].

## **II.1.2 Évaluation de l'asthme**

### **II.1.2.1 Évaluation clinique de l'asthme**

Dans la pratique clinique, le diagnostic de l'asthme peut être difficile en raison de l'absence de référence (gold standard). Il s'appuie sur la présence de deux caractéristiques distinctives : la présence de symptômes respiratoires et la limitation variable du débit expiratoire [27]. Selon les recommandations du GINA, la première étape du diagnostic est basée sur l'entretien avec le patient et son examen médical, et consiste à évaluer les signes et symptômes respiratoires caractéristiques de l'asthme tels que la respiration sifflante, l'essoufflement, la sensation d'oppression thoracique ou la toux. Ces symptômes varient au cours du temps et en intensité et apparaissent ou s'aggravent souvent la nuit ou au moment du réveil. Ces symptômes sont souvent déclenchés par des facteurs variés tels que la pratique d'exercice physique, le rire, les

allergènes, et les substances irritantes liées à l'exposition au tabac, à la pollution ou à des expositions professionnelles [27]. Si l'examen du patient oriente vers un diagnostic d'asthme, des tests de la fonction ventilatoire sont effectués, notamment l'évaluation de la limitation variable du débit expiratoire. La variabilité du débit expiratoire reflète la présence d'obstruction bronchique et correspond à une diminution du rapport de Tiffeneau-Pinelli qui est le rapport entre le volume expiratoire maximal par seconde (VEMS) et la capacité vitale forcée (CVF). Ce rapport est normalement supérieur à 0,75-0,80 chez l'adulte et supérieur à 0,85 chez l'enfant. En cas de diminution du VEMS, la variation du débit expiratoire peut être mesurée par un test de réversibilité qui évalue l'amélioration du VEMS suite à l'inhalation d'un bronchodilatateur. Il y a réversibilité si la différence entre le VEMS pré- et post-bronchodilatateur est supérieure à 12% et à 200mL, confirmant le diagnostic d'asthme [27]. La mesure de la fonction ventilatoire est réalisée au moment du diagnostic puis trois à six mois après le début du traitement, et ensuite annuellement.

### **II.1.2.2 Évaluation de l'asthme en épidémiologie**

En épidémiologie, l'asthme est le plus souvent évalué grâce à des questionnaires standardisés comme ceux utilisés dans deux des plus grandes études épidémiologiques sur l'asthme : l'European Community Respiratory Health Survey (ECRHS) chez les adultes [38] et l'International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) chez les enfants et les adolescents [39]. Dans ces questionnaires, l'asthme est souvent défini par la réponse positive à l'une des deux questions suivantes « *Avez-vous déjà eu des crises d'asthme ?* » ou « *Avez-vous déjà eu des crises d'étouffement au repos avec sifflement dans la poitrine ?* ». Ces questions peuvent-être complétées par des questions sur la confirmation du diagnostic par un médecin, la déclaration de symptômes respiratoires actuels et la prise de traitements. Les réponses à ces questions sont ensuite utilisées pour définir des caractéristiques de l'asthme telles que l'asthme actuel, les crises d'asthme ou le contrôle de l'asthme. Dans certaines



études, ces questionnaires sont accompagnés d'évaluations cliniques telles que les tests de la fonction ventilatoire ou l'hyperréactivité bronchiques [40].

### **II.1.3 Prise en charge de l'asthme**

Selon le GINA, l'objectif à long terme de la prise en charge de l'asthme est le maintien de son contrôle. Le contrôle de l'asthme peut être obtenu et maintenu par la diminution des risques et la maîtrise des symptômes, dans le but de réduire le poids de la maladie pour le patient, son risque de décès, d'exacerbations, de lésions des voies respiratoires et d'effets indésirables des médicaments [27].

Les traitements de l'asthme permettant de contrôler les symptômes et de réduire les risques d'exacerbations reposent essentiellement sur des médicaments, mais des thérapies et stratégies non pharmacologiques sont également préconisées. Les anti-inflammatoires et les bronchodilatateurs sont les deux piliers des traitements médicamenteux spécifiques pour l'asthme et sont utilisés dans une approche progressive [32]. En premier lieu, les traitements dits « de fond » comprenant les corticoïdes stéroïdiens inhalés (CSI) à faible dose ou les CSI à faible/moyenne dose couplés aux bêta-2 agonistes à longue durée d'action (BALA) sont utilisés comme traitement d'entretien quotidien en prévention sur le long terme. Puis, en accompagnement de ces traitements de fond, les traitements dits « de crise » comprenant les bêta-2 agonistes à courte durée d'action (BACA) sont utilisés pour soulager les symptômes aigus ou les crises. Enfin, pour les patients ayant un asthme sévère, des thérapies complémentaires peuvent être administrées incluant les corticoïdes stéroïdiens oraux à faible dose (CSO), les traitements aux anticorps monoclonaux anti-Immunoglobuline E (IgE) pour traiter l'asthme allergique sévère (ex : omalizumab), les traitements pour les patients présentant des antécédents d'exacerbations (ex : tiotropium), les traitements anti-Interleukine 5 pour traiter l'asthme éosinophilique sévère (ex : mepolizumab, reslizumab, benralizumab) [27, 30].

En parallèle du traitement pharmacologique, des mesures non médicamenteuses sont incluses dans la prise en charge globale de l'asthme. Ces mesures sont destinées à maîtriser les facteurs déclenchant et/ou aggravant les symptômes d'asthme et permettent d'améliorer le contrôle de l'asthme et la qualité de vie des patients asthmatiques [41]. Ces interventions non pharmacologiques sont de différents types et incluent : 1) la lutte contre le tabagisme qui est très bénéfique chez l'asthmatique puisqu'une amélioration de l'obstruction des voies aériennes est observée dès la 1<sup>ère</sup> semaine après arrêt ; 2) le contrôle de l'environnement intérieur et notamment l'exposition au tabagisme passif, aux polluants chimiques de l'air intérieur, et aux allergènes respiratoires domestiques ; 3) la réhabilitation respiratoire par la prise en charge multidisciplinaire globale incluant un réentraînement à l'effort, une reprise d'activités physiques adaptées, une éducation thérapeutique ou un auto-management selon un plan d'action personnalisé ; 4) la kinésithérapie respiratoire c'est-à-dire des exercices respiratoires pour ralentir la fréquence respiratoire, par exemple, l'entraînement à la respiration nasale, la respiration diaphragmatique, ou encore le yoga basé sur la relaxation et les pauses respiratoires [41]. Cependant, la plupart de ces interventions non pharmacologiques restent mal connues et ont des preuves d'efficacité variables.

#### **II.1.4 Etiologie de l'asthme**

L'asthme est une maladie multifactorielle qui résulte d'interactions complexes entre des facteurs génétiques, environnementaux, et comportementaux [42]. Les facteurs génétiques sont des facteurs non modifiables de l'asthme et jouent un rôle important dans la survenue de cette maladie, mais ne peuvent expliquer à eux seuls l'augmentation de la prévalence observée dans de nombreux pays au cours des dernières décennies [42, 43]. L'environnement ainsi que le changement du mode de vie sont des facteurs bien admis dans la littérature comme jouant un rôle dans l'asthme et font partie des facteurs modifiables [25, 43, 44].

### II.1.4.1 Facteurs génétiques

L'étude de gènes candidats est la première approche qui a permis de mettre en évidence des régions du génome associées à différents phénotypes d'asthme : la région 5q avec le complexe des interleukines (IL-3, 4, 5, 9 et 13), cytokines qui régulent la réponse immunitaire et allergique ; la région 6p21 avec le complexe d'histocompatibilité HLA (Human Leucocyte Antigen) ; la région 11q liée à l'atopie et contenant le gène codant pour la chaîne  $\beta$  du récepteur à haute affinité pour les IgE ; la région 12q liée aux IgE totales et l'asthme ; et enfin, la région 16p avec le gène codant pour la chaîne  $\alpha$  du récepteur de l'IL-4 [45].

Ces dernières années, le développement des études d'associations pangénomiques ou Genome Wide Association Study (GWAS) a permis d'identifier plus de 100 nouveaux gènes associés à l'asthme et à ses caractéristiques. Parmi ces études, l'une des plus larges est celle réalisée dans le cadre du consortium européen GABRIEL [46] qui a mis en évidence des loci associés à l'asthme : *IL1RL1*<sup>2</sup>/*IL18R1*<sup>3</sup> sur le chromosome 2q12, *HLA-DQ*<sup>4</sup> sur le chromosome 6p21, *IL33*<sup>5</sup> sur le chromosome 9p24, *SMAD3*<sup>6</sup> sur le chromosome 15q22, *GSDMB*<sup>7</sup>/*ORMDL3*<sup>8</sup> sur le chromosome 17q12 et *IL2RB*<sup>9</sup> sur le chromosome 22q13. Récemment, les résultats d'une étude GWAS de l'asthme de l'enfance et de l'asthme de l'adulte [47] ainsi qu'une méta-analyse des études GWAS de l'asthme des populations de diverses origines ethniques dans le monde [48] ont détecté plus de 30 nouveaux loci de susceptibilité à l'asthme.

Bien que les approches pangénomiques et candidates aient permis d'identifier de nombreux gènes, ils n'expliquent qu'une petite part de la composante génétique de l'asthme [25, 49, 50], probablement en raison de l'absence de prise en compte de l'hétérogénéité de cette maladie [26] et des interactions entre les facteurs génétiques et environnementaux. L'étude des

---

<sup>2</sup> IL1RL1 : Interleukin 1 Receptor Like 1

<sup>3</sup> IL18R1 : Interleukin 18 Receptor 1

<sup>4</sup> HLA-DQ : Major Histocompatibility Complex, Class II, DQ

<sup>5</sup> IL33 : Interleukin 33

<sup>6</sup> SMAD3 : SMAD Family Member 3

<sup>7</sup> GSDMB : Gasdermin B

<sup>8</sup> ORMDL3 : ORMDL Sphingolipid Biosynthesis Regulator 3

<sup>9</sup> IL2RB : Interleukin 2 Receptor Subunit Beta

interactions gène-environnement est d'un intérêt grandissant pour évaluer la part des facteurs génétiques dans la relation entre les facteurs environnementaux et l'asthme et inversement [7].

L'épigénétique qui se définit par les modifications héréditaires causées par l'activation et la désactivation de gènes sans modification de la séquence d'ADN [51] a également été suggérée comme jouant un rôle dans le développement de l'asthme [52, 53]. Les mécanismes épigénétiques incluent les modifications post-transcriptionnelles des histones, la méthylation de l'ADN ou la modification de l'expression des ARNs non codants [54] qui peuvent influencer l'expression des gènes associés à l'asthme en l'augmentant ou en la diminuant [54, 55].

#### **II.1.4.2 Facteurs comportementaux**

L'alimentation et l'obésité, la consommation de tabac et la pratique d'activités physiques représentent des facteurs de risque comportementaux modifiables de l'asthme [25, 56].

L'obésité était associée à l'asthme dans des études transversales aussi bien chez l'adulte que chez l'enfant avec un effet plus prononcé chez les femmes que chez les hommes [25, 57, 58]. L'obésité était également associée à différentes caractéristiques de l'asthme telles que la sévérité, l'asthme actuel ou encore la persistance de l'asthme [56, 59]. De même, dans des études longitudinales, l'obésité était associée à un risque d'asthme de l'adulte [60] et à un asthme mal contrôlé défini par les hospitalisations et la prise de traitements pour l'asthme [61].

La modification de l'alimentation peut avoir un effet bénéfique ou délétère pour l'asthme. Ainsi, des associations négatives ont été montrées entre la consommation de fruits et légumes ou de nutriments et le risque d'asthme et à l'inverse, des associations positives ont été montrées avec la consommation de charcuteries et de produits transformés [42, 44, 62, 63].

L'inactivité physique ou la sédentarité peut également avoir un impact sur le risque d'asthme [56, 64]. Bien que l'étude de ce facteur soit difficile en raison de la variation des méthodes de mesures entre les études, menant à des discordances dans leurs résultats [64–68], la pratique d'activité physique est recommandée pour améliorer la prévention et la prise en charge de l'asthme [41, 68].

La relation exacte entre le tabagisme et l'asthme est encore mal comprise [69]. Néanmoins, des associations entre l'histoire tabagique et une augmentation de la sévérité de l'asthme ou une accélération du déclin de la fonction ventilatoire chez des patients asthmatiques [70, 71] ont été rapportées. Des associations ont également été observées entre le tabagisme parental et le développement de l'asthme chez l'enfant [71].

#### **II.1.4.3 Facteurs environnementaux**

Bien que le rôle exact de l'environnement dans le développement de l'asthme ne soit pas encore complètement compris, il est largement admis que les facteurs environnementaux jouent un rôle clé dans l'apparition et l'expression de l'asthme [43, 72].

Parmi les facteurs environnementaux, l'exposition à la pollution de l'air extérieur mesurée à travers la concentration des particules fines (PM10, PM2.5) ou l'ozone (O3) était associée à l'asthme dans de nombreuses études [73] ainsi qu'à différentes caractéristiques telles que les exacerbations [74], la sévérité, l'asthme mal contrôlé ou la fonction ventilatoire basse [75]. Des expositions dans l'environnement intérieur, notamment l'exposition aux allergènes des animaux domestiques et des acariens, ont été associées au développement de l'asthme allergique et à ses exacerbations [43, 72, 76]. Des études sur l'association entre l'exposition aux moisissures et le développement de l'asthme et ses exacerbations chez les enfants et chez les adultes ont été rapportées dans une récente revue de la littérature ; chez les adultes, les études longitudinales étaient limitées en nombre, ne permettant pas de conclure à une relation

causale [77]. Parmi les expositions domestiques, les expositions aux produits de nettoyage pourraient également être à risque pour l'asthme, particulièrement chez les femmes. L'utilisation fréquente des produits de nettoyage sous forme de sprays était associée à l'incidence de l'asthme [78, 79], à un asthme mal contrôlé [80] et à une valeur élevée de la fraction exhalée de monoxyde d'azote (FeNO), un marqueur biologique de l'inflammation des voies respiratoires [81]. L'utilisation d'eau de javel à domicile était associée à un asthme non allergique chez les femmes [82].

Enfin, les expositions professionnelles étaient également associées à l'incidence de l'asthme et à ses exacerbations chez l'adulte [43, 72]. *Ces expositions et leur rôle dans l'asthme seront présentés en détail dans la suite du manuscrit (cf [Partie II.3](#)).*

Il existe des interrelations entre les facteurs environnementaux, professionnels et comportementaux et ces facteurs se distribuent selon un gradient social. Ainsi, le rôle des facteurs socio-économiques dans l'asthme est de plus en plus étudié. Un niveau socioéconomique bas était associé à une prévalence et un risque élevé d'asthme [31, 83]. Cependant le rôle de ce facteur dans l'asthme est encore mal compris et des discordances dans les résultats ont été observées entre les études [84–86].

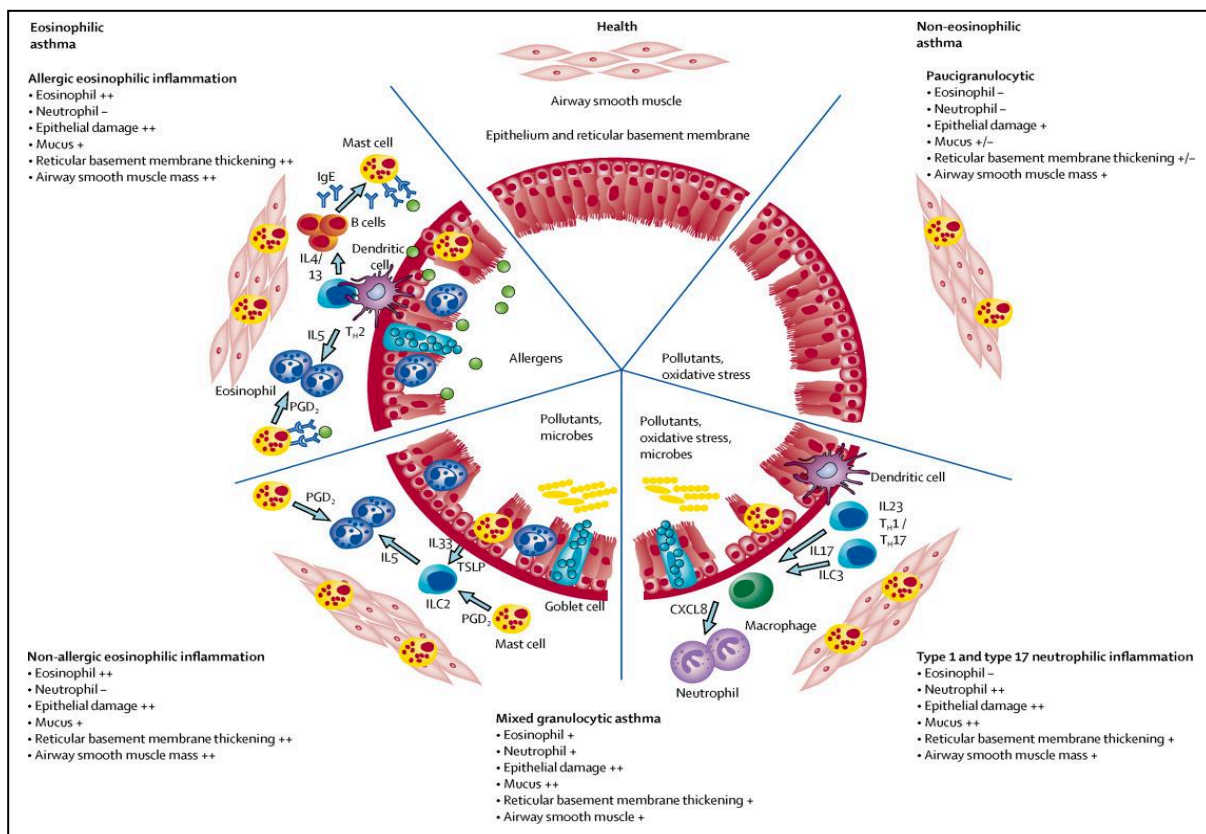
#### **II.1.4.4 Différence de genre et de sexe**

Une disparité selon le sexe existe dans la survenue de l'asthme. Durant l'enfance, la prévalence de l'asthme est plus élevée chez les garçons que chez les filles, mais après la puberté, ce rapport s'inverse [32, 84]. Durant l'enfance, l'asthme chez les garçons est plutôt un asthme allergique [87], et à l'âge adulte, les femmes ont un risque plus important que les hommes de développer un asthme non allergique [88]. Cette différence selon le sexe pourrait

s'expliquer par des caractéristiques physiques telles qu'une différence de calibre des voies respiratoires, ou biologiques comme un rôle des hormones sexuelles, et également par une différence d'expositions aux facteurs de risque environnementaux et comportementaux selon le genre comme le tabagisme, et les expositions professionnelles ou domestiques [25, 70, 87–90].

## II.1.5 Mécanismes physiopathologiques de l'asthme

Les symptômes respiratoires et la limitation variable du débit expiratoire qui caractérisent l'asthme sont associés à une inflammation et à un remodelage des voies respiratoires [32]. L'inflammation et l'allergie sont les principaux mécanismes physiopathologiques associés à l'asthme. Les deux cellules inflammatoires majeures dans l'asthme sont les éosinophiles et les neutrophiles. L'inflammation peut être classée en inflammation éosinophilique allergique ou non, et en inflammation non éosinophilique paucigranulocytaire ou neutrophilique. L'asthme associé à une inflammation éosinophilique est l'asthme le plus étudié (Figure 1) [3, 32].



**Figure 1 : Mécanismes physiopathologiques de l'asthme.**  
Figure issue de l'article de Papi *et al.* [32].

L'**inflammation éosinophilique** peut se différencier en éosinophilique allergique et en éosinophilique non allergique. L'inflammation éosinophilique allergique est caractérisée par une inflammation médiée par des cellules Th2 spécifiques d'un antigène (allergène), par une sécrétion des interleukines IL-4, IL-5 et IL-13 par ces cellules Th2 ainsi que d'autres cellules, par une dégranulation des mastocytes et des basophiles médiée par les IgE, et par une activation des éosinophiles [3, 32]. L'inflammation éosinophilique non allergique est générée par la présence d'irritants/polluants ou de microbes qui provoquent des lésions au niveau de l'épithélium respiratoire, accompagnées d'une libération d'IL-25, d'IL-33 et de TSLP (lymphopoïétine stromale thymique). Cette libération de médiateurs stimule les cellules lymphoïdes innées activées (ILC2), une importante source d'IL-5 et d'IL-13 et favorise l'activation des éosinophiles, conduisant à une hyperréactivité des voies respiratoires. Dans l'inflammation éosinophilique non allergique, les IgE spécifiques de l'antigène ne sont pas prédominantes en raison de l'absence de production d'IL-4 [3, 32].

L'**inflammation non éosinophilique** (paucigranulocytaire ou neutrophilique) reste encore mal connue et a été peu étudiée. L'inflammation neutrophilique se caractérise par une voie immunitaire innée qui est activée suite à une infection virale ou bactérienne ou suite à une exposition environnementale à des irritants tels que l'ozone, les particules fines ou les produits chimiques contenant des substances irritantes. Ces agents peuvent activer les récepteurs de type Toll (Toll-like receptor) et les cellules différenciées CD14 sur les cellules épithéliales et les macrophages conduisant à l'activation du facteur de transcription nucléaire kappa B (NF- $\kappa$ B), qui participe à l'entretien d'un état inflammatoire. Cette activation est suivie d'une production accrue d'IL-8 qui recrute des neutrophiles activés dans les voies respiratoires. La voie biologique du stress oxydant peut également contribuer à l'inflammation neutrophilique et inversement [3, 32].



Le **stress oxydant** correspond à un déséquilibre entre les espèces réactives de l'oxygène et les défenses antioxydantes de l'organisme en faveur des premières [15, 91]. Ce déséquilibre qui crée un environnement plus oxydant dans l'organisme est présent dans l'asthme et est lié à la physiopathologie des symptômes et signes caractéristiques, y compris la limitation du débit d'air expiratoire, l'hyperréactivité et le remodelage des voies respiratoires. La production d'espèces réactives de l'oxygène peut être due à des sources endogènes telles que les cellules de l'inflammation ou à des sources exogènes telles que les expositions environnementales irritantes [15, 91].

## **II.1.6 Hétérogénéité de l'asthme**

L'asthme est une maladie hétérogène qui peut évoluer au cours du temps et qui peut apparaître dans l'enfance ou à l'âge adulte [32]. L'asthme peut rester stable tout au long de la vie, disparaître pendant plusieurs années, réapparaître ou s'aggraver, et sa sévérité et sa fréquence varient d'une personne à l'autre. Considéré au départ comme étant une maladie unique, il est maintenant communément admis qu'il n'y a pas une maladie asthmatique mais des maladies asthmatiques caractérisées par différentes manifestations cliniques (ex : toux, sifflements, crises d'asthme, exacerbations), fonctionnelles (ex : fonction ventilatoire), biologiques (ex : IgE, éosinophiles, neutrophiles), et liées à l'étiologie (ex : facteurs environnementaux dont professionnels) [45, 83, 92].

### **II.1.6.1 Phénotypes et endotypes d'asthme**

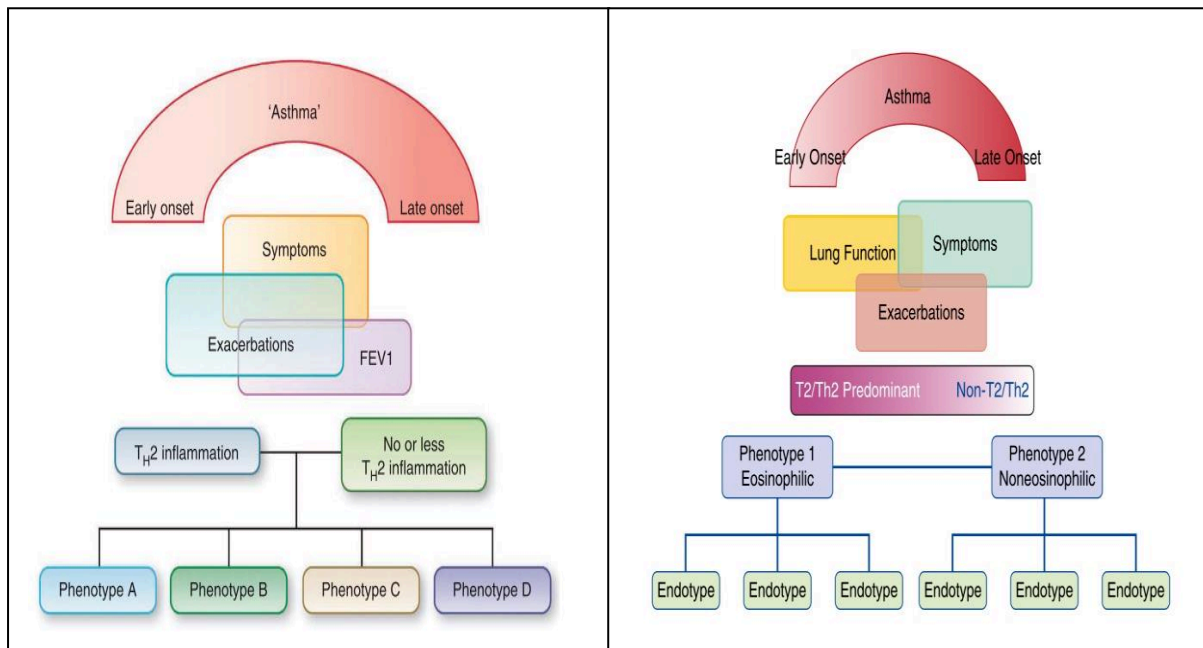
Afin de mieux comprendre l'hétérogénéité de l'asthme, plusieurs groupes d'experts dont récemment une commission du *Lancet*, ont recommandé de déconstruire l'asthme en composants identifiables et traitables [23]. L'identification de traits traitables présentant des

caractéristiques cliniques ou moléculaires spécifiques qui pourraient être ciblés par un traitement pourrait aider à comprendre de quel type d'asthme un patient souffre et comment il devrait être traité [4, 6, 32].

L'hétérogénéité de l'asthme peut être approchée d'une part par la caractérisation de différents **phénotypes**, définis comme un ensemble de caractéristiques observables résultant de l'interaction entre le génotype et l'environnement [3, 93–95]; d'autre part, par la caractérisation d'**endotypes** – contraction du terme endophénotypes – c'est-à-dire des sous-types de la maladie définis fonctionnellement et pathologiquement par un mécanisme moléculaire ou par une réponse au traitement [4, 5, 96, 97] (Figure 2). Les endotypes sont donc des caractéristiques observées d'un phénotype associées à des mécanismes biologiques spécifiques [3].

Le contexte dans lequel ces phéno/endotypes étaient définis a beaucoup évolué ces dernières années parallèlement aux approches utilisées pour les identifier, et l'utilisation du terme endotypes ou phénotypes n'est pas consensuelle (Figure 2) [3, 95]. Jusqu'au début des années 2010, la majorité des études dans la littérature utilisaient le terme phénotype [95], que ce phénotype soit défini uniquement par des caractéristiques cliniques telles que l'asthme à âge de début précoce ou également par des caractéristiques biologiques comme l'asthme éosinophilique ou l'asthme allergique. Puis d'autres études, après avoir identifié des groupes à partir de caractéristiques cliniques, ont étudié leur association avec des caractéristiques biologiques (éosinophiles, neutrophiles, IgE, ...) et ont indifféremment utilisé le terme endotype ou phénotype [5]. Enfin, d'autres études ont identifié des groupes à partir de caractéristiques cliniques et biologiques ou uniquement biologiques et ont utilisé le terme d'endotype [98].

Comme l'ensemble de ces définitions impliquent de manière implicite un mécanisme biologique sous-jacent spécifique et se rapprochent plus de la définition d'un endotype et pour simplifier le propos, le terme endotype a été choisi pour parler des différents sous-types d'asthme définis par des caractéristiques cliniques et/ou biologiques dans la suite de ce manuscrit.



**Figure 2 : Hétérogénéité de l'asthme – Évolution des termes phénotypes et endotypes.**

Figure issue des articles de Wenzel *et al.* et de Carr *et al.* [3, 95]

### II.1.6.2 Approches pour identifier les endotypes

Pour identifier des endotypes, deux approches peuvent être utilisées : d'une part, l'**approche candidate** qui définit des endotypes *a priori* sur la base d'une ou quelques caractéristiques de la maladie. Ainsi, l'âge de début d'asthme, la sévérité ou le statut allergique sont des éléments discriminants pour définir ces endotypes [83, 93]. D'autre part, l'**approche non supervisée** ou "data-driven" utilise des approches de classification, par exemple la classification hiérarchique ou non hiérarchique ou les classifications « model-based » telles que les analyses en classes latentes ou les modèles bayésiens [99]. Cette approche permet de mieux comprendre l'hétérogénéité de l'asthme en définissant des sous-groupes ou clusters

homogènes de patients à partir d'un large ensemble de données observées, incluant des caractéristiques cliniques, fonctionnelles ou biologiques [99, 100]. Les études qui ont identifié des endotypes en intégrant simultanément des caractéristiques cliniques et biologiques sont peu nombreuses et la majorité d'entre-elles ont catégorisé les variables biologiques continues [99] induisant probablement une perte d'informations. Les approches non supervisées sont complémentaires des approches *a priori* car les connaissances apportées par ces dernières sont intégrées dans les approches non supervisées.

### **II.1.6.3 Différents endotypes d'asthme**

Les endotypes d'asthme ont souvent été définis chez les patients ayant un asthme sévère résistant aux traitements anti-inflammatoires classiques, afin de mieux caractériser ce type d'asthme et de développer un traitement adapté. Une revue de la littérature a récemment décrit des études qui ont identifié des endotypes d'asthme chez des patients majoritairement avec un asthme sévère [5]. Ces études présentaient des différences au niveau de la population d'étude (adultes et/ou enfants), les caractéristiques utilisées dans les analyses de classification (cliniques, fonctionnelles et/ou biologiques), les approches statistiques utilisées (approche candidate ou non supervisée) ainsi que le nombre de clusters identifiés. Néanmoins, malgré ces différences, les résultats de ces études suggéraient qu'il y avait approximativement quatre endotypes primaires de l'asthme : 1) l'asthme allergique léger à début précoce, 2) l'asthme allergique modéré à sévère à début précoce 3) l'asthme non allergique éosinophilique à début tardif, et 4) l'asthme non allergique non éosinophilique à début tardif.

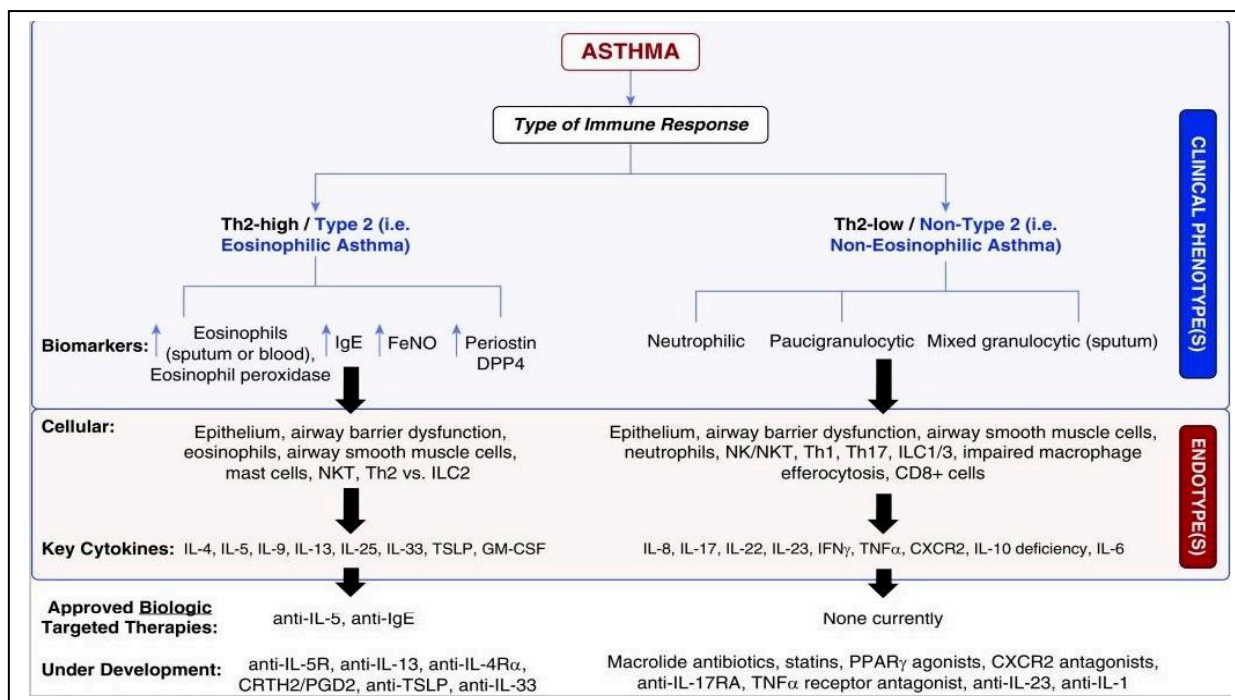
Différents facteurs environnementaux et comportementaux peuvent influencer le développement et l'expression de l'asthme et peuvent donc être associés à des endotypes spécifiques. Ainsi, d'autres endotypes tels que l'asthme lié à l'obésité, l'asthme professionnel, l'asthme induit par la prise d'aspirine ou encore l'asthme lié à la consommation de tabac ont été suggérés [3, 83, 95].

Bien que certains endotypes d'asthme puissent partager des caractéristiques cliniques, des mécanismes biologiques spécifiques peuvent être associés à chacun de ces endotypes. Jusqu'à ce jour, c'est surtout la voie de la réponse immunitaire/inflammatoire médiée ou non par les cellules lymphocytes T helper de type 2 (Th2/nonTh2) qui a été étudiée en lien avec des endotypes. A notre connaissance, aucune étude n'a recherché des endotypes définis par des caractéristiques biologiques liées à des voies biologiques autres que celles de l'inflammation et de l'allergie.

#### **II.1.6.4 Mécanismes biologiques et endotypes d'asthme**

Les mécanismes biologiques impliqués dans l'asthme éosinophilique sont maintenant bien connus et plusieurs études ont défini des endotypes d'asthme à partir de caractéristiques cliniques, du nombre d'éosinophiles et de marqueurs biologiques, mesurés dans le crachat ou dans le sang. Ces marqueurs biologiques étaient soit des médiateurs de l'inflammation éosinophilique allergique tels que les éosinophiles, les IgE, l'IL-4, l'IL-5 ou l'IL-13, soit des médiateurs de l'inflammation éosinophilique non allergique tels que l'IL-25, l'IL-33 ou le TSLP [3, 5, 101–103]. Les patients ayant un endotype lié à l'asthme éosinophilique étaient caractérisés par la présence en quantité élevée, dans le sang ou dans le crachat, d'éosinophiles et de médiateurs de l'inflammation que sont les IgE et les interleukines cités en exemple ci-dessus. Comme ces marqueurs biologiques appartiennent à un mécanisme de l'inflammation médiée par les cellules Th2, il a été suggéré que les endotypes d'asthme caractérisés par un niveau élevé en ces marqueurs seraient définis sous le terme "Th2/T2 high" ou "Th2/T2" [95, 104]. La caractérisation et l'identification d'endotypes de l'asthme éosinophilique ont permis de développer des traitements pour les patients avec un asthme sévère résistant aux traitements anti-inflammatoires classiques (Figure 3) [3, 105].

Concernant l’asthme non éosinophilique, les mécanismes biologiques restent mal compris et bien que des endotypes d’asthme non éosinophilique aient été définis dans la littérature, ces endotypes étaient souvent caractérisés par l’absence ou la présence mais en quantité faible, dans le sang ou dans le crachat des patients, de cellules inflammatoires éosinophiles ou des médiateurs de l’inflammation éosinophilique [3, 5, 101–103]. Il a donc été suggéré que ces endotypes caractérisés par un niveau faible de ces marqueurs de l’inflammation éosinophilique seraient définis sous le terme “Th2/T2 low” ou “non Th2/T2” [95, 104]. Ces endotypes étaient également caractérisés par la présence en quantité élevée de neutrophiles (asthme neutrophilique) ou par la présence mais en quantité très faible d’éosinophiles et de neutrophiles (asthme paucigranulocytaire). Comme les voies biologiques associées à l’asthme non éosinophilique ne sont pas complètement connues, aucun traitement spécifique à ce type d’asthme n’a été développé à ce jour (Figure 3). La figure 3 illustre les deux grands mécanismes inflammatoires liés à l’asthme et les endotypes associés ainsi que les principales cibles thérapeutiques.



**Figure 3 : Mécanismes biologiques, endotypes et options thérapeutiques de l’asthme éosinophilique et non éosinophilique.**

Figure issue de l’article de Carr *et al.* [3]

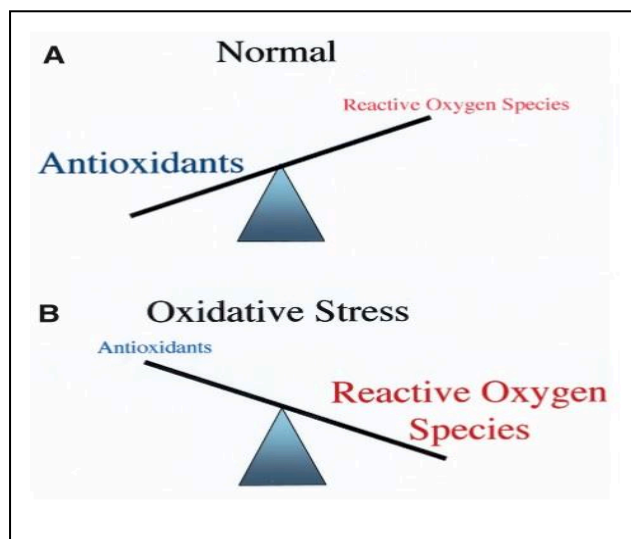
## **II.1.7 Synthèse de l'état des connaissances sur l'asthme**

Ce premier chapitre a présenté l'état des connaissances sur l'hétérogénéité de l'asthme qui est reflétée par différents endotypes. A ce jour, les principaux endotypes d'asthme ont été identifiés à partir de marqueurs biologiques associés à l'inflammation éosinophilique. Des endotypes associés à l'inflammation non éosinophilique ont également été suggérés, mais les études portant sur la caractérisation de ces sous-types d'asthme sont rares. L'identification d'endotypes par des approches intégrant simultanément des caractéristiques cliniques de l'asthme et des marqueurs biologiques liés à l'inflammation non éosinophilique telle que l'inflammation neutrophilique et au stress oxydant pourrait aider à mieux comprendre les mécanismes biologiques et approfondir la connaissance de l'hétérogénéité de l'asthme.

## II.2 Rôle du stress oxydant dans l'asthme

### II.2.1 Définition du stress oxydant

Le stress oxydant est proposé comme jouant un rôle important dans de nombreuses maladies respiratoires chroniques dont la bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) et l'asthme [15, 16, 106]. Les manifestations symptomatiques des maladies respiratoires chroniques résultent en partie de la libération de médiateurs par de nombreuses et différentes cellules circulantes. Le poumon est une porte ouverte sur l'environnement et l'épithélium pulmonaire peut-être exposé à des oxydants que sont les espèces réactives de l'oxygène (EROs). **Une production continue et importante d'EROs peut dépasser les défenses antioxydantes de l'organisme, amenant un déséquilibre dans la balance oxydants/antioxydants en faveur des EROs (Figure 4). Ce déséquilibre appelé stress oxydant est à l'origine de nombreux dommages pulmonaires.** De plus, l'inflammation est souvent associée à une génération importante d'EROs [15, 16, 91, 107, 108].



**Figure 4 : Schéma du stress oxydant.**

A : Normalement, il y a suffisamment d'antioxydants dans les voies respiratoires pour que la production d'une petite quantité d'espèces réactives de l'oxygène soit sans conséquence.

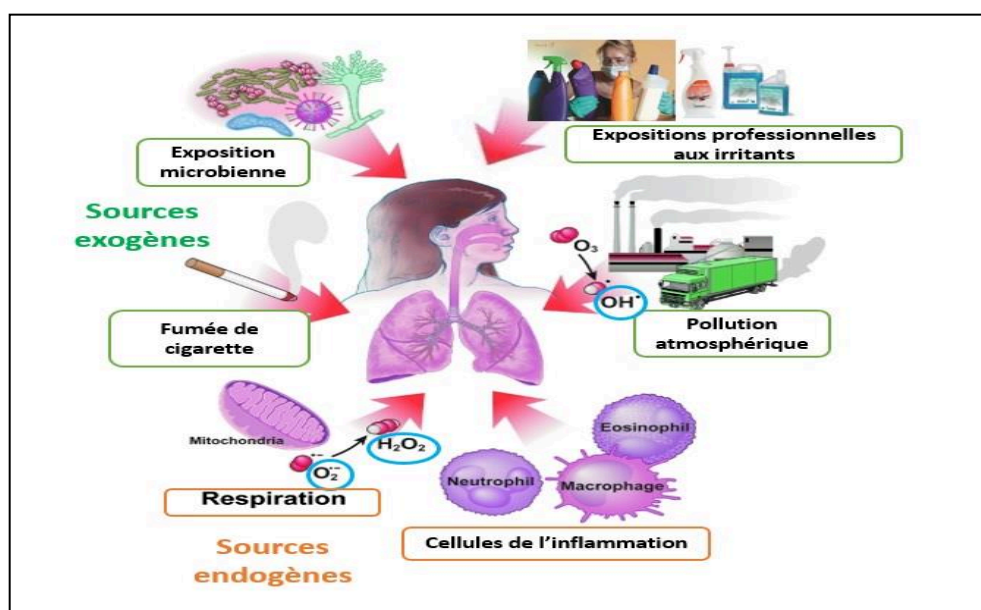
B : La diminution des antioxydants ou l'augmentation de la production d'EROs, induit un déséquilibre dans la balance antioxydants/oxydants en faveur des oxydants.

Figure issue de l'article de Bowler et Crapo [108].



## II.2.2 Sources endogènes et exogènes des espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène peuvent être générées de manière endogène par des organites cellulaires, des enzymes ou des cellules de l'inflammation (Figure 5) [16, 91, 107]. L'anion superoxyde ( $O_2^-$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et le radical hydroxyle ( $HO^\cdot$ ) sont les principales EROs. Ils sont produits notamment lors de la réponse de l'organisme à l'exposition à des microorganismes tels que des virus ou des bactéries (Figure 5).



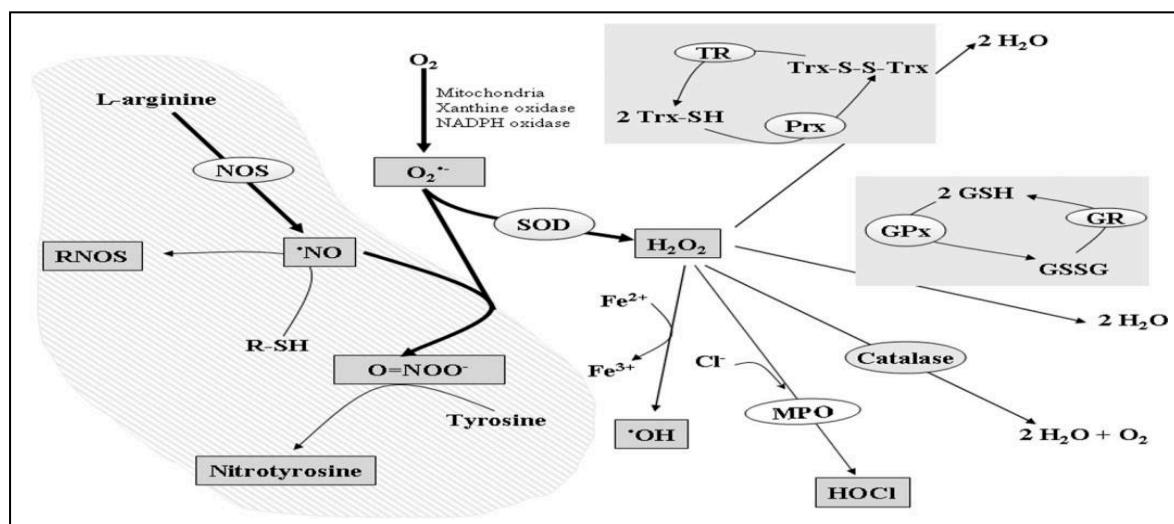
**Figure 5 : Sources endogènes et exogènes des espèces réactives de l'oxygène.**

Figure adaptée de l'article de Comhair *et al.* [15]

Ces EROs peuvent également être générées de manière exogène suite à la pénétration dans le poumon de particules de la pollution atmosphérique telles que l'ozone, le monoxyde d'azote, ou la fumée de diesel, de la fumée de cigarette ou d'agents présents dans l'environnement professionnel (Figure 5). Suite à l'exposition à ces facteurs environnementaux, les cellules de l'épithélium pulmonaire sont activées, libérant les EROs, causant ou amplifiant l'inflammation des voies respiratoires. Ces modifications vont entraîner un remodelage des voies respiratoires avec une production de mucus causant l'obstruction des bronches, qui sont des caractéristiques de l'asthme [91, 107, 108].

## II.2.3 Marqueurs de défense et de dommages liés au stress oxydant

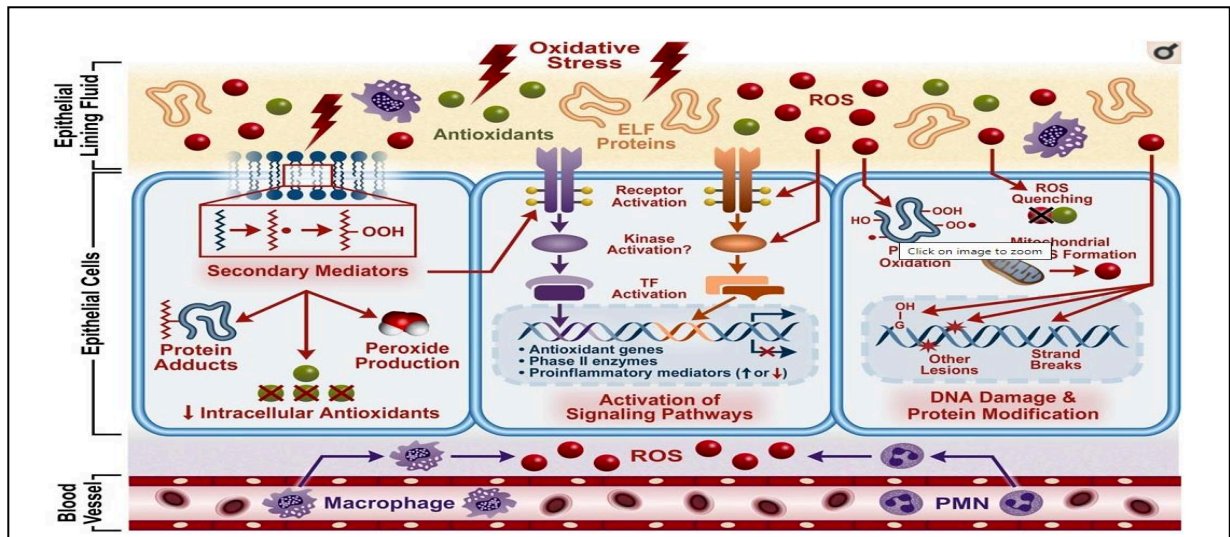
Les marqueurs de défense ou antioxydants sont constitués de marqueurs non enzymatiques et de marqueurs enzymatiques. Les principaux antioxydants non enzymatiques sont les nutriments antioxydants tels que les vitamines E, A et C, les caroténoïdes et le glutathion. Les principaux antioxydants enzymatiques sont la  $\text{Cu}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$ superoxyde dismutase (SOD), une enzyme oxydoréductase qui va transformer l'anion superoxyde ( $\text{O}_2^-$ ) en peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ); la catalase (CAT) qui est également une enzyme oxydoréductase transformant l' $\text{H}_2\text{O}_2$  en eau, enfin la glutathion peroxydase couplée au sélénium (GSH-Px ou GPx) qui peut également transformer l' $\text{H}_2\text{O}_2$  en eau (Figure 6) [15, 16, 109]. Les enzymes antioxydantes sont des marqueurs d'effets biologiques précoces ou marqueurs de réponse aux stimuli environnementaux oxydants et constituent une première ligne de défense contre les espèces réactives de l'oxygène [17, 91]. Les érythrocytes représentent une importante défense antioxydante circulante capable de pénétrer dans les capillaires pulmonaires et sont connus pour jouer un rôle essentiel dans la protection du poumon [110, 111].



**Figure 6 : Marqueurs de la réponse au stress oxydant et production d'espèces réactives de l'oxygène dans le poumon.**

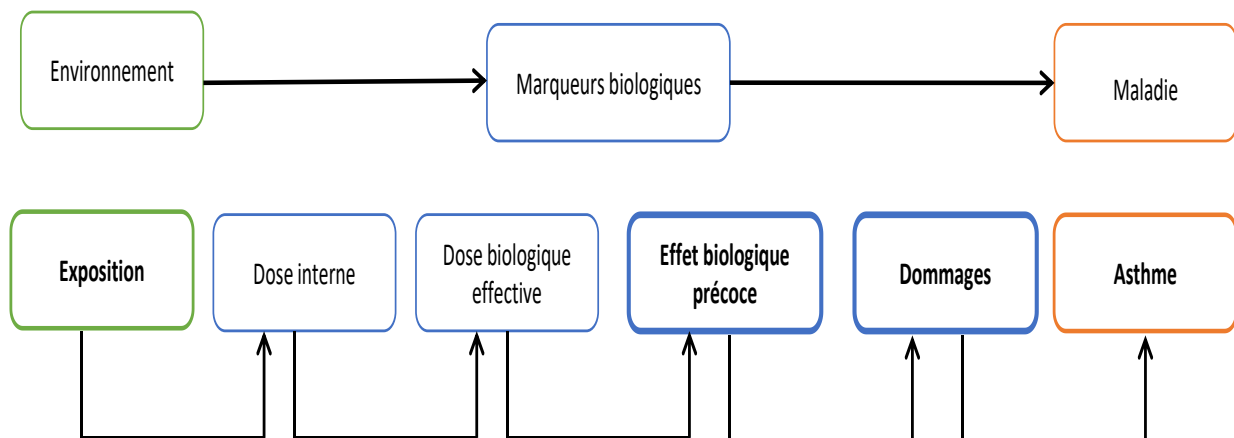
Figure issue de l'article de Zhao *et al.* [112]. GPx, glutathion peroxydase; GR, glutathion réductase; GSH, glutathion; GSSG, glutathion disulfure; MPO, myéloperoxydase; NADPH oxydase, nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxydase; NOS, oxyde nitrique synthétase; Prx, peroxyredoxine; RNOS, espèces réactives de l'azote; SOD, superoxyde dismutase; TR, thioredoxine réductase; Trx, thioredoxine; Trx-S-S-Trx, thioredoxine disulfure.

Lorsque la production d'EROs ne peut être contenue par les défenses antioxydantes, les EROs peuvent créer des dommages à de nombreuses macromolécules telles que les protéines, les lipides et l'ADN *via* un processus d'oxydation (Figure 7) [16, 113]. Les produits de ce processus d'oxydation constituent donc des “signatures” des dommages causés par le stress oxydant.



**Figure 7 : Schéma des processus d'oxydation causant les dommages liés au stress oxydant.**  
Figure issue de l'article de Ciencewicki *et al.* [114].

Les marqueurs biologiques liés au stress oxydants se situent sur le continuum entre l'exposition et la maladie (Figure 8) [17]. Ils peuvent être mesurés dans différents compartiments biologiques tels que le plasma, les érythrocytes, le sérum, l'urine, le lavage bronchoalvéolaire ou le condensat de l'air expiré [18, 108, 115] et sont donc d'un grand intérêt pour étudier la voie du stress oxydant dans l'asthme [16].



**Figure 8 : Représentation de la relation entre l'exposition environnementale, les marqueurs biologiques et l'asthme.**

Figure adaptée de l'article de Schulte *et al.* [17].

## II.2.4 Espèces réactives de l'oxygène et marqueurs biologiques liés au stress oxydant dans l'asthme

Pour étudier la voie du stress oxydant dans l'asthme, il est possible de mesurer directement les espèces réactives de l'oxygène elles-mêmes, le pH ou les marqueurs de réponses ou de dommages. Néanmoins, les mesures des EROs et du pH sont complexes car elles nécessitent des échantillons frais non congelés, de plus, la mesure du pH requière un volume conséquent (200 à 300 mL) et les EROS ont un temps de demi-vie très courte (de l'ordre de quelques millisecondes) [108].

### II.2.4.1 Espèces réactives de l'oxygène et pH

Des revues de la littérature [108, 116, 117] ont rapporté une augmentation de la production des EROs dans l'air expiré de patients asthmatiques, et cette augmentation était inversement corrélée à la fonction ventilatoire. Des études répertoriées dans la revue de Konstantinidi *et al.* [116] ont également montré que la concentration en  $H_2O_2$  dans le condensat était corrélée avec la sévérité et l'asthme mal contrôlé. Des études répertoriées dans la revue de Montuschi

*et al.* [117] ont montré que la concentration en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> était plus élevée chez des patients asthmatiques que chez des participants sains non fumeurs. La concentration en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dans le condensat était encore plus élevée chez des enfants avec un asthme aigu mais pas chez des adultes avec un asthme instable comparés à des participants non asthmatiques.

L'acidification des voies respiratoires a été montrée comme étant associée à la physiopathologie de l'asthme [18]. Or la stabilité et l'activité biologique de nombreuses EROs sont pH-dépendantes [117]. La mesure du pH dans le condensat est souvent réalisée simultanément à la mesure des marqueurs biologiques liés au stress oxydant. Des études ont montré que le condensat des patients avec un asthme aigu avait un pH plus acide, qui devenait neutre après traitement par les corticostéroïdes [117]. Dans la revue de Konstantinidi *et al.*, les études ont montré des résultats discordants [116]. En effet, certaines études ont observé un pH plus acide chez des patients avec un asthme stable comparés à des participants en bonne santé et ce pH devenait encore plus acide durant les exacerbations de l'asthme, tandis que d'autres n'ont montré aucune différence significative du pH entre des patients avec un asthme stable et des participants témoins. Cependant, la taille d'échantillon dans ces études était différente, celles qui ont montré une association significative avaient un effectif faible tandis que celles qui n'ont pas montré d'association avaient un effectif élevé. D'autres études sont nécessaires pour mieux comprendre l'intérêt de la mesure du pH dans l'étude du stress oxydant dans l'asthme.

#### **II.2.4.2 Marqueurs de réponse au stress oxydant**

Pour évaluer le rôle du stress oxydant dans l'asthme, plusieurs études épidémiologiques ont mesuré les activités enzymatiques de la SOD, de la GPX et de la CAT dans les érythrocytes, le sérum ou le plasma de patients asthmatiques adultes en comparaison à des participants en bonne santé. Le Tableau 1 présente les résultats des études épidémiologiques pour les associations entre ces marqueurs dans les érythrocytes et l'asthme. Globalement, ces études ont montré une différence significative de l'activité enzymatique de ces trois marqueurs de réponse entre les asthmatiques et les participants témoins avec des discordances dans les résultats. En effet, certaines études ont montré que l'activité enzymatique de la GPX ou de la SOD était plus élevée chez les participants asthmatiques comparés aux témoins, tandis que d'autres études ont montré qu'elle était plus faible. Certaines de ces études ont également montré des corrélations entre les marqueurs et la fonction ventilatoire, notamment une corrélation positive entre la GPX et le VEMS [118, 119] et une corrélation négative entre la SOD et le VEMS [118].

**Tableau 1 : Exemples d'études portant sur l'association entre les activités enzymatiques de la SOD, GPX et CAT, mesurées dans les érythrocytes, et l'asthme et la fonction ventilatoire.**

Auteurs	Design et Population	Marqueurs biologiques	Résultats
<b>Ghosh S. <i>et al.</i> [20]</b>	Etude cas-témoins 25 asthmatiques et 37 témoins (âge moyen 35 et 38 ans respectivement).	SOD sous la forme cuivre-zinc cytosolique (CuZnSOD)	Diminution de l'activité enzymatique de la CuZnSOD chez les asthmatiques comparés aux témoins.
<b>Ahmad A <i>et al.</i> [118]</b>	Etude cas-témoins 130 patients avec asthme bronchique (12 à 83 ans) et 70 témoins (10 à 75 ans).	SOD, CAT et GPX	Diminution des activités enzymatiques de SOD, GPX et CAT chez les patients asthmatiques comparés à celles des témoins. Différence significative des activités de GPX et CAT selon la sévérité de l'asthme. Corrélation positive et significative entre GPX et VEMS chez cas et témoins, tandis que corrélation négative et significative entre SOD et VEMS chez asthmatiques et corrélation positive chez témoins. Pas de corrélation significative entre CAT et VEMS chez asthmatiques mais corrélation positive chez témoins.
<b>Yang Li-Ling <i>et al.</i> [120]</b>	Etude cas-témoins appariés sur âge et sexe. Age : 18-74 ans 250 adultes asthmatiques et 250 témoins.	SOD CAT (dans le plasma)	Activité enzymatique de la SOD plus faible chez les asthmatiques comparés aux témoins. Activité enzymatique de la CAT plus élevée chez les asthmatiques. Corrélation positive et significative entre SOD et VEMS.
<b>Mak J.C.W <i>et al.</i> [121]</b>	Etude cas-témoins 251 patients asthmatiques et 316 témoins (âge moyen 41 et 51 ans respectivement)	SOD et CAT	Activité enzymatique de SOD et CAT plus élevée chez asthmatiques comparés aux témoins.
<b>Ochs-Balcom <i>et al.</i> [119]</b>	Etude transversale en population générale (n=2346). Age : 35 à 79 ans	GPX	Association positive entre GPX et VEMS et entre GPX et CVF chez les hommes. Pas d'association significative chez les femmes. De même, association significative positive entre GPX et VEMS et CVF chez les hommes ex-fumeurs.

---

**Tableau 1 (suite)**

<b>Mak J.C.W <i>et al.</i></b> <b>[122]</b>	Etude cas-témoins 135 participants témoins (âge moyen 47 ans) et 139 participants asthmatiques (âge moyen 42 ans)	CAT, SOD et GPX	Activité enzymatique de SOD et CAT plus élevée tandis que celle de GPX plus faible chez les asthmatiques comparés aux témoins. Corrélation positive et significative entre SOD et GPX chez les patients asthmatiques.
<b>Nadeem A. <i>et al.</i></b> <b>[123]</b>	Cas-témoins appariés sur âge. 38 patients avec un asthme bronchique (âgés de 15 à 40 ans) et 23 témoins non fumeurs.	SOD, GPX et CAT	Activité de la SOD plus élevée chez les asthmatiques comparés aux témoins. Pas de différence significative de l'activité de la CAT entre les asthmatiques et les témoins. L'activité de GPX plus faible chez les asthmatiques comparés aux témoins.

---

GPX : glutathion peroxydase ; SOD : superoxyde dismutase ; CAT : catalase ; VEMS : volume expiratoire maximal par seconde ; CVF : capacité vitale forcée.  
*Dans le cadre de cette thèse, les activités de la SOD, de la GPX et de la CAT ont également été dosées dans les érythrocytes.*

---



### **II.2.4.3 Marqueurs de dommages liés au stress oxydant**

Les espèces réactives de l'oxygène peuvent causer de nombreux dommages pulmonaires, notamment au niveau de macromolécules comme les protéines ou l'ADN en provoquant des modifications structurales, ou les lipides en réagissant avec ces derniers pour libérer des éthanes et des isoprostanes [16, 108].

#### **➤ Marqueurs de dommages au niveau des protéines**

Les EROs peuvent réagir avec des protéines pour former des groupements carbonyles, et réagir avec des espèces réactives d'azote et la tyrosine pour former la 3-nitrotyrosine (3-NT) [108]. Une étude a mesuré la concentration de 3-NT dans l'air expiré chez des participants non asthmatiques non fumeurs et des patients asthmatiques avec un asthme léger, un asthme modéré ou un asthme sévère. Une concentration plus élevée en 3-NT était mesurée chez les patients avec un asthme léger comparé aux non asthmatiques, tandis que la concentration en 3-NT était plus faible chez les patients avec un asthme modéré et sévère traités avec des corticostéroïdes comparés aux non asthmatiques [124]. De même, la concentration en 3-NT était plus élevée dans le crachat induit de patients asthmatiques comparés à des témoins [125]. La concentration en 3-NT était également plus élevée dans le lavage bronchoalvéolaire de patients avec un asthme sévère comparés à des non asthmatiques [126]. De plus, la concentration en 3-bromotyrosine, un autre marqueur spécifique de la modification des protéines par les EROs, dans le lavage bronchoalvéolaire était également plus élevée chez les asthmatiques comparés aux non asthmatiques [126]. Cependant, l'étude de ces marqueurs biologiques de dommages au niveau des protéines dans le cadre de larges études épidémiologiques est encore très limitée.

### ➤ **Marqueurs de dommages au niveau de l'ADN**

Les EROs peuvent réagir avec l'ADN pour former des adduits au niveau des paires de bases tels que le 8-oxo-2-dihydroguanine (8-oxoG) [108, 113]. Dans une revue de la littérature, des études ont montré un niveau élevé en 8-oxoG dans le crachat, l'urine, le sérum et le lavage bronchoalvéolaire de patients asthmatiques comparés à des témoins [113].

### ➤ **Marqueurs de dommages lipidiques**

Les 8-isoprostanes sont les marqueurs de dommages lipidiques les plus souvent mesurés dans les études épidémiologiques. Les 8-isoprostanes sont des isomères des prostaglandines et sont formés *in situ* à partir de la peroxydation de l'acide arachidonique, un acide gras polyinsaturé, *via* un mécanisme non enzymatique [127, 128]. Ils ont la propriété d'être stables, sont présents en quantité détectable dans les tissus et les fluides biologiques, ne sont pas affectés par le contenu lipidique de l'alimentation [127], et sont mesurables dans le condensat de l'air expiré. Cette matrice biologique proche du poumon est recueillie de façon non invasive et est donc bien adaptée aux études épidémiologiques [18, 127]. Une revue d'Aldakheel *et al.* [18] présente des études qui ont mesuré la concentration en 8-isoprostanes dans le condensat de l'air expiré et ont étudié son association avec la prévalence et la sévérité de l'asthme et la fonction ventilatoire (VEMS). Dans cette revue, la majorité des études chez l'adulte ont montré que la concentration en 8-isoprostanes était plus élevée chez les patients asthmatiques comparés à ceux en bonne santé, et une étude a montré une concentration élevée en 8-isoprostanes chez les patients avec un asthme sévère comparés à ceux avec un asthme léger à modéré. Aucune de ces études n'a montré une association avec la fonction ventilatoire. Une revue systématique et méta-analyse réalisée par Peel *et al.* [129] a également répertorié des études sur les 8-isoprostanes dans le condensat de l'air expiré et l'asthme ainsi que sa sévérité mais les résultats de ces études sont discordants. En effet, certaines études ont observé une association significative entre une concentration élevée en 8-isoprostanes et l'asthme tandis

que d'autres n'ont observé aucune association significative. De plus, parmi les deux études qui ont examiné l'association entre les 8-isoprostanes et la sévérité de l'asthme répertoriées dans cette revue, une étude a observé une association significative tandis que l'autre étude n'a observé aucune association significative. Néanmoins, malgré ces discordances, les 8-isoprostanes semblent être un marqueur d'intérêt pour étudier le rôle du stress oxydant dans l'asthme en épidémiologie car lorsqu'ils sont mesurés dans le condensat de l'air expiré, ils reflètent les dommages liés au stress oxydant au plus proche du poumon.

Les autres marqueurs de dommages lipidiques mesurés dans les études épidémiologiques sont les leucotriènes, issus de la peroxydation lipidique *via* un mécanisme enzymatique [116] et le malondialdéhyde (MDA), issu également de la peroxydation lipidique mais *via* un mécanisme non enzymatique [130] comme les 8-isoprostanes. La concentration en leucotriènes était plus élevée dans le condensat de l'air expiré de patients avec un asthme atopique et de patients avec une bronchoconstriction induite par l'exercice comparés à des participants témoins asthmatiques [116]. La concentration en leucotriènes était également associée à la sévérité de l'asthme [116]. La concentration en MDA était plus élevée dans le condensat de l'air expiré de patients asthmatiques comparés à des témoins [131, 132], mais aucune corrélation n'était observée avec la sévérité de l'asthme [131].

#### ➤ **Marqueur biologique global de dommages**

Les produits d'oxydation fluorescents (POFs) représentent une mesure globale du processus d'oxydation des protéines, des lipides et de l'ADN. Ils résultent de l'interaction des EROs avec ces macromolécules et sont détectables par fluorescence [133]. Ce marqueur longtemps utilisé dans les modèles animaux et les expériences *in vitro* pour mesurer l'oxydation, est un marqueur stable et facilement mesurable dans le plasma [134, 135]. Depuis les années 2000, il connaît un intérêt grandissant en épidémiologie [136, 137], et plusieurs études ont montré des associations entre les POFs et différentes maladies chroniques [133, 136, 138]. Des études

prospectives ont montré une association entre une concentration élevée en POFs et le risque de développer une maladie coronarienne chez des hommes sans antécédents de maladies cardiovasculaires [136] et chez des femmes [138]. Une concentration élevée en POFs a également été observée chez des patients souffrant d'insuffisance rénale chronique [133]. A notre connaissance, aucune étude n'a été réalisée pour évaluer la relation entre les POFs et l'asthme.

*Dans le cadre de cette thèse, les marqueurs biologiques disponibles pour étudier les associations entre la voie biologique du stress oxydant et l'asthme étaient la SOD, la GPX et la CAT érythrocytaires pour les marqueurs de réponse et les 8-isoprostanes dans le condensat de l'air expiré et les POFs plasmatiques pour les marqueurs de dommages.*

#### **II.2.4.4 Synthèse de l'état des connaissances sur les marqueurs biologiques liés au stress oxydant et l'asthme**

La majorité des études épidémiologiques portant sur les marqueurs biologiques qu'ils soient de réponse ou de dommages liés au stress oxydant, ont montré une association avec l'asthme, soulignant le rôle de cette voie biologique. De plus, les études ont montré des associations entre ces marqueurs biologiques et différentes caractéristiques cliniques de l'asthme telles que la sévérité ou la fonction ventilatoire.

Comme décrit dans le chapitre précédent ([cf Partie II.1.5](#)), les voies biologiques du stress oxydant et de l'inflammation notamment neutrophilique sont très liées. Il serait donc intéressant d'identifier des endotypes basés simultanément sur des marqueurs biologiques liés au stress oxydant, les éosinophiles et les neutrophiles et des caractéristiques cliniques de

l'asthme afin d'améliorer la caractérisation de l'asthme et mieux comprendre son hétérogénéité.

A ce jour, la majorité des endotypes d'asthme définis dans la littérature n'ont intégré que des marqueurs biologiques liés à l'inflammation ou à l'allergie tels que les éosinophiles, les neutrophiles, ou les IgE. A notre connaissance, aucune étude n'a défini des endotypes d'asthme intégrant à la fois des caractéristiques cliniques et des marqueurs biologiques liés au stress oxydant. Récemment, dans l'étude Epidémiologique des facteurs Génétiques et Environnementaux de l'Asthme (EGEA), nous avons identifié par une approche non supervisée cinq endotypes d'asthme en intégrant des caractéristiques personnelles, cliniques et fonctionnelles, les POFs, les éosinophiles et les neutrophiles [139]. Ces endotypes seront définis en détail dans la suite de ce manuscrit.

Comme les marqueurs biologiques s'inscrivent dans le continuum entre l'environnement et la maladie, 1) l'étude de leurs associations avec d'une part les facteurs environnementaux et d'autre part avec l'asthme ou 2) leur intégration dans l'identification d'endotypes et l'étude des associations entre les facteurs environnementaux et les endotypes représentent une opportunité pour mieux comprendre l'étiologie de l'asthme.

## II.3 Asthme lié au travail

L'asthme lié au travail est aujourd'hui la maladie respiratoire liée au travail la plus fréquente dans les pays industrialisés [9]. Certaines expositions professionnelles sont reconnues depuis plus d'un demi-siècle comme facteur de risque de l'asthme [43] et chaque année, de nouveaux agents à risque pour l'asthme sont identifiés. A l'heure actuelle, le nombre d'asthmogènes identifiés dans l'asthme professionnel est estimé à 500 alors qu'il n'était que d'environ 150 à la fin des années 90 [11, 72, 140].

### II.3.1 Description de l'asthme lié au travail

L'asthme lié au travail comprend l'**asthme professionnel**, qui correspond à un asthme causé par des agents présents sur le lieu de travail et qui se manifeste pour la première fois dans la vie, et l'**asthme exacerbé au travail** qui correspond à un asthme préexistant aggravé par des expositions au travail (Figure 9) [9, 141–143]. L'asthme professionnel est donc défini par le développement des nouveaux symptômes respiratoires ou une physiologie obstruant les voies respiratoires compatible avec le diagnostic de l'asthme, pouvant être directement attribuable à une exposition sur le lieu de travail [142].

Environ 1 cas sur 6 d'asthme débutant à l'âge adulte est attribué à des expositions professionnelles soit 16% [10, 143, 144]. L'asthme exacerbé au travail pourrait de plus concerner 20 à 25% des asthmatiques qui travaillent [14, 145]. Des études épidémiologiques ont montré que les expositions professionnelles étaient associées à la sévérité ou au manque de contrôle de l'asthme [144]. L'asthme lié au travail diffère des asthmes de l'adulte non liés au travail par une fréquence accrue d'arrêts maladie et de recours aux soins, ce qui engendre des coûts directs élevés [145]. Aux Etats-Unis, le coût global de l'asthme lié au travail a été

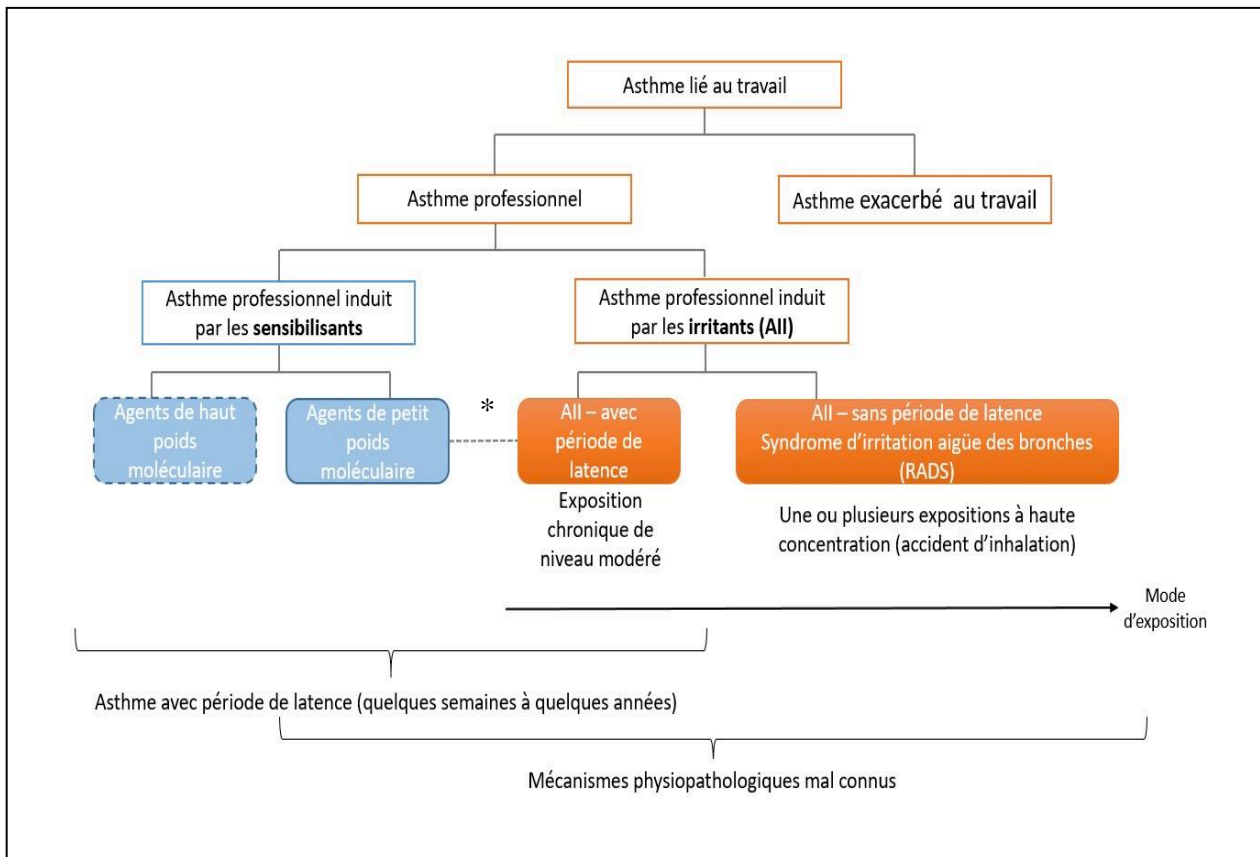
estimé à au moins 1,6 milliard de dollars par an [10, 146]. L'asthme professionnel est plus fréquent et la fraction de risque attribuable est plus élevée chez les hommes que chez les femmes [143].

Il existe deux types d'asthme professionnel qui se distinguent par le type d'agent en cause et les mécanismes physiopathologiques associés (Figure 9) : **l'asthme professionnel immunologique** ou induit par les agents **sensibilisants**, définis comme des agents qui induisent un asthme à travers un mécanisme faisant intervenir une réponse immunologique spécifique ; et l'asthme professionnel **non immunologique** ou induit par les agents **irritants**, qui résulte de l'exposition à des agents considérés comme des irritants respiratoires, en l'absence de sensibilisation [14].

L'**asthme professionnel immunologique** apparaît après une période de latence suite à la première exposition nécessaire au développement d'une sensibilisation immunologique à l'agent en cause [141, 147]. Ce type d'asthme implique donc des réponses immunologiques spécifiques aux sensibilisants présents sur le lieu de travail. Ces sensibilisants sont classés selon leur poids moléculaire. Les plus fréquents sont les agents de haut poids moléculaire, de taille supérieure à 10kD et sont généralement des protéines végétales ou animales ou des glycopeptides qui agissent via la production d'IgE spécifiques et une réponse allergique typique [14]. Les agents de petit poids moléculaire peuvent également causer une sensibilisation et certains d'entre eux ont été associés à une réponse allergique [14]. Cependant, malgré l'hypothèse du mécanisme immunologique, la plupart des agents sensibilisants de petit poids moléculaire induisent l'asthme par des mécanismes complexes encore mal compris [14].

L'**asthme professionnel non immunologique** serait moins fréquent et a été dans un premier temps observé suite à une exposition à de fortes concentrations d'agents irritants [147, 148]. Les irritants respiratoires ont été définis comme des substances non corrosives pouvant causer une inflammation des voies respiratoires sans induire une sensibilisation allergique [13, 141]. Jusqu'à récemment, l'asthme induit par les irritants était défini sous le terme de « syndrome d'irritation aiguë des bronches » ou RADS, initialement décrit par Brooks *et al.* [12] en 1985 comme une maladie semblable à l'asthme avec des symptômes d'hyperréactivité bronchique survenue après une unique exposition à de fortes concentrations de vapeurs ou fumées irritantes, sans période de latence. Cette exposition élevée était, dans la plupart des cas, le résultat d'un accident d'inhalation sur le lieu de travail [12, 13]. Puis, les critères de diagnostic définissant les RADS ont évolué et le terme d'« asthme induit par les irritants » a été introduit pour inclure également les cas avec des symptômes respiratoires après une ou plusieurs expositions à haute concentration [14]. Récemment, il a été suggéré que des expositions chroniques à des doses faibles à modérées d'irritants pouvaient également induire un asthme. Plusieurs études épidémiologiques ont montré des associations entre une exposition chronique et modérée à des agents irritants et des symptômes d'asthme ou l'activité de la maladie [11]. Ainsi, il a été proposé une classification en trois catégories de l'asthme induit par les irritants : « certain » caractérisé par une survenue rapide d'asthme dans les heures qui suivent une seule exposition professionnelle élevée à des irritants ; « probable », induit par de multiples expositions élevées à des irritants ; et « possible », apparaissant avec une période de latence après une exposition chronique à des concentrations faibles à modérées d'irritants [11, 13].





**Figure 9 : Représentation schématique des différentes formes d’asthme lié au travail.**

\*pour beaucoup d’agents (produits chimiques), il est difficile de distinguer l’AII avec une période de latence de l’asthme induit par les agents de petit poids moléculaire.

Figure adaptée des articles de Le Moual et Dumas [11, 141].

### II.3.2 Agents de haut poids moléculaire et de petit poids moléculaire

Parmi les cas d’asthme déclarés, 50 à 90% seraient induits par les agents de haut poids moléculaire (« High Molecular Weight » ou HMW) tels que la farine, le latex ou des protéines d’origine animale ou végétale, ou par les agents de petit poids moléculaire (« Low Molecular Weight » ou LMW) tels que les isocyanates, le formaldéhyde, les poussières de métaux ou de bois ou les sels persulfates [10, 43]. Des exemples d’agents HMW et LMW en cause dans l’asthme professionnel sont présentés dans le Tableau 2.

De nouveaux agents à risque sont identifiés régulièrement. Une revue de la littérature entre 2012-2014 a identifié 10 nouveaux agents associés à un asthme professionnel immunologique parmi lesquels sept agents HMW tels que de nouvelles enzymes utilisées dans des produits détergents ou des additifs alimentaires, ainsi que trois agents LMW dont les poussières de bois d'épicéa, un additif biocide et un composé halogéné de platine utilisé dans les médicaments cytotoxiques [149]. Les agents HMW sont les causes majeures de l'asthme allergique sur le lieu de travail.

Des revues de littérature sur l'asthme professionnel ont rapporté que les agents HMW et LMW étaient associés à différentes caractéristiques cliniques et biologiques liées à l'asthme parmi lesquelles la sévérité, les exacerbations, le contrôle de l'asthme, l'hyperréactivité bronchique, le nombre d'éosinophiles et la concentration de FeNO, ainsi qu'à des caractéristiques liées à l'allergie dont la conjonctivite, la rhinite et l'atopie [81, 150, 151]. Une étude rétrospective a également montré une association entre les LMW et la sévérité de l'asthme et l'utilisation de traitement  $\beta$ -agoniste à longue durée d'action (BALA) [152].

Néanmoins, probablement en raison de mesures de prévention, un déclin de l'incidence de l'asthme professionnel lié à certains agents est suggéré en Europe [145, 153]. En France, une diminution de l'asthme lié au travail associé aux agents HMW tels que le latex, à des poussières organiques et à des produits chimiques tels que les aldéhydes ou les isocyanates a été suggérée. Cependant, une tendance inverse est suggérée pour l'asthme lié au travail induit par les cosmétiques et les produits de nettoyage [72, 154].

**Tableau 2 : Exemples d'agents de haut poids moléculaire et de petit poids moléculaire impliqués dans l'asthme professionnel.**

Agents	Travailleurs à risque d'exposition à ces agents
<i>Agents de haut poids moléculaire</i>	
Allergènes d'origine animale	Agriculteurs, individus travaillant avec des animaux de laboratoire, vétérinaires.
Plantes	Travailleurs de production sous serre, fermiers.
Produits végétaux (ex : latex)	Utilisateurs de gants en latex, fabricants de gants ou d'autres produits à base de latex.
Céréales et graines	Agriculteurs, travailleurs de l'industrie céréalière, boulangers.
Autres aliments (ex : lait ou œufs en poudre) Champignons, moisissures	Travailleurs de l'industrie alimentaire, cuisiniers. Employés de bureau, employés de laboratoire, boulangers.
Enzymes	Employés de laboratoire, travailleurs du milieu pharmaceutique, boulangers.
Insectes	Fermiers, travailleurs de production sous serre.
Poissons et crustacés	Travailleurs en contact avec harengs ou crabes.
Gommes naturelles	Imprimeurs, dont fabricants de tapis.
<i>Agents de petit poids moléculaire</i>	
Diisocyanates (ex : diisocyanate de toluène, diisocyanate d'hexaméthylène, diisocyanate de diphénylméthylène)	Fabricants de mousse de polyuréthane rigide ou flexible, installateurs de mousse d'isolation en polyuréthane, peintres au pistolet à peinture polyuréthane, travailleurs dans les fonderies avec des adhésifs ou des moules en uréthane.
Anhydride d'acide (ex : anhydride phtalique, anhydride maléique et anhydride trimellitique) Monomères acryliques	Fabricants de résines époxy pour l'industrie du plastique. Travailleurs de l'industrie chimique, de la dentisterie, esthéticiens chargés de la pose d'ongles artificiels.
Poussières de bois (ex : provenant du bois de cèdre rouge ou des bois exotiques)* Sels complexes de platine	Charpentiers, travailleurs de scieries, travailleurs en milieu forestier. Travailleurs des raffineries, bijoutiers.
Autres sels métalliques (ex. : nickel, chrome)	Travailleurs en revêtements métalliques, soudeurs d'acier inoxydable.
Biocides (ex : glutaraldéhyde et chlorhexidine)	Personnel de soins.
Résines phénol-formaldéhydes	Fabricants de produits à base de bois, travailleurs de fonderies.
Persulfates et henné	Coiffeurs.
Médicaments (ex : antibiotiques)	Travailleurs dans l'industrie pharmaceutique, pharmaciens.
Amines aliphatiques (ex : éthylène-diamine et éthanol-amines)	Vernisseurs, soudeurs, peintres au pistolet, personnel de ménage.

\* Les poussières de bois peuvent contenir des agents de petit poids moléculaire tels que l'acide phtalique présent dans la poudre de bois de cèdre rouge, mais peuvent également favoriser la production d'anticorps IgE spécifiques aux composants de haut poids moléculaire (par exemple : bois d'abachi, d'olivier, de pin, de chengal, de cedrorana et de cabreuva). Tableau issu de l'article de Le Moual et Siroux [144].

### II.3.3 Expositions professionnelles aux agents irritants

La proportion de l'asthme induit par les irritants est actuellement estimée à 10 à 20% de l'asthme professionnel [11]. Cependant, cette proportion pourrait être sous-estimée car l'asthme induit par les irritants est très difficile à diagnostiquer en clinique. Pour les agents irritants, il n'existe en effet pas de test objectif permettant d'identifier l'agent causal au niveau individuel. Les connaissances d'un lien entre des expositions professionnelles aux irritants, notamment à des niveaux faibles à modérés, et l'asthme reposent donc en grande partie sur les études épidémiologiques. Des exemples d'agents irritants ainsi que les métiers associés impliqués dans l'asthme professionnel sont présentés dans le Tableau 3.

**Tableau 3 : Exemples de métiers et agents irritants impliqués dans l'asthme professionnel.**

Métiers ou secteurs à risque	Agents irritants	Irritants avec un potentiel sensibilisant*
Nettoyage	Eau de javel, ammoniac, produits de nettoyage et dégraissants en sprays	Désinfectants (glutaraldéhyde, CAQ, chloramine-T, isothiazolinone), éthanolamines, enzymes, surfactants
Fonte d'aluminium	Fluorures, SO <sub>2</sub>	Aluminium
Production porcine et laitière	Aérosols d'endotoxines et poussières organiques, gaz de fumier	CAQ, allergènes animaux
Environnement en chambre noire	SO <sub>2</sub> , acide acétique	Glutaraldéhyde, formaldéhyde
Sulfuration	SO <sub>2</sub>	Non identifié
Soudure	Oxyde d'azote, fluorures, ozone	Chromium, nickel
Agriculture (pesticides)	Organophosphorés, carbamates	Pyréthroïdes, acariens phytophages et prédateurs
Industrie du bois	Poussière de bois	Poussière de bois (ex : acide plicatique)

CAQ ; composé d'ammonium quaternaire ; SO<sub>2</sub> : dioxyde de soufre. \*Certains agents peuvent être à la fois irritants et sensibilisants. Tableau adapté de l'article de Vandemplas *et al.* [13].

Plusieurs études épidémiologiques ont étudié les associations entre l'exposition professionnelle aux irritants, que ce soit au sens large ou des expositions spécifiques, et l'asthme et ses différentes caractéristiques.

➤ **Irritants non spécifiques**

L'exposition professionnelle à des irritants était associée aux crises d'asthme dans une analyse longitudinale réalisée dans l'étude EGEA [155]. De même, une étude transversale dans une cohorte estonienne a montré que l'exposition au cours de la vie à des irritants était associée à l'asthme, avec des associations plus prononcées pour l'asthme diagnostiqué par un médecin et l'asthme actuel [156]. Dans ces deux études, les niveaux d'exposition professionnelle aux irritants étaient faibles à modérés.

➤ **Produits de nettoyage et désinfectants**

La majorité des études épidémiologiques ayant suggéré une association entre une exposition chronique de niveau faible à modéré aux irritants et l'asthme portaient sur des travailleurs exposés à des produits de nettoyage [157, 158]. Les expositions aux produits de nettoyage et de désinfection font partie des expositions professionnelles les plus fréquentes [11]. Une augmentation des déclarations de symptômes d'asthme non allergique associés aux produits de nettoyage a été rapportée en Europe dans les dix dernières années [145].

Les produits de nettoyage et de désinfection sont des substances ou des mélanges de substances chimiques pouvant être composés d'environ 275 principes actifs différents et commercialisés sous différentes formes : spray, liquide, poudre concentrée ou gaz [159]. Ces produits contiennent souvent des sensibilisants des voies respiratoires tels que les composés d'ammonium quaternaire, les composés aminés ou les parfums, mais ils peuvent également contenir des irritants tels que les composés chlorés (eau de javel, acide chlorhydrique) ou les agents alcalins (ammonium, hydroxyde de sodium) [160, 161].

Le nettoyage consiste à éliminer la saleté d'un appareil ou d'une surface en utilisant l'action physique du nettoyage, l'action chimique d'un surfactant ou d'un détergent, ainsi que l'eau pour mouiller, émulsionner ou réduire la tension superficielle [159]. La désinfection consiste en une activité antimicrobienne visant à inactiver presque tous les micro-organismes végétatifs. Les tâches de nettoyage précèdent généralement la désinfection des surfaces et assurent ainsi l'efficacité de cette dernière étape [159]. Différentes tâches de nettoyage et de désinfection peuvent être effectuées à l'aide de divers produits dont l'utilisation varie selon les professions et les secteurs.

Les personnels médicaux et paramédicaux sont particulièrement exposés aux produits de nettoyage notamment dans le cadre hospitalier [162] où les activités de nettoyage et de désinfection sont primordiales pour la prévention des infections nosocomiales [161]. L'utilisation des produits de nettoyage est également fréquente dans d'autres secteurs, notamment pour le ménage à domicile, dans les industries ainsi que les bureaux [163]. Les personnels de ménage représentent 4% des cas d'asthme professionnel en France [162].

Plusieurs études épidémiologiques ont montré des associations entre l'exposition professionnelle aux produits de nettoyage et désinfectants et/ou la réalisation de tâches de nettoyage et de désinfection dans le milieu hospitalier ou dans d'autres secteurs d'activité et un risque élevé d'asthme [164, 165], d'asthme actuel [166, 167], de symptômes respiratoires [159, 163, 168–170], d'asthme mal contrôlé [171, 172], et d'une baisse de la fonction ventilatoire [173, 174]. Des études longitudinales ont également montré des associations entre l'exposition professionnelle aux produits de nettoyage/désinfectants et l'apparition de l'asthme à l'âge adulte [20, 175, 176].

Certaines études ont examiné des produits spécifiques et ont montré que des désinfectants utilisés dans certains hôpitaux comme le formaldéhyde, le glutaraldéhyde, les composés d'ammonium quaternaire étaient associés à des symptômes respiratoires [166, 177], à

l'apparition de l'asthme ou à des exacerbations parmi les individus avec un asthme préexistant [158, 160, 165]. Aussi, l'exposition à des produits tels que l'eau de javel, l'ammoniac ou les sprays nettoyants/dégraissants était associée à l'asthme chez les personnels de ménage [158].

#### ➤ **Industries des métaux / Soudure**

L'asthme induit par les irritants est également observé chez les travailleurs dans les industries des métaux. Dans la revue de Kongerud *et al.*, des études ont montré un risque élevé d'asthme professionnel lié au travail dans la production d'aluminium [178]. Une étude chez des travailleurs dans des fonderies d'aluminium a montré des associations entre l'exposition professionnelle au dioxyde de soufre (SO<sub>2</sub>) et au fluorure et des symptômes respiratoires liés à l'asthme, en particulier les sifflements et l'oppression thoracique, ainsi qu'une baisse de la fonction ventilatoire [179]. Des études longitudinales chez des travailleurs dans des fonderies de métaux ont également montré des associations entre l'exposition aux poussières, qui seraient majoritairement composées d'irritants respiratoires non spécifiques, et l'incidence des symptômes d'asthme lié au travail [180] et une baisse de la fonction ventilatoire [181]. Enfin, des études ont montré une association entre l'exposition aux fumées de soudure, qui pourraient également contenir des irritants respiratoires, et l'incidence de l'asthme [182, 183] et une baisse de la fonction ventilatoire [183].

#### ➤ **Industries du bois et du meuble**

Les travailleurs dans les industries du meuble et du bois sont exposés à une variété d'agents potentiellement à risque pour l'asthme tels que les poussières de bois, l'acide plicatique, les terpènes et les endotoxines ainsi que le formaldéhyde [11]. Dans la revue de la littérature de Wiggans *et al.*, des études ont montré des associations entre le travail dans l'industrie du bois et un risque élevé d'asthme et de symptômes respiratoires, en particulier la toux [184]. Une

étude a également montré une association significative entre les paramètres de la fonction ventilatoire (VEMS, CVF, rapport VEMS/CVF) et une exposition cumulée à la poussière de bois inhalée chez des hommes travaillant dans l'industrie de la fabrication de panneaux de particules [185]. L'exposition aux poussières de bois peut avoir un effet irritant mais aussi sensibilisant, néanmoins, la majorité de ces études suggérait un mécanisme irritant et non IgE dépendant.

### ➤ **Travaux agricoles / Pesticides**

Les travailleurs agricoles sont également exposés à plusieurs agents à risque pour l'asthme. Bien que la majorité soient des sensibilisants (ex : plantes, mites, insectes), certains peuvent également avoir un effet irritant (ex : ammoniac, désinfectants) [11]. Des études ont montré une augmentation de l'incidence ou de la prévalence de l'asthme de l'adulte chez les ouvriers dans le secteur porcin et laitier [186, 187]. Une étude a également montré une association entre l'exposition au SO<sub>2</sub> et un déclin de la fonction ventilatoire chez les travailleurs dans des fermes d'abricots pendant la saison de la sulfuration [188].

Parmi les expositions aux irritants dans le secteur agricole, on retrouve également les pesticides qui couvrent 1000 substances chimiques différentes et qui sont de plus en plus utilisés depuis les années 50. Les pesticides peuvent être classés selon leur cible et leur groupe chimique en trois principales catégories : les insecticides, les herbicides et les fongicides [189]. Les résultats des études épidémiologiques synthétisés dans une revue de la littérature par Mamane *et al.* [189] ont montré des associations entre l'exposition professionnelle aux pesticides dans le milieu agricole et industriel et un risque élevé d'asthme, de symptômes respiratoires et de bronchite chronique ainsi qu'un risque d'un déclin de la fonction ventilatoire. Dans une autre revue de la littérature par Hernandez *et al.* [190], des études ont montré des associations entre des pesticides spécifiques utilisés dans le milieu agricole et la



prévalence de l'asthme ainsi que diverses caractéristiques de l'asthme telles que l'asthme allergique et non allergique, la fonction ventilatoire ou les symptômes respiratoires.

### ➤ Solvants

Les solvants sont des substances pouvant avoir des propriétés irritantes et sont utilisés pour dissoudre des composés dans des produits tels que les peintures, les vernis, les colles et les dégraissants ou les produits de nettoyage ainsi que dans les colorants, les teintures pour textiles, plastiques, produits agricoles et pharmaceutiques [191, 192]. Depuis les années 90, des associations entre l'exposition professionnelle aux solvants organiques et plusieurs maladies pulmonaires ont été suggérées dans la littérature [191, 192]. Une revue de la littérature dans les années 90 a répertorié les études qui ont montré des associations entre l'exposition professionnelle aux solvants et des irritations des voies respiratoires ou des irritations bronchiques non spécifiques [191]. Cependant, les études épidémiologiques sur les maladies respiratoires chroniques telles que l'asthme ou les symptômes respiratoires associés sont très limitées et les études existantes montraient des résultats peu concluants en raison d'une faible taille d'échantillon ou de co-expositions telles que les isocyanates ou le tabac [191]. Une étude cas-témoins suédoise a montré une association entre l'exposition professionnelle aux solvants et un risque élevé d'asthme chez les hommes [193]. Une étude de cohorte en population générale à Singapour a montré une association entre une exposition aux vapeurs issues de solvants chimiques, teinture, huile de refroidissement, peinture, produits de préservation du bois et/ou pesticides et des symptômes respiratoires (toux ou flegme non chronique et toux sèche chronique) ainsi qu'un asthme débutant à l'âge adulte [194].

Bien que l'ensemble de ces études épidémiologiques aient mis en évidence des associations entre les agents irritants et le risque d'asthme, les mécanismes physiopathologiques par lesquels ces agents irritants affectent la santé respiratoire restent mal compris.

## II.3.4 Mécanismes physiopathologiques de l'asthme lié au travail

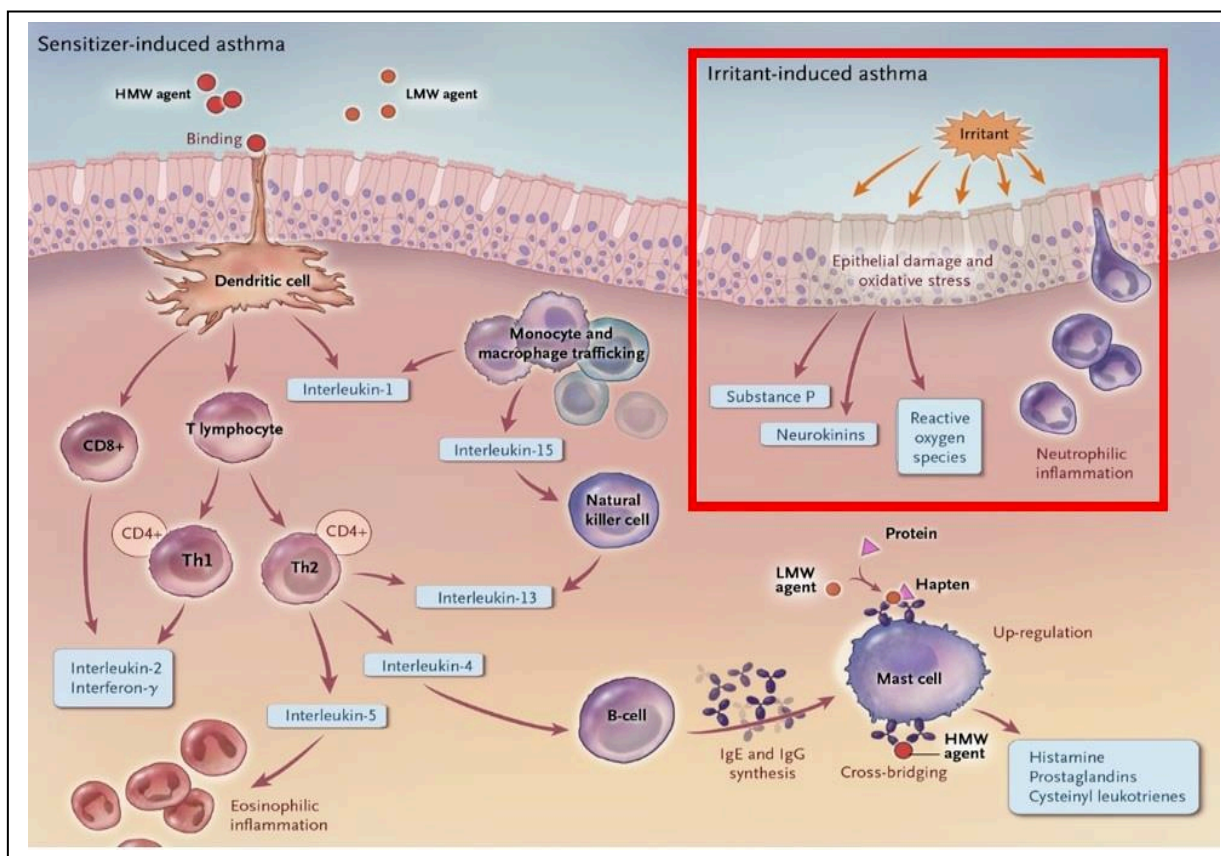
### II.3.4.1 Mécanismes de l'asthme induit par les sensibilisants

Dans l'asthme professionnel induit par les sensibilisants, que ce soit des agents HMW ou certains agents LMW, des mécanismes **immunologiques IgE-dépendants** ont été mis en évidence (Figure 10) [11, 14]. Ces mécanismes sont proches des mécanismes allergiques décrits dans certains endotypes d'asthme éosinophilique ([cf Partie II.1.5](#)).

Les agents HMW agissent comme des antigènes complets et induisent la production d'anticorps IgE spécifiques. Les agents LMW pour lesquels un mécanisme IgE-dépendant a été mis en évidence agissent probablement comme des haptènes et se lient avec les protéines pour former des antigènes fonctionnels [14, 195]. Dans les tissus pulmonaires, les macrophages, les cellules dendritiques ainsi que les mastocytes sont les premières cellules immunitaires activées en cas de contact avec un allergène tel que les agents HMW et LMW, conduisant à une cascade de réactions [14, 195, 196]. D'une part, après la fixation des IgE à l'antigène directement à la surface des mastocytes, ces derniers libèrent dans le milieu extracellulaire des médiateurs chimiques de l'inflammation tels que des histamines, des prostaglandines, ou des leucotriènes. Ces médiateurs sont responsables des principales manifestations allergiques en déclenchant une réaction inflammatoire et une bronchoconstriction. D'autre part, les antigènes peuvent traverser la barrière épithéliale : ils sont alors reconnus par les cellules dendritiques qui vont les présenter aux lymphocytes T. Ces derniers, une fois activés, peuvent se différencier en sous-types de cellules effectrices avec des propriétés fonctionnelles distinctes selon les cytokines qu'elles sécrètent. Certains lymphocytes T activés vont se différencier en cellules Th2 et vont libérer les interleukines (IL)-4, -5 et -13. Les IL-5 sont responsables de l'activation des éosinophiles tandis que les IL-4 et -13 vont permettre l'activation des lymphocytes B qui sont responsables de la synthèse d'IgE ainsi que du recrutement des mastocytes, qui à leur tour vont libérer des médiateurs

chimiques tels que des cytokines. Par ailleurs, les cellules CD8+ libèrent également de l'IL-2 et de l'interféron gamma qui sont associés à une augmentation de la sévérité de la maladie et à l'inflammation éosinophilique. Les cellules immunitaires innées « natural killers » (NK) peuvent également libérer de l'IL-13 [14, 195, 196].

Pour l'asthme professionnel induit par d'autres agents LMW tels que les diisocyanates, les mécanismes sont encore mal compris. L'hypothèse de voies immunologiques non IgE dépendantes similaires aux réactions d'hypersensibilité médiée par les lymphocytes T a été suggérée [11, 148, 150]. Les agents LMW pourraient aussi induire des réponses immunitaires innées en régulant les récepteurs des monocytes et en libérant des chimiokines qui régulent la circulation des monocytes et des macrophages tels que le macrophage migration inhibitory factor (MIF) ou le monocyte chemoattractant protein 1 (MCP1 ou CCL2) [14].



**Figure 10 : Représentation schématique des mécanismes physiopathologiques de l'asthme induit par les sensibilisants et l'asthme induit par les irritants.**

Figure issue de la revue de Tarlo et Lemiere [14].

### II.3.4.2 Mécanismes de l'asthme induit par les irritants

Les mécanismes biologiques impliqués dans l'asthme professionnel induit par les irritants restent mal connus et difficiles à établir [11, 147]. Plusieurs hypothèses ont été suggérées dont la principale est celle d'un **mécanisme non allergique** principalement caractérisé par **une inflammation neutrophilique** (Figure 10) [11] similaire au mécanisme associé à certains endotypes d'asthme non éosinophilique ([cf Partie II.1.5](#)). L'inflammation neutrophilique est associée à la libération d'IL-1, IL-6, IL-8 et du facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- $\alpha$ ), suivie de l'infiltration massive et de l'activation de neutrophiles dans les voies respiratoires inférieures et supérieures [197].

Les irritants pourraient également s'attaquer directement à l'épithélium bronchique induisant des dommages et une perte des propriétés protectrices [147]. Ces **dommages au niveau de la barrière épithéliale** peuvent avoir de nombreuses conséquences telles que l'exposition des terminaisons nerveuses aux irritants conduisant à une inflammation neurogène ; la perte de facteurs épithéliaux relaxants ; la libération de médiateurs inflammatoires tels que les leucotriènes B4 et C4 et les cytokines pro-inflammatoires ; la sécrétion de facteurs de croissance pour les cellules épithéliales, les cellules musculaires lisses et les fibroblastes ; et la dégradation de la matrice [147]. Les dommages au niveau de l'épithélium respiratoire provoqués par l'inhalation d'agents irritants seraient corrélés à une altération de la fonction ventilatoire [14]. De plus, suite aux dommages induits par les irritants au niveau de la barrière épithéliale, les allergènes pourraient traverser l'épithélium plus facilement, entraînant une sensibilisation et de l'asthme [147]. Il a également été suggéré qu'une réponse inflammatoire Th2 pourrait être activée suite à une lésion de l'épithélium des voies respiratoires après une exposition répétée à des irritants [158].

Le **stress oxydant** est un autre mécanisme pouvant causer des dommages au niveau de l'épithélium et une inflammation chronique des voies aériennes (Figure 10) [11, 14, 158], comme décrit dans la partie suivante.

### **II.3.5 Exposition aux irritants et stress oxydant**

Comme expliqué dans le chapitre précédent ([cf Partie II.2.2](#)), le poumon est exposé à des espèces réactives de l'oxygène provenant de sources exogènes [109]. Certaines de ces sources exogènes, en particulier les expositions environnementales irritantes tels que le tabac, les particules issues de la pollution atmosphérique, les métaux lourds ou les expositions professionnelles aux irritants, peuvent traverser la barrière épithéliale, et causer des dommages cellulaires [14, 16, 109, 147, 158]. L'inhalation d'irritants est susceptible d'induire la libération d'EROs par l'épithélium, pouvant induire un stress oxydant et une inflammation neutrophilique [14, 32] ([cf Partie II.1.5](#)). Les marqueurs biologiques liés au stress oxydant représentent donc une opportunité pour étudier le rôle de cette voie biologique dans l'association entre l'exposition aux irritants et l'asthme.

Les études sur les associations entre des marqueurs biologiques liés au stress oxydant et l'exposition à des irritants se sont principalement intéressées au tabac. La fumée de cigarette contient environ  $10 \cdot 10^{14}$  molécules oxydantes par bouffée telles que l' $H_2O_2$  ou l' $O_2^-$ . La fumée de tabac peut induire l'activation de phagocytes qui vont libérer des EROs responsables des dommages d'oxydation aux macromolécules [15]. Des études ont montré une association entre la concentration en POFs et le statut tabagique [137, 138, 198]. Dans la cohorte de patients avec un asthme sévère U-BIOPRED, la concentration en 8-

isoprostaglandines F2 $\alpha$ , un isomère des isoprostanes, était plus élevée dans l'urine de participants fumeurs/ex-fumeurs avec un asthme sévère comparés aux participants non fumeurs avec un asthme sévère [199]. De même, l'activité de la SOD était plus élevée chez des patients asthmatiques ex-fumeurs comparés aux asthmatiques non fumeurs [121].

L'exposition à l'ozone, un gaz irritant issu de la pollution atmosphérique, peut également générer des espèces réactives de l'oxygène et induire une peroxydation lipidique [114, 200]. Des associations entre l'exposition à l'ozone et une concentration faible en 8-isoprostanes [201] et une concentration élevée en POFs [202] ont été observées chez des adultes asthmatiques. Une association entre l'exposition à l'ozone et une concentration élevée en 8-isoprostanes chez des adultes en bonne santé a également été montrée [203].

A notre connaissance, très peu d'études ont évalué l'association entre l'exposition professionnelle aux irritants et les marqueurs biologiques liés au stress oxydant dans l'asthme. Dans une étude faite chez des personnes travaillant à l'hôpital, parmi lesquels 20% étaient asthmatiques, la concentration d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et le pH dans le condensat étaient significativement plus élevés chez les personnes exposées à des détergents et à d'autres produits chimiques que chez les personnes non exposées [177]. Dans l'étude EGEA, Dumas *et al.* ont montré une association positive et significative entre l'exposition professionnelle aux produits de nettoyage irritants et aux agents de petit poids moléculaires et les POFs chez les hommes non asthmatiques mais pas chez les femmes [19]. Vizcaya *et al.*, dans une étude cas-témoins sur l'asthme, ont étudié l'association entre l'exposition professionnelle aux produits de nettoyage et les 8-isoprostanes mais n'ont pas observé d'association significative [22]. Les auteurs ont observé une association significative entre l'usage domestique d'ammoniac et une concentration élevée en 8-isoprostanes. Dans une étude faite chez des hommes en bonne santé travaillant dans l'industrie des laminés plastiques, Romanazzi *et al.* ont observé une concentration élevée en 8-isoprostanes dans l'urine des participants exposés au formaldéhyde,

un agent potentiellement irritant, comparés aux participants non exposés [204]. Bien que les études sur les marqueurs liés au stress oxydant, l'exposition professionnelle aux irritants et l'asthme soient très limitées, les résultats de la littérature suggèrent que ces marqueurs, notamment les marqueurs de dommages, seraient intéressants pour étudier le rôle du stress oxydant dans l'asthme lié à l'exposition professionnelle aux irritants.

### **II.3.6 Synthèse de l'état des connaissances sur l'exposition professionnelle aux irritants, l'asthme et le stress oxydant**

En résumé, plusieurs études épidémiologiques ont montré que l'exposition professionnelle à des irritants était associée à différentes caractéristiques de l'asthme tels que l'asthme actuel, les symptômes respiratoires, l'asthme mal contrôlé, la sévérité ou la fonction ventilatoire et à l'inflammation ([cf Partie II.3.3](#)). Le stress oxydant a été suggéré pour expliquer en partie par quels mécanismes biologiques les irritants affectent l'asthme. Des associations entre l'exposition à des agents irritants et des marqueurs biologiques liés au stress oxydant ont été rapportées que ce soit chez des asthmatiques ou des participants en bonne santé ([cf Partie II.3.5](#)). Bien que le nombre de ces études soit très limité, leurs résultats suggèrent que l'étude des marqueurs biologiques liés au stress oxydant est intéressante pour mieux comprendre par quels mécanismes l'exposition professionnelle aux irritants affecte la santé respiratoire.

## II.3.7 Aspects méthodologiques en épidémiologie de l'asthme lié au travail

### II.3.7.1 Méthodes d'estimation des expositions professionnelles

Plusieurs méthodes existent pour évaluer les expositions professionnelles dans les études épidémiologiques. Les méthodes les plus fréquemment utilisées sont l'évaluation par les déclarations des sujets, les matrices emplois-expositions et l'évaluation par des experts.

#### ➤ Déclaration des sujets

Dans les études en épidémiologie professionnelle, des questionnaires sont fréquemment utilisés pour évaluer les expositions [205, 206]. L'évaluation par questionnaire est une méthode simple et peu coûteuse et souvent utilisée dans les études avec un grand nombre de participants [205, 207]. Il peut être auto-administré ou administré par un enquêteur par téléphone ou en personne (en face à face).

Pour rechercher l'exposition à une nuisance à risque pour la santé, des questions sur l'intitulé des métiers exercés, la durée ainsi que sur le contact à des nuisances (par exemple, « *Au cours de votre vie professionnelle, avez-vous été (ou êtes-vous actuellement) en contact avec les nuisances suivantes ... ?* » [208]) peuvent être posées dans le questionnaire. En plus de ces questions, des informations détaillées peuvent être collectées pour reconstituer l'histoire professionnelle du participant. Pour cela, dans un premier temps, un calendrier professionnel du travailleur est construit qui comprend des informations telles que l'intitulé complet du métier, les dates de début et fin de chaque métier, les secteurs d'activité dans lesquels ces métiers ont été exercés, la description des tâches effectuées. Ces informations recueillies dans le calendrier professionnel peuvent être complétées par un questionnaire spécifique visant à mieux décrire les tâches susceptibles d'exposer à des nuisances professionnelles (par exemple matériaux, machines ou outils utilisés, équipements de protection, fréquence de réalisation des tâches exposantes) [206]. Dans un deuxième temps, chaque emploi exercé et secteur d'activité correspondant recueillis sont



codés selon une nomenclature permettant un codage standardisé. Diverses nomenclatures existent que ce soit au niveau national (par exemple en France, les Professions et catégories socioprofessionnelles [PCS] ou la Nomenclature d'activités française [NAF] de l'Insee) ou international (par exemple la Classification internationale type des professions [CITP], nomenclature éditée par le bureau international du travail [BIT] ou la Nomenclature statistique des activités économiques dans les Communautés européennes [NACE]). Ce codage permet d'une part d'étudier les risques pour la santé associés à certains métiers et de comparer les résultats entre les études et d'autre part, d'appliquer dans des étapes ultérieures des outils spécifiques pour l'estimation des expositions professionnelles comme les matrices emplois-expositions [206, 209]. Les informations sont le plus souvent recueillies de façon rétrospective et sur de longues périodes, ce qui peut engendrer un biais de mémoire. En effet, les participants malades pourraient prêter plus d'attention à leur environnement de travail et mieux se souvenir de leurs expositions que les participants en bonne santé. De plus, pour avoir une estimation précise de l'exposition, une bonne connaissance de celle-ci est requise de la part des participants. Cependant, les participants ne connaissent pas toujours en détail les produits auxquels ils sont exposés (par exemple, différentes substances chimiques contenues dans les produits de nettoyage), ce qui peut engendrer un biais de classement non différentiel. Ainsi, les questionnaires peuvent être complétés par d'autres méthodes d'évaluation pour améliorer l'estimation [205].

### ➤ **Matrice emplois-expositions**

L'évaluation par matrice emplois-expositions (MEE) a été proposée initialement dans les années 80 pour traduire les informations sur l'intitulé du métier en expositions spécifiques [207]. Une MEE est un tableau à double entrée dont un des axes correspond à des intitulés de métiers et/ou les codes métiers et dont l'autre axe correspond à des nuisances professionnelles ; les cellules de la matrice indiquent la présence, l'intensité et/ou la fréquence d'exposition à un agent spécifique dans un code métier spécifique [206, 210–212]. Elle permet d'assigner une même catégorie

d'exposition à des participants issus de différents métiers ou industries. Du fait de son application automatique à partir de la connaissance des métiers uniquement, cette méthode permet de limiter les biais de classement différentiel de l'exposition que l'on peut observer avec l'estimation par questionnaire seul [209]. Les MEEs peuvent être appliquées en population générale ou spécifiques à des nuisances à risque pour une maladie donnée [206, 209, 212].

Les MEEs ont l'avantage de pouvoir être utilisées dans des études avec un grand nombre de participants ayant chacun plusieurs épisodes professionnels, elles peuvent également être utilisées dans différentes populations permettant ainsi une comparaison des résultats des études. L'inconvénient est qu'elles ne tiennent pas compte de la spécificité individuelle de chaque métier exercé ce qui peut avoir comme conséquence une erreur de classement non différentielle dans l'évaluation de l'exposition professionnelle [206].

#### ➤ **Estimation au cas par cas par des experts**

L'estimation au cas par cas par des experts est considérée comme une des meilleures méthodes pour estimer l'exposition professionnelle dans les études en population générale [210]. Elle permet d'avoir une évaluation précise de l'exposition en prenant en compte la différence d'exposition entre les individus avec des métiers similaires ou pour les métiers ayant des tâches hétérogènes. L'expertise est réalisée par des spécialistes tels que des hygiénistes industriels, des toxicologues ou des médecins du travail qui ont une expérience reconnue dans le domaine d'une nuisance professionnelle et qui sont capables de documenter des niveaux d'exposition à partir de leur connaissance des secteurs professionnels. Ainsi, à partir d'informations sur l'histoire professionnelle des participants (métiers, tâches) généralement recueillies par questionnaire, les experts attribuent au cas par cas, pour chaque individu, une estimation du niveau et de la fréquence d'exposition, et ce à l'aveugle du statut malade/non malade [206, 211].

Cependant, l'évaluation par expertise est une méthode longue et coûteuse, difficilement applicable dans de grandes études épidémiologiques. De plus, sa validité dépend fortement de la

connaissance des experts. Elle constitue de ce fait en une démarche subjective n'assurant pas une parfaite reproductibilité [206, 210].

#### ➤ **Autres méthodes d'évaluation**

D'autres méthodes qui permettent d'obtenir des mesures quantitatives d'une exposition et d'évaluer l'exposition à des nuisances spécifiques existent pour estimer les expositions professionnelles. Par exemple, les expositions peuvent être évaluées par les mesures biologiques qui visent à estimer la pénétration de la substance dans l'organisme en quantifiant l'importance de l'exposition dans des matrices biologiques telles que le plasma, l'urine ou la salive [206]. Cependant, les mesures quantitatives sont coûteuses et difficiles à mettre en place notamment dans les études en population générale. De plus, elles ne permettent pas une évaluation rétrospective de l'exposition au long cours.

#### **II.3.7.2 Biais du travailleur sain**

Un des principaux biais qui peut exister dans les études d'épidémiologie professionnelle est le biais du travailleur sain ou "healthy worker effect". Ce biais a initialement été décrit dans les études constituées d'une population de travailleurs, comparée à la population générale. Dans ce type d'études, le biais du travailleur sain est dû au fait que les individus capables d'exercer un travail régulier seraient *a priori* en meilleure santé que la population générale dans laquelle on trouve des malades dans l'incapacité d'avoir un emploi [213].

Plus généralement, le biais du travailleur sain peut être décomposé en deux niveaux de sélection. Le premier niveau correspond à la sélection à l'embauche ou "hire effect" qui est liée au fait que les participants ayant des problèmes de santé auraient tendance à éviter certains métiers. De même, les employeurs peuvent faire le choix d'embaucher en majorité

des personnes en bonne santé. Le deuxième niveau correspond à la sélection en cours d'emploi ou "survivor effect" est liée au fait que les participants déjà en activité, observant que leur état de santé se dégrade, auraient tendance à changer d'activité pour une autre moins exposée [155, 213, 214].

Dans l'asthme, ces deux types de biais peuvent exister car l'asthme peut apparaître avant la première embauche (par exemple, asthme débutant dans l'enfance) ou quand l'individu est déjà en activité (par exemple, asthme débutant à l'âge adulte). Ces deux types de biais du travailleur sain pourraient engendrer une sous-estimation des associations évaluées entre l'exposition professionnelle et la maladie [155, 213, 214].

## II.4 Facteurs génétiques, expositions professionnelles et asthme

Il est maintenant bien établi que les facteurs génétiques susceptibles d'être impliqués dans le développement, l'expression ou la sévérité de l'asthme agissent principalement par le biais de mécanismes complexes impliquant des interactions avec des facteurs environnementaux dont les expositions professionnelles et des interactions avec d'autres gènes [7]. L'étude des interactions entre des facteurs environnementaux et des gènes (GxE) appartenant à des voies biologiques spécifiques telles que celle du stress oxydant dans l'asthme est une autre manière d'avoir une meilleure compréhension des mécanismes biologiques sous-jacents à la relation entre les expositions professionnelles et l'asthme [7].

### II.4.1 Différentes approches pour étudier les associations génétiques et les interactions gène-environnement

Plusieurs approches peuvent être utilisées pour étudier les associations génétiques et les interactions GxE. La première approche qui a longtemps été utilisée est l'**approche gène candidat** qui consiste à sélectionner des gènes, souvent en petit nombre, sur la base des connaissances *a priori* des processus biologiques et/ou fonctionnels dans lesquels ces gènes sont impliqués [49, 215] et d'étudier ensuite leurs associations avec la maladie et leurs interactions avec un facteur environnemental. Les associations génétiques et les interactions GxE peuvent également être explorées à l'échelle du génome par une **approche pangénomique ou GWAS**<sup>10</sup> pour les associations génétiques et **GWIS**<sup>11</sup> pour les interactions GxE, qui ne nécessite pas d'hypothèse préalable sur les gènes d'intérêt contrairement à l'approche gène candidat et qui consiste donc à étudier l'ensemble du génome. Cette approche a cependant des contraintes notamment d'un point de vue statistique car elle requiert un seuil de significativité statistique très strict (de l'ordre de  $10^{-8}$ ) en raison du grand nombre de tests à

---

<sup>10</sup> GWAS : Genome Wide Association Study

<sup>11</sup> GWIS : Genome Wide Interaction Study

effectuer [49, 215]. Enfin, une approche intermédiaire aux deux précédentes a été proposée, qui est une **approche dite par “pathways”** et qui consiste à sélectionner un grand nombre de gènes en intégrant dans le processus de sélection les informations sur les processus biologiques partagés par les gènes, les voies canoniques auxquelles ils appartiennent, et la connaissance liée à l’exposition environnementale ou professionnelle étudiée et à la maladie [215], puis d’étudier les associations entre ces gènes et la maladie ou leurs interactions avec l’exposition environnementale.

A ce jour, les études d’associations génétiques et d’interactions GxE sur l’asthme et l’exposition professionnelle sont limitées en nombre et concernent majoritairement les expositions professionnelles aux agents sensibilisants.

#### **II.4.2 Associations génétiques dans l’asthme lié au travail induit par les sensibilisants**

Concernant les sensibilisants, la littérature portait sur des études d’associations génétiques dans des populations de cas d’asthme professionnel induit par des agents HMW ou LMW, en particulier les diisocyanates. La plupart des gènes identifiés par ces études d’associations génétiques sont des gènes impliqués dans la réponse immunitaire, notamment les gènes localisés sur le complexe des antigènes des leucocytes humains (HLA) sur le chromosome 6 qui contient plus de 200 gènes dont plus de 40 qui codent pour les antigènes leucocytaires [147, 195]. Les molécules HLA de classe II sont exprimées principalement par les lymphocytes T et B, les macrophages et les cellules dendritiques qui sont impliquées notamment dans la réponse aux allergènes via la production d’IgE spécifiques. Des études répertoriées dans différentes revues de la littérature ont identifié ces molécules HLA de classe II comme des facteurs importants dans la spécificité de la réponse aux expositions professionnelles aux agents HMW et LMW tels que les diisocyanates, les anhydrides d’acide,

les sels de platine chlorés, le latex, les enzymes détergentes ou les protéines animales [147, 195, 216, 217] dont la plupart auraient un mécanisme allergique IgE-dépendant [11].

Un rôle des gènes impliqués dans la régulation de la différenciation des cellules TCD4+ naïves en cellules Th2 effectrices a également été montré dans l'asthme professionnel induit par les diisocyanates [147, 216, 217]. Une étude pangénomique a identifié deux polymorphismes situés sur le gène *CTNNA3*<sup>12</sup> et a montré que ce gène était un gène candidat pour l'asthme professionnel induit par le toluène diisocyanate [218]. Une autre étude pangénomique a identifié des variants génétiques localisés sur les gènes *HERC2*<sup>13</sup>, *CDH17*<sup>14</sup> et *ODZ3*<sup>15</sup> en tant que potentiels loci de susceptibilité pour l'asthme professionnel induit par les diisocyanates [219].

Des gènes des récepteurs Toll-like (TLR) qui sont des récepteurs jouant un rôle fondamental dans la reconnaissance des pathogènes et l'activation de l'immunité innée et adaptative [220] étaient associés au développement de l'asthme chez des travailleurs en contact avec des animaux et chez ceux exposés à des endotoxines [216, 217].

Concernant les gènes impliqués dans la réponse au stress oxydant, plusieurs études répertoriées dans différentes revues de la littérature [147, 195, 216, 217] ont étudié les gènes appartenant à la famille des *Glutathion S-Transferase* (*GSTM1*<sup>16</sup> et *GSTP1*<sup>17</sup>), une famille de gènes qui sont cruciaux pour la protection des cellules contre les produits d'oxydation tels que ceux issus de la peroxydation lipidique [195], et les gènes de la famille *N-Acetyltransferase* (*NAT1* et *NAT2*), une famille de gènes impliquée dans l'activation ou l'inactivation de nombreux xénobiotiques dont les médicaments antiinflammatoires [217], dans l'asthme professionnel induit par les diisocyanates. Pour le gène *GSTP1*, les résultats sont discordants avec des études qui ont montré un effet protecteur de l'allèle Val<sup>105</sup> dans l'asthme

---

<sup>12</sup> CTNNA3 : catenin alpha 3, alpha T catenin

<sup>13</sup> HERC2 : HECT And RLD Domain Containing E3 Ubiquitin Protein Ligase 2

<sup>14</sup> CDH17 : Cadherin 17

<sup>15</sup> ODZ3 alias TENM3 : Teneurin Transmembrane Protein 3

<sup>16</sup> GSTM1 : Glutathione S-Transferase Mu 1

<sup>17</sup> GSTP1 : Glutathione S-Transferase Pi 1

professionnel induit par les diisocyanates et une autre étude qui a montré que l'absence du gène (génotype 0) était associée à l'asthme professionnel induit par les diisocyanates. Pour le gène *GSTM1*, une étude a montré que l'absence du gène était associée à une augmentation du risque d'asthme professionnel induit par les diisocyanates tandis qu'une autre étude a montré une association avec une diminution du risque. Pour les gènes *NAT*, les études ont montré une association avec le risque d'asthme induit par les diisocyanates, plus précisément avec le génotype acétyleur lent de *NAT1* et des variants génétiques de *NAT2*.

### II.4.3 Interactions gène-environnement dans l'asthme lié au travail induit par les irritants

Concernant les irritants, la littérature est très limitée en nombre et portait sur des études d'interactions GxE. A notre connaissance, une seule étude a investigué les interactions entre des variants génétiques et l'exposition professionnelle aux irritants dans l'asthme. Cette étude réalisée dans trois cohortes européennes (EGEA, SAPALDIA et ECRHS) a sélectionné des gènes impliqués dans la réponse au stress oxydant par l'approche par "pathways" citée précédemment et a montré une interaction entre huit variants situés sur cinq gènes : *PLA2G4A*<sup>18</sup>, *PLA2R1*<sup>19</sup>, *RELA*<sup>20</sup>, *PRKD1*<sup>21</sup> et *PRKCA*<sup>22</sup> et l'exposition professionnelle aux agents LMW et irritants, en particulier les produits de nettoyage et désinfectants, dans l'asthme actuel débutant à l'âge adulte [24]. Ces gènes jouent un rôle dans l'activation du facteur de transcription NF-kB (nuclear factor-kappa B) responsable de l'expression de médiateurs de l'inflammation, un mécanisme associé au stress oxydant [24, 158].

Au-delà de l'asthme, une étude d'interaction GxE dans les cohortes EGEA et ECRHS s'est intéressée aux variants génétiques des canaux TRP (transient receptor potential) dans la relation entre l'exposition professionnelle aux irritants et la toux [221]. Les canaux TRP sont

---

<sup>18</sup> PLA2G4A : Phospholipase A2 Group IVA

<sup>19</sup> PLA2R1 : Phospholipase A2 Receptor 1

<sup>20</sup> RELA : *RELA Proto-Oncogene, NF-KB Subunit*

<sup>21</sup> PRKD1 : Protein Kinase D1

<sup>22</sup> PRKCA : Protein Kinase C Alpha



exprimés dans différentes cellules du poumon dont les cellules endothéliales et épithéliales, les cellules des muscles lisses bronchiques et les neurones qui participent aux réflexes des voies respiratoires *via* une inflammation neurogène [11, 221]. Cette étude a sélectionné par une approche candidate les gènes *TRPA1*<sup>23</sup>, *TRPV1*<sup>24</sup> et *TRPV4*<sup>25</sup> et a montré que des variants situés sur le gène *TRPV1* étaient associés à la toux chez des participants ayant une exposition professionnelle aux vapeurs, gaz, poussières et fumées [221].

#### **II.4.4 Synthèse de l'état des connaissances sur les facteurs génétiques et l'asthme lié au travail**

Bien que les études d'associations génétiques et les études d'interaction GxE aient permis d'identifier de nouveaux gènes dans l'asthme lié au travail, elles ont rarement pris en compte l'hétérogénéité de la maladie. Etudier les interactions GxE sur des endotypes d'asthme permettrait de prendre en compte cette hétérogénéité tout en apportant une meilleure compréhension des mécanismes biologiques associés et de l'étiologie de l'asthme. Etudier les interactions entre l'exposition professionnelle aux irritants et les gènes dans l'asthme en sélectionnant les gènes selon l'approche par « pathways » permettrait de mieux comprendre le rôle de la voie biologique du stress oxydant.

---

<sup>23</sup> TRPA1: Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily A Member 1

<sup>24</sup> TRPV1 : Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily V Member 1

<sup>25</sup> TRPV4 : Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily V Member 4

### III OBJECTIFS

---

L'objectif général de la thèse est de mieux comprendre par quels mécanismes physiopathologiques l'exposition professionnelle aux agents irritants affecte l'asthme, en se focalisant sur la voie biologique du stress oxydant.

Cet objectif général se décline en trois objectifs spécifiques :

- 1) Etudier les associations entre les marqueurs biologiques liés au stress oxydant et des caractéristiques de l'asthme d'une part, et les associations entre l'exposition professionnelle aux irritants et les marqueurs biologiques liés au stress oxydant d'autre part.
- 2) Etudier les associations entre l'exposition professionnelle aux irritants et des endotypes d'asthme identifiés par une méthode de classification non supervisée en intégrant des caractéristiques démographiques, cliniques et fonctionnelles et des marqueurs biologiques liés au stress oxydant et à l'inflammation.
- 3) Etudier les associations entre les gènes impliqués dans la réponse au stress oxydant sélectionnés par l'approche par « pathways » et les endotypes d'asthme, et étudier si ces associations sont modifiées par l'exposition professionnelle aux irritants.

#### **IV MATERIELS ET METHODES**

---

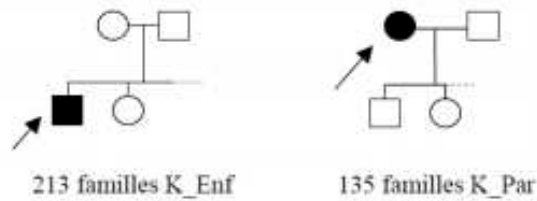
Cette partie présente dans un premier temps l'étude Epidémiologique des facteurs Génétiques et Environnementaux de l'Asthme (EGEA) dans laquelle les différents objectifs de la thèse ont été réalisés. Dans un deuxième temps, les principales caractéristiques cliniques et fonctionnelles de l'asthme ainsi que les marqueurs biologiques liés au stress oxydant étudiés sont décrits. Enfin, les principales analyses statistiques utilisées sont présentées.

## IV.1 Étude EGEA

### IV.1.1 Population d'étude

L'étude Epidémiologique des facteurs Génétiques et Environnementaux de l'Asthme, l'hyperréactivité bronchique et l'atopie (EGEA, <https://egeanet.vjf.inserm.fr/index.php/fr/>) a été initiée en 1990 avec pour objectifs: 1) de clarifier l'hétérogénéité clinique et étiologique de l'asthme, 2) de rechercher les facteurs génétiques de l'asthme et des phénotypes associés à l'asthme et les facteurs de risque environnementaux et 3) d'étudier les interactions entre facteurs génétiques et environnementaux. C'est une étude cas-témoins combinée à une étude familiale avec trois enquêtes se déroulant sur 20 ans, et une étude multicentrique réalisée dans cinq villes françaises : Paris, Grenoble, Lyon, Montpellier et Marseille [75, 222–224].

La première enquête EGEA1 a été conduite entre 1991 et 1995. Des participants âgés de 7 à 70 ans, nés en France et de parents nés en France et habitant dans l'une des cinq villes où se déroulait l'enquête ont été recrutés. Les participants asthmatiques ont été recrutés dans les services de consultations de pneumologie et d'allergologie de différents hôpitaux [75, 223]. Les témoins adultes ont été recrutés auprès des services de chirurgie du même hôpital que les cas, ou auprès du centre de dépistage de la sécurité sociale ou à partir des listes électorales. Tous les témoins enfants ont été recrutés dans les services de chirurgie du même hôpital que les cas. Les témoins ont été appariés sur l'âge, le mois d'examen et la ville de recrutement. Les apparentés du premier degré des cas (conjoint, et enfants des cas adultes ; parents et frères/sœurs des cas enfants) ont également été invités à participer à l'enquête. Ainsi, 348 familles ont été recrutées à partir d'un enfant asthmatique dans la famille ou à partir d'un adulte asthmatique dans la famille (Figure 11).



**Figure 11 : Sélection des apparentés du 1<sup>er</sup> degré des cas asthmatiques.**

Un échantillon initial de 1847 participants a été constitué comprenant 348 cas asthmatiques (213 adultes et 135 enfants), 416 témoins (310 adultes et 106 enfants) issus de la population générale ainsi que 1083 apparentés du 1<sup>er</sup> degré des cas asthmatiques (809 adultes et 274 enfants). Un échantillon complémentaire de 40 familles recensées à partir d'au moins deux germains asthmatiques a également été constitué pour augmenter la puissance statistique des analyses génétiques, comprenant 40 cas asthmatiques et 161 apparentés du 1<sup>er</sup> degré des cas asthmatiques.

Au total, 2048 participants ont été recrutés à EGEA1 dont 388 familles asthmatiques, 416 témoins et 1244 apparentés du 1<sup>er</sup> degré des cas asthmatiques [75, 223, 225].

Entre 2003 et 2007, une première enquête de suivi (EGEA2) a été réalisée. Un courrier postal accompagné d'un bref auto-questionnaire a été adressé à l'ensemble des familles ayant participé à EGEA1, ainsi qu'aux nouveaux membres des familles des asthmatiques (taux de réponse des participants en vie était de 92%, Figure en annexe 1). Puis ces participants ont été convoqués pour répondre à un questionnaire détaillé (taux de réponse de 77%) ainsi que des examens médicaux et une prise de sang. A EGEA2, 1601 participants dont 77% de la population initiale et 58 nouveaux apparentés des cas asthmatiques à EGEA1 ont été inclus [223, 224]. Parmi ces 1601 participants, 1571 étaient des adultes âgés d'au moins 16 ans et 698 avaient un asthme vie.

Entre 2011 et 2013, une deuxième enquête de suivi (EGEA3) a été effectuée par auto-questionnaire uniquement et au total, 1558 ont participé à EGEA3 (taux de réponse 79%) [75].

Aux trois enquêtes d'EGEA, les participants ont répondu à des questionnaires détaillés et standardisés, adaptés des questionnaires internationaux du British Medical Research Council/European Coal and Steel Community, de l'American Thoracic Society [226, 227], et de l'étude européenne European Community Respiratory Health Study [38]. Ces questionnaires comprenaient des questions sur les symptômes respiratoires et allergiques ainsi que sur les facteurs environnementaux tels que le tabagisme actif et passif, la présence d'animaux domestiques, les caractéristiques du logement et l'exposition professionnelle durant l'enfance et la vie d'adulte [223, 228]. A EGEA2, le questionnaire a été complété par des questions sur les traitements, l'alimentation ainsi qu'un questionnaire de qualité de vie et une évaluation du contrôle de l'asthme selon les recommandations du GINA. A EGEA3, des questions sur l'histoire résidentielle, l'activité physique et le sommeil ainsi qu'une évaluation du contrôle de l'asthme par l'Asthma Control Test (ACT) ont été ajoutées au questionnaire.

L'étude EGEA a obtenu les autorisations réglementaires auprès des comités de protection des personnes (hôpital Cochin Port-Royal, Paris pour EGEA1 et hôpital Necker-Enfants malades, Paris pour EGEA2), de l'agence nationale de la sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) ainsi que de la commission nationale de l'informatique et des libertés (CNIL). Tous les participants ont signé un consentement écrit.

Le recueil de données de l'étude EGEA a été certifié ISO 9001-2008 de 2006 à 2018 (<http://www.afaq.org/certification=262711141114>).

*Dans cette thèse, toutes les populations d'étude ont été sélectionnés à partir des participants adultes de l'enquête EGEA2 (N= 1571).*






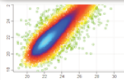


#### **IV.1.2 Données physiologiques et biologiques**

Différents examens cliniques et biologiques ont été réalisés à EGEA1 et EGEA2 (Figure 12). Ces examens comprenaient une spirométrie de base pour tous les participants âgés d'au moins sept ans, un test d'hyperréactivité bronchique à la méthacholine pour les participants avec un VEMS égal ou supérieur à 80% du prédit, des tests cutanés à 12 allergènes, une mesure de la FeNO, un recueil du condensat de l'air expiré et des prélèvements sanguins. Une banque biologique a été constituée à EGEA1 et complétée à EGEA2 : sérum, plasma et condensat, érythrocytes, ADN, ARN et des lignées cellulaires lymphoblastoïdes [75, 225]. La collection biologique est référencée dans le réseau Biobanque [229].

#### **IV.1.3 Génotypage**

Le génotypage de 1904 participants a été effectué au Centre National de Génotypage (CNG, Evry, France) selon une approche pangénomique dans le cadre du projet GABRIEL (<http://www.cng.fr/gabriel/>, [46], en utilisant la puce Illumina de la gamme 610 Quad (puce Illumina 610 Quad, Illumina, San Diego, États-Unis) (Figure 12). Pour accroître la densité des SNPs, des imputations ont été réalisées pour les SNPs non génotypés en utilisant les haplotypes de HapMap CEU (résidents de l'Utah ayant des ancêtres d'Europe du Nord et d'Europe de l'Ouest) comme panel de référence. Plus de 600 000 polymorphismes nucléotidiques ou SNPs répartis sur l'ensemble du génome et 2,5 millions de SNPs imputés sont ainsi disponibles dans l'étude EGEA. Des critères stricts de contrôle de qualité ont été appliqués aux SNPs génotypés : proportion de participants génotypés pour le SNP ou « call rate »  $\geq 95\%$ , fréquence de l'allèle mineur (MAF)  $\geq 5\%$  et valeur de p de l'équilibre d'Hardy-

Weinberg (HWE) < 10<sup>-4</sup>. De même pour les SNPs imputés : score de qualité d'imputation (rsq) ≥ 0,9 et MAF ≥ 5%).

	EGEA1 (1992-1995)	EGEA2 (2003-2007)	EGEA3 (2011-2013)
			
 <b>Population</b>	2047 subjects aged 7-70 years (388 cases with asthma, 1244 first degree of cases and 415 controls)	1601 subjects	1557 subjects
 <b>Detailed questionnaire</b>	Interview-based questionnaire on health and environment	Interview-based questionnaire on health and environment	Self-completed questionnaire on health and environment
 <b>Clinical examination</b>	Lung function tests with methacholine challenge, Skin prick tests to 11 aeroallergens	Lung function tests with methacholine challenge, FeNO, Skin prick tests to 12 aeroallergens	
 <b>Biological data</b>	total IgE, specific IgE to 160 allergens, white blood cell counts	Total IgE, specific IgE to 160 allergens, white blood cell counts, several cytokines	
 <b>Genetic and epigenetic data</b>	GWAS data (Illumina 610 Quad), methylome data (methylC-capture sequencing)	Methylome data GWAS data (Illumina 610 Quad)	
 <b>Biological collection (about 66 000 stored samples)</b>	Serum, plasma, buffy coat, DNA	Serum, plasma, buffy coat, DNA, RNA, lymphoblastoid cell lines, exhaled breath condensate	

**Figure 12 : Représentation graphique de la conception de l'étude EGEA (questionnaires, collection biologique et génétique).**

## IV.2 Caractéristiques cliniques et fonctionnelles liées à l'asthme et caractéristiques liées à l'allergie et à l'inflammation

### IV.2.1 Principales caractéristiques cliniques de l'asthme

L'**asthme vie** a été défini à EGEA1 chez les proposants asthmatiques par la réponse positive aux quatre questions suivantes : « *Avez-vous déjà eu des crises d'étouffement au repos avec des sifflements dans la poitrine ?* », « *Avez-vous déjà eu une crise d'asthme ?* », « *Ce*



*diagnostic a-t-il été confirmé par un médecin ? »*, et « *Avez-vous eu une crise d'asthme dans les douze derniers mois ? »* ; ou par la réponse positive à au moins deux de ces questions et un avis positif d'un comité d'expert médicaux [223]. L'asthme vie chez les apparentés des proposants ou chez les témoins a été défini par la réponse positive à au moins une des deux premières.

A EGEA2 et EGEA3, l'asthme vie a été défini par la réponse positive à au moins une des deux questions suivantes : « *Avez-vous déjà eu des crises d'étouffement au repos avec des sifflements dans la poitrine ? »*, « *Avez-vous déjà eu une crise d'asthme ? »* chez les apparentés des proposants ; ou par le fait d'avoir été recruté en tant qu'asthmatique à EGEA1.

*Comme toutes les populations d'étude dans cette thèse ont été sélectionnés à partir des participants adultes d'EGEA2, les définitions des caractéristiques cliniques et fonctionnelles liées à l'asthme ainsi que celles des caractéristiques liées à l'allergie et à l'inflammation ci-après sont données pour EGEA2.*

L'**asthme actuel** a été défini, chez les asthmatiques vie, par la déclaration d'au moins un symptôme respiratoire (sifflements, oppression thoracique nocturne, crises d'essoufflement après une activité intense, au repos ou pendant la nuit, ou crise d'asthme) ou de l'utilisation de médicaments par voie orale ou inhalée pour améliorer la respiration au cours des 12 derniers mois [230].

Le **contrôle de l'asthme** a été évalué en trois catégories sur une période de trois mois, au plus près des recommandations internationales du GINA 2015 [231, 232]. Les participants étaient définis comme ayant un asthme contrôlé, partiellement contrôlé ou non contrôlé s'ils avaient, respectivement, aucun, 1 à 2 ou 3 à 4 des critères suivant : 1) fréquence des symptômes

définie par au moins une crise d'asthme ou un ou plusieurs troubles respiratoires par semaine dans les trois derniers mois, 2) prise de traitement pour l'asthme au cours des trois derniers mois définie par l'utilisation de bronchodilatateurs à action brève ou de bêta 2 inhalée, 3) symptômes nocturnes (définis par un réveil dû à un asthme ou à une crise d'essoufflement dans les trois derniers mois), et 4) limitation d'activité définie par l'une des réponses suivantes : « totalement limité », « très limité », « limitation modérée », « quelques limitations », à la question « *Généralement, parmi toutes les activités que vous avez faites durant ces deux dernières semaines, comment avez-vous été limité par votre asthme ?* ».

Le **score de symptômes d'asthme** défini par Sunyer *et al.* [233, 234] et correspondant à un score allant de 0 (aucun symptôme) à 5 (5 symptômes) basé sur le nombre de réponses positives à des questions sur des symptômes d'asthme ressentis dans les 12 derniers mois a été construit. Les questions sur les symptômes d'asthme sont les suivantes : « *Avez-vous eu des sifflements dans la poitrine à un moment quelconque dans les 12 derniers mois ? Et avez-vous été essoufflé, même légèrement, lors de ces sifflements ?* » ; « *Vous êtes-vous réveillé avec une sensation de gêne respiratoire à un moment quelconque dans les 12 derniers mois ?* » ; « *Avez-vous eu une crise d'essoufflement, au repos, pendant la journée, à un moment quelconque dans les 12 derniers mois ?* » ; « *Avez-vous eu une crise d'essoufflement, après un effort intense, à un moment quelconque au cours des 12 derniers mois ?* » ; « *Avez-vous été réveillé par une crise d'essoufflement à un moment quelconque dans les 12 derniers mois ?* ».

## IV.2.2 Exploration fonctionnelle respiratoire

Des examens fonctionnels respiratoires ont été réalisés pour mesurer de nombreux paramètres dont deux ont été étudiés dans le cadre de cette thèse :

Le **Volume Expiratoire Maximal par Seconde (VEMS)** mesure la quantité d'air expiré pendant la première seconde d'une expiration forcée (il est demandé au participant, après avoir inspiré au maximum, d'expirer aussi vite et fort que possible). Ce volume est normalement égal à 70-80% de la capacité vitale, définie comme le volume d'air maximal que l'on peut expirer en une seule fois. La variation du VEMS a été calculée selon le pourcentage prédit de la valeur initiale à partir des valeurs de références de Quanjer *et al.* [235]. Le VEMS est mesuré grâce à un spiromètre. Lors de l'examen, la spirométrie a été répétée jusqu'à neuf fois jusqu'à l'obtention de trois tracés acceptables et reproductibles. Le VEMS varie selon l'âge, le sexe et la taille, et les valeurs prédites ont donc été calculées en fonction de ces trois variables.

L'**hyperréactivité bronchique (HRB)** se définit comme une sensibilité accrue et une réponse exagérée aux stimuli non allergiques qui provoquent un rétrécissement des voies respiratoires [236]. Elle permet donc de savoir si les bronches sont plus sensibles que la normale, ce qui est une caractéristique de l'asthme. L'hyperréactivité bronchique a été mesurée par le test à la méthacholine qui est un test standardisé consistant en l'inhalation d'une substance appelée méthacholine, qui a pour effet une contraction et un rétrécissement passager du calibre des bronches chez les participants dont les bronches sont plus sensibles [236]. Ce test a été réalisé uniquement chez les participants ayant un VEMS égal ou supérieur à 80% de la valeur prédite. L'HRB était définie de manière dichotomique par une diminution de 20% du VEMS de base pour une dose cumulée de méthacholine (PD20) inférieure ou égale à 4mg.

### IV.2.3 Caractéristiques liées à l'allergie et à l'inflammation

L'**atopie** a été définie par la réponse positive à au moins un des tests cutanés pour les 12 allergènes suivants : *Cupressus*, chat, *Dermatophagoïdes pteronyssinus*, *Alternaria tenuis*, phléole des prés, olivier, bouleau, *Parietaria judaica*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus*, ambroisie, et *Blattella germanica*. Un test était considéré positif pour un allergène si le diamètre de la papule était supérieur ou égal à 3mm par rapport à celui du témoin négatif.

Les **immunoglobulines E** (IgE) totales ont été mesurées dans le sérum par dosage radio-immunologique en utilisant le système UniCAP (Pharmacia®) dans un laboratoire centralisé.

Les IgE totales ont été exprimées en unité internationale par millilitre (IU/mL) [225, 237, 238].

Le nombre d'**éosinophiles** et de **neutrophiles** sanguins a été obtenu à partir de la numération formule sanguine ou hémogramme. Les valeurs seuils de 250 cellules / mm<sup>3</sup> pour les éosinophiles et de 5000 cellules / mm<sup>3</sup> pour les neutrophiles ont été choisis pour identifier l'asthme éosinophilique et l'asthme neutrophilique comme décrit précédemment [102, 239].

La valeur seuil pour les éosinophiles est celle couramment utilisée en épidémiologie et correspond au 75<sup>ème</sup> percentile de la distribution parmi les adultes à EGEA1, et la valeur seuil de 5000 neutrophiles / mm<sup>3</sup> correspond au 75<sup>ème</sup> percentile de la distribution.

### IV.3 Dosage des marqueurs biologiques liés au stress oxydant

Le dosage des marqueurs biologiques a été effectué à partir des échantillons sanguins ou du condensat de l'air expiré recueillis à EGEA2, traités, puis conservés à -80°C dans des biobanques jusqu'au moment du dosage. Tous les dosages ont été réalisés au Laboratoire de

Biochimie Biologie Moléculaire du CHRU de Lille selon des procédures validées et standardisées.

Deux types de marqueurs biologiques ont été étudiés au cours de cette thèse : trois marqueurs de réponse au stress oxydant que sont la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxidase (GPX) et la catalase et deux marqueurs de dommages liés au stress oxydant que sont les 8-isoprostanes et les produits d'oxydation fluorescents (POFs).

#### **IV.3.1 Dosage des marqueurs de réponse**

Le dosage des marqueurs de réponses a été effectué entre 2009 et 2011 soit 2 à 8 ans après la collection des échantillons sanguins. Les activités enzymatiques de la **SOD**, la **GPX**, et la **catalase** ont été mesurées dans les érythrocytes comme décrit dans les études précédentes [240–242]. Brièvement, après centrifugation, les érythrocytes ont été lavés et hémolysés puis centrifugés une seconde fois afin de récupérer l'hémolysat. L'hémolysat a été dilué avec du NaCl, la SOD a été extraite à partir de 0,5mL de cet hémolysat par ajout d'un mélange de chloroforme/éthanol (15/25, v/v). La phase aqueuse a été récupérée pour permettre la mesure de l'activité enzymatique par spectrophotométrie.

La concentration d'hémoglobine totale (Hb) a été mesurée par la méthode colorimétrique cyanméthémoglobine [243]. L'activité enzymatique a été exprimée en U/g d'Hémoglobine (Hb) pour la SOD et la GPX et en k/g d'Hb pour la catalase (1 k correspond à la constante de vitesse du premier ordre). Tous les échantillons ont été analysés en double ou en triple et le coefficient de variation était inférieur à 10% pour tous les dosages enzymatiques.

### IV.3.2 Dosage des marqueurs de dommages

Le dosage des **8-isoprostanes** a été effectué entre 2012 et 2013 soit 6 à 10 ans après la collection du condensat de l'air expiré. Le condensat de l'air expiré a été prélevé selon une méthode standardisée comme décrit précédemment [244] à l'aide de RTube® (RTube & accessoires, Respiratory Research INC., Charlottesville, VA, USA). Brièvement, le RTube a été rincé avec de l'eau déionisée puis séché soigneusement. Les participants ont respiré dans le RTube, plus précisément dans un embout buccal attaché à un condenseur froid (-20 °C) permettant ainsi de transformer le gaz en liquide. Les participants étaient assis confortablement avec un appui-tête. Tous les appui-têtes et les dossiers des sièges étaient légèrement inclinés pour éviter toute contamination par la salive lors des manœuvres de respiration. La respiration était calme et régulière. Après 15 minutes, le condensat a été immédiatement aliquoté et stocké à -80 °C selon des procédures standardisées [229].

Les 8-isoprostanes ont été dosés dans le condensat de l'air expiré à l'aide d'un kit de dosage immuno-enzymatique spécifique (8 isoprostanes EIA kit; Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA) conformément au protocole du fabricant. Cinquante µlitres de condensat ont été analysés en double. La densité optique a été mesurée grâce à un spectrophotomètre d'absorption moléculaire à une longueur d'onde  $\lambda_{max}$  de 412nm, puis a été reportée sur une courbe étalon afin d'obtenir la concentration en 8-isoprostanes exprimée en pg/mL. Les concentrations en 8-isoprostanes ont été calculées à partir d'une courbe d'étalonnage obtenue à partir de huit points d'étalonnage (0,8-2,1-5,1-12,8-32-80-200-500-500 pg/mL, où 0,8 pg/mL est la concentration la plus faible). La limite de détection des 8-isoprostanes était de 4,0 pg/mL et le coefficient de variation intra-essai était inférieur à 20%.

Le dosage des **POFs** a été effectué entre 2011 et 2012 soit 5 à 8 ans après la collection des échantillons sanguins. Les concentrations en POFs ont été mesurées dans le plasma, comme décrit dans l'étude de Wu *et al.* [134, 137]. Brièvement, un mélange d'éthanol/éther (3/1, v/v)

a été ajouté à un échantillon de 0,2mL de plasma. Après centrifugation, le surnageant a été récupéré et analysé en utilisant un spectrofluorimètre (360nm de longueur d'ondes d'excitation, 430nm de longueur d'ondes d'émission). La fluorescence a été exprimée en unité d'intensité relative de fluorescence par millilitre de plasma (RFU/mL) [134, 137]. Grâce à la courbe d'étalonnage, le report de l'intensité de fluorescence a permis d'obtenir les concentrations plasmatiques des POFs. Le coefficient de variation était inférieur à 20%.

L'heure du prélèvement sanguin, la durée de conservation des échantillons, et la variabilité entre les plaques de dosages peuvent influencer la concentration des marqueurs biologiques. Les associations entre ces paramètres et les concentrations des marqueurs ont été étudiées et les résultats montraient qu'ils n'affectaient pas les concentrations des marqueurs biologiques.

#### **IV.4 Identification des endotypes**

Cinq endotypes ont été identifiés par une approche non supervisée à EGEA2 comme décrit précédemment par Nadif *et al.* [139, 245], deux endotypes chez les participants non asthmatiques et trois endotypes chez les participants avec un asthme actuel. Les cinq endotypes seront décrits en détails dans le deuxième chapitre de la partie Résultats de ce manuscrit ([Partie V.2](#)).

##### **IV.4.1 Caractéristiques incluses dans les analyses de classification**

Chez tous les participants, quatre caractéristiques démographiques : âge (en continu), sexe, statut tabagique (non-, ex- et fumeurs actuels) et indice de masse corporelle (en continu) ; 20 caractéristiques cliniques et fonctionnelles : symptômes respiratoires dans les 12 derniers

mois, (essoufflement et respiration sifflante, crises d'essoufflement après une activité intense, au repos ou pendant la nuit, oppression et toux thoraciques nocturnes, toux chronique et flegme), dyspnée, test de sensibilisation allergique à 12 allergènes, rhinite actuelle, eczéma vie, utilisation de médicaments inhalés en raison de problèmes respiratoires dans les 12 derniers mois, VEMS et CVF ; et les marqueurs biologiques suivants : neutrophiles et éosinophiles, IgE totales, et POFs, tous exprimés en continu, ont été sélectionnées pour les analyses de classification. De plus, chez les asthmatiques actuels, cinq caractéristiques spécifiques à l'asthme ont également été sélectionnées : âge de début d'asthme (en continu), crise d'asthme dans les 12 derniers mois, admission à l'hôpital ou aux urgences dans les 12 derniers mois et l'utilisation de médicaments oraux en raison de problèmes respiratoires dans les 12 derniers mois. En résumé, 23 caractéristiques ont été incluses dans les analyses de classifications chez les non asthmatiques et 28 caractéristiques chez les asthmatiques actuels [139, 245].

#### **IV.4.2 Analyses de classification – modèles de mélange**

Pour identifier ces endotypes, des analyses de classification ont été effectuées à l'aide de modèles de mélange séparément chez les non asthmatiques et chez les asthmatiques actuels [139, 245]. Tout d'abord, pour traiter à la fois les données catégorielles et continues, une analyse factorielle des données mixtes (AFDM) qui combine une analyse en composante principale (ACP) pour les variables continues et une analyse des correspondances multiples (ACM) pour les variables qualitatives a été utilisée [246]. L'AFDM convertit toutes les variables en composantes continues. Ensuite, une étape d'imputation de données a été réalisée en utilisant le package {missMDA} pour imputer les données manquantes sur le statut tabagique chez les non asthmatiques, la rhinite chez les asthmatiques actuels et l'eczéma vie, l'utilisation de CSI, la sensibilisation allergique et la concentration en IgE totales chez tous les participants. Puis, des modèles de mélange ont été utilisés pour identifier les clusters



séparément chez les non asthmatiques et chez les asthmatiques actuels. Plus précisément, des modèles de mélange gaussiens (GMMs) ont été utilisés en raison de leur flexibilité et de la disponibilité de diverses structures de covariance qui peuvent être obtenues au moyen d'une décomposition propre [247]. Pour cela, le package {mclust} a été utilisé [248]. La sélection du modèle et les choix du nombre de composants, des paramètres de covariance et du nombre de clusters ont été réalisés en utilisant le critère d'information bayésien (BIC) [249, 250]. Chaque participant a été affecté au groupe dont la probabilité d'appartenance était la plus élevée. Toutes les analyses de classification ont été effectuées à l'aide du logiciel statistique R (version 3.5).

#### **IV.5 Estimation des expositions professionnelles**

L'histoire professionnelle des participants a été recueillie aux trois enquêtes d'EGEA grâce à un questionnaire détaillé portant sur l'intitulé du métier, le secteur d'activité, les tâches effectuées habituellement, qui devaient être précisément décrites par le participant ainsi que l'année de début et fin du métier. A EGEA1 et EGEA3, seules les informations sur les deux derniers métiers étaient recueillies. A EGEA2, l'ensemble de l'histoire professionnelle des participants était recueilli, incluant tous les stages d'au moins un mois et tous les métiers d'au moins trois mois.

A partir de ces informations, pour chaque métier, un code de métier à quatre chiffres a été attribué par un codeur expérimenté, selon la classification internationale standardisée de 1988 du Bureau International du Travail (BIT, Classification Internationale Type des Professions).

A partir de ces codes métiers, une nouvelle matrice emplois-expositions spécifique pour l'asthme (OAsJEM, <http://oasjem.vjf.inserm.fr/>) [251] a été appliquée à la population d'EGEA afin d'estimer les expositions professionnelles. Il s'agit d'une mise à jour de

l'ancienne matrice spécifique à l'asthme développée par Kennedy *et al.* [252] au début des années 2000, qui évaluait l'exposition à 22 agents à risque pour l'asthme [253]. Brièvement, la mise à jour a été effectuée par un groupe d'experts en 2018 suivant une procédure standardisée et sur la base de la littérature récente. La liste d'agents a été complétée pour aboutir à une version finale de la matrice OAsJEM composée de 30 agents connus ou suspectés comme étant à risque pour l'asthme. Ces 30 agents ont été classés en sept grands groupes (non mutuellement exclusifs) : agents de haut poids moléculaire, mites, expositions microbiennes, agents de petit poids moléculaire, irritants, produits chimiques hautement réactifs, et biocides (Tableau 4). L'exposition à chaque agent a été estimée sur la base des connaissances des experts selon trois catégories : « élevée » pour une exposition à probabilité élevée et à intensité modérée à forte, « moyen » pour une exposition à probabilité faible à modérée ou à intensité faible, et « non » pour peu susceptible d'être exposé (faible probabilité et faible intensité).

Pour améliorer les estimations, cette matrice a été complétée d'une phase de réévaluation de l'exposition par expertise. L'expertise a été réalisée pour certains codes de métier regroupant des métiers avec des tâches ou des secteurs d'activité variables, et pouvant impliquer des expositions différentes pour certains agents. Comme le questionnaire d'EGEA2 fournissait des informations détaillées concernant les tâches effectuées, des experts ont réévalué ces métiers au cas par cas et ont pris une décision sur le niveau d'exposition. Pour les données d'EGEA2, deux expertes (Mme Brigitte Dananché et Mme Dominique Oberson-Geneste) ont réalisé cette expertise et ont revu indépendamment 43% de l'ensemble des stages/métiers. En cas de désaccord, la décision finale a été prise par consensus.

*Dans cette thèse, les expositions professionnelles d'intérêt étaient évaluées à EGEA2, pour le métier actuel ou le dernier métier occupé et comprenaient les irritants et les sous-groupes*

correspondants, à savoir les produits chimiques hautement réactifs et les biocides. Un troisième sous-groupe a été constitué et nommé « produits de nettoyage / désinfectants » regroupant trois expositions spécifiques : désinfectants chimiques de haut niveau, nettoyant d'intérieur et eau de javel.

**Tableau 4 : Liste des agents à risque pour l'asthme classés dans sept grands groupes – OAsJEM.**

Agents (n=30)	Agents de haut poids moléculaire	Mites	Expositions microbiennes	Agents de petit poids moléculaire	Irritants	Produits chimiques hautement réactifs	Biocides
Animaux	1						
Poissons/crustacés	1						
Farine	1						
Aliments	1						
Poussières liées aux plantes	1						
Acariens	1	1					
Mites	1	1					
Acariens de végétaux	1	1					
Enzymes	1						
Latex	1						
Textiles	1		1		1		
Moisissures			1		1		
Endotoxines			1		1		
Médicaments	1			1			
Désinfectants chimiques de haut niveau				1	1	1	1
Amines aliphatiques				1	1	1	
Isocyanates				1	1	1	
Acrylates				1	1	1	
Résines époxy				1	1	1	
Persulfates/ henné				1	1	1	
Bois	1			1	1		
Métaux				1	1		
Fluides du travail des métaux				1	1		
Herbicides					1		1
Insecticides					1		1
Fongicides					1		1
Nettoyant d'intérieur					1		
Javel					1	1	1
Solvants organiques					1	1	
Gaz d'échappement					1		

Tableau extrait de l'article de Le Moual *et al.* [251].

## IV.6 Analyses statistiques

La normalité de la distribution des marqueurs biologiques a été vérifiée par une méthode graphique (histogramme) et par un test de Shapiro-Wilk. Pour les marqueurs biologiques dont la distribution ne suivait pas une loi normale, les valeurs des dosages ont été log-transformées et les concentrations sont exprimées en moyenne géométrique (MG) et quantiles (Q1-Q3).

Des régressions logistiques ont été utilisées pour étudier les variables explicatives binaires et les résultats sont présentés sous forme d'odds-ratio (OR) avec leurs intervalles de confiance à 95% (IC à 95%). Les variables explicatives continues ont été étudiées en utilisant des régressions linéaires et les résultats sont présentés sous forme de moyenne géométrique et leurs intervalles de confiance à 95%. Pour chacun de ces modèles de régression, la dépendance familiale entre les participants d'EGEA a été prise en compte par une approche d'équation d'estimation généralisée (GEE, procédure GENMOD sous SAS) pour les variables explicatives binaires et par un modèle linéaire mixte à intercept aléatoire (procédure MIXED sous SAS) pour les variables explicatives continues.

Les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant le logiciel de statistique SAS® (version 9.4 ; SAS Institute, Cary, NC, USA). Le seuil de significativité considéré pour l'ensemble des analyses était de 0,05.

Pour les analyses des données génétiques, la méthode est détaillée avant la présentation des résultats correspondants.

## V RESULTATS ET DISCUSSIONS

---

Cette partie présente et discute les résultats correspondant aux trois objectifs spécifiques de la thèse et comporte trois chapitres. Le premier chapitre porte sur l'étude des associations entre les marqueurs biologiques du stress oxydant et l'asthme d'une part et l'exposition professionnelle aux irritants d'autre part. Le deuxième chapitre porte sur l'étude des associations entre l'exposition professionnelle aux irritants et des endotypes d'asthme. Le troisième chapitre porte sur l'étude d'associations entre des gènes impliqués dans la réponse au stress oxydant et un endotype d'asthme et l'étude de la différence de cette association selon l'exposition professionnelle aux irritants.

## **V.1 Associations entre les marqueurs biologiques liés au stress oxydant, l'asthme et l'exposition professionnelle aux irritants**

Ce chapitre présente et discute les résultats du premier objectif de la thèse. Il est organisé en deux parties : 1) l'étude des associations entre les marqueurs biologiques du stress oxydant et les caractéristiques de l'asthme a) dans une analyse transversale, puis b) dans une analyse longitudinale ; et 2) l'étude des associations entre l'exposition professionnelle aux irritants et les marqueurs biologiques du stress oxydant dans une analyse transversale.

### **V.1.1 Associations entre les marqueurs biologiques liés au stress oxydant et l'asthme**

#### **V.1.1.1 Associations entre les marqueurs biologiques liés au stress oxydant et l'asthme : analyse transversale**

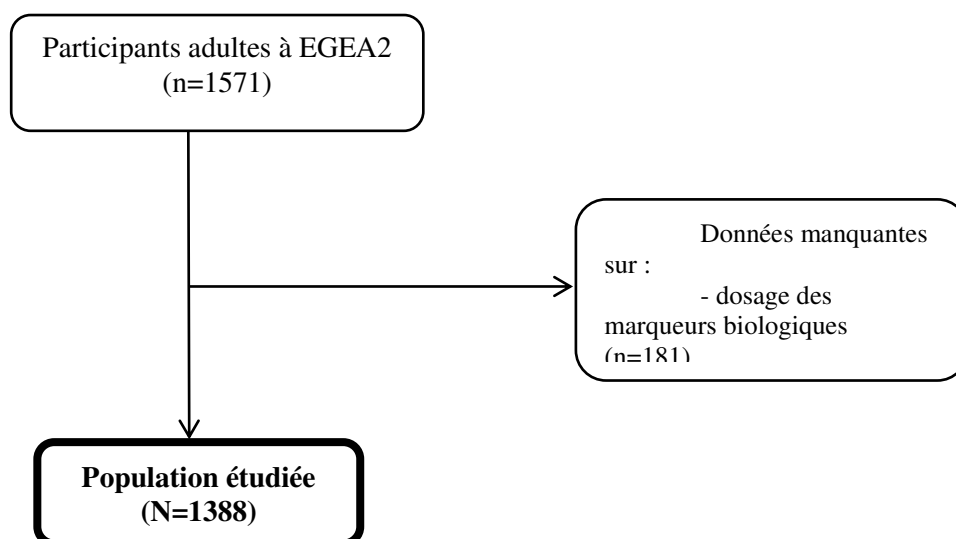
*Ce travail a été présenté au congrès de l'European Respiratory Society à Milan en septembre 2017 et a fait l'objet d'un article publié dans l'European Respiratory Journal en décembre 2017 [254].*

Dans l'étude EGEA, plusieurs marqueurs biologiques liés au stress oxydant mesurés dans le sang ou dans le condensat de l'air expiré étaient disponibles dont trois marqueurs de réponse et deux marqueurs de dommages. L'objectif est d'étudier les associations entre ces marqueurs biologiques et différentes caractéristiques de l'asthme.

## A) Matériels et méthodes

### *Sélection de la population d'étude*

Les analyses ont été effectuées en utilisant les données issues des participants adultes ( $\geq 16$  ans) d'EGEA2. Les participants ayant des données manquantes pour le dosage des marqueurs biologiques d'intérêt ainsi que le statut tabagique ont été exclus. Au final, 1388 participants ont été retenus pour les analyses (Figure 13). Les participants inclus avaient des caractéristiques cliniques similaires aux participants exclus (Annexe 2).



**Figure 13 : Sélection de la population dans l'étude des associations entre les marqueurs biologiques liés au stress oxydant et l'asthme.**

### *Caractéristiques de l'asthme*

Les caractéristiques de l'asthme étudiées étaient : l'asthme vie ; puis parmi les participants ayant un asthme vie : l'asthme actuel, l'asthme de l'adulte défini par un âge de début d'asthme  $\geq 16$  ans ; le contrôle de l'asthme ; les exacerbations de l'asthme définies par une admission aux urgences, une hospitalisation due à des problèmes respiratoires ou par l'utilisation de traitements oraux pour améliorer la respiration dans les 12 derniers mois ; les

symptômes respiratoires dans les 12 derniers mois ; et les traitements pour l'asthme définis par l'utilisation de traitements oraux ou inhalés pour améliorer la respiration dans les 12 derniers mois.

### ***Marqueurs biologiques liés au stress oxydant***

Les marqueurs biologiques d'intérêt étaient : la SOD, la GPX et la catalase, marqueurs de réponse dont les activités enzymatiques étaient mesurées dans les érythrocytes, et les 8-isoprostanes et les POFs, marqueurs de dommages dont les concentrations étaient mesurées dans le condensat de l'air expiré et dans le plasma respectivement. Excepté pour la catalase, les concentrations des marqueurs biologiques ont été log-transformées car leurs distributions ne suivaient pas une loi normale. Les résultats étaient exprimés en moyenne géométrique (MG) et quantiles (Q1-Q3) pour ces marqueurs et en moyenne et écart-type pour la catalase.

### ***Analyses statistiques***

Dans un premier temps, les marqueurs biologiques ont été décrits en fonction de l'âge, du sexe et du statut tabagique chez les participants non asthmatiques afin de s'affranchir de l'association entre le stress oxydant et l'asthme.

Dans un deuxième temps, les associations entre les marqueurs biologiques et les caractéristiques de l'asthme ont été étudiées à l'aide de régressions logistiques ajustées sur l'âge (en continu), le sexe et le statut tabagique (non fumeur, ex-fumeur et fumeur). En raison des faibles effectifs dans chacune des catégories définissant le contrôle de l'asthme, les catégories « partiellement contrôlé » et « non contrôlé » ont été regroupées pour construire une variable binaire (asthme mal contrôlé vs asthme contrôlé). Une analyse de sensibilité a été effectuée en ajustant sur le nombre de paquets-années ou la consommation journalière de tabac (g/jour) à la place du statut tabagique.



Pour présenter les résultats des régressions logistiques, les odds-ratio (OR) sont exprimés pour une augmentation d'un écart interquartile (IQR) de l'activité enzymatique ou de la concentration du marqueur biologique. L'IQR est défini par la distance entre le 25<sup>ème</sup> et le 75<sup>ème</sup> percentile [255]. L'OR compare les participants ayant une activité ou une concentration de marqueur élevée par rapport à ceux ayant une activité ou une concentration de marqueur faible.

## **B) Résultats**

### *Description de la population d'étude*

Parmi les 1388 participants inclus dans l'analyse, 614 avaient un asthme vie. L'âge moyen des participants était de 43 ans, 51% étaient des femmes et 23% étaient des fumeurs actuels. Les participants avec un asthme vie étaient majoritairement des hommes ( $p=0,01$ ), et ils étaient plus jeunes que les participants non asthmatiques ( $p<0,0001$ ). De plus, ces participants étaient plus allergiques, avaient un VEMS plus bas et plus d'hyperréactivité bronchique ainsi qu'un nombre élevé d'éosinophiles circulants par rapport aux participants non asthmatiques (toutes les valeurs de  $p < 0,0001$ ) (Tableau 5).

Parmi les participants avec un asthme vie, 89% avaient un asthme actuel, 32% avaient un asthme partiellement contrôlé et 11% un asthme mal contrôlé, 34% avaient un âge de début d'asthme  $\geq 16$  ans. Dans les 12 derniers mois, 66% déclaraient des traitements pour l'asthme (médicaments inhalés ou oraux), 40% déclaraient l'utilisation de corticoïdes inhalés, 38% déclaraient une crise d'asthme, 14% déclaraient des exacerbations de l'asthme, et 78% déclaraient des symptômes respiratoires (Tableau 5).

Chez tous les participants, les moyennes géométriques (Q1-Q3) de l'activité enzymatique des marqueurs de réponse au stress oxydant étaient de 1218 (1036-1449) U/g d'hémoglobine (Hb) pour la SOD et 39,1 (34,2-45,3) U/g d'Hb pour la GPX ; la moyenne ( $\pm$  ET) de la catalase était de  $163 \pm 40,4$  k/g d'Hb. Les moyennes géométriques étaient de 2,88 (1,31-6,66) pg/mL et de 93,3 (79,9-106) RFU/mL pour les concentrations des 8-isoprostanes et des POFs respectivement.

**Tableau 5 : Description des caractéristiques démographiques et cliniques des 1388 participants selon le statut asthmatique.**

Caractéristiques démographiques et cliniques	Tous les participants n=1388	Non asthmatiques n=774	Asthmatiques vie n=614	p <sup>†</sup>
Sexe, femmes, %	51,1	54,4	47,1	0,01
Age, moyenne (ET)	43,1 (16,5)	46,2 (15,9)	39,1 (16,3)	<0,0001
IMC, kg/m <sup>2</sup> , %	n=1365	n=761	n=604	
< 20	10,6	9,33	12,2	
[20-25[	51,6	50,5	53,0	0,09
[25-30[	27,8	30,1	24,8	
≥ 30	10,0	10,1	9,93	
Statut tabagique, %				
Non fumeur	50,1	50,1	50,2	
Ex fumeur	27,4	29,2	25,1	0,10
Fumeur actuel	22,5	20,7	24,8	
Age de début d'asthme, ans, %	n=573		n=573	
< 4	30,5		30,5	
[4-16[	35,1	-	35,1	
≥ 16	34,4		34,4	
Asthme actuel, %	n=572		n=572	
Oui	88,8	-	88,8	
Contrôle de l'asthme, %	n=537		n=537	
Contrôlé	57,9	-	57,9	
Partiellement contrôlé	31,5		31,5	
Non contrôlé	10,6		10,6	
Crise d'asthme (12 mois), %	n=611		n=611	
Oui	38,1	-	38,1	
Exacerbations (12 mois), %	n=573		n=573	
Oui	13,6	-	13,6	
Corticoïdes inhalés (12 mois), %	n=1381	n=772	n=609	
Oui	19,6	3,24	40,4	<0,0001
VEMS % prédit, moyenne (ET)	n=1360	n=757	n=603	
	102 (18,0)	107 (16,5)	96,9 (18,4)	<0,0001
VEMS < 80% prédit, %	n=1360	n=757	n=603	
Oui	9,7	5,42	15,1	<0,0001
Test à la méthacholine, PD20 ≤ 4mg, %	n=851	n=487	n=364	
	44,3	26,9	67,6	<0,0001
Test cutané positif, %	n=1281	n=716	n=565	
	56,3	38,5	78,8	<0,0001
IgE totales ≥ 100 IU/mL, %	n=1383	n=772	n=611	
	43,0	29,5	60,1	<0,0001
Nombre d'EOS, moyenne (ET)	n=1378	n=767	n=611	
	204 (161)	168 (124)	248 (189)	
≥ 250 cellules/mm <sup>3</sup> , %	26,9	17,2	39,2	<0,0001
Nombre de NEU, moyenne (ET)	n=1378	n=767	n=611	
	3998 (1388)	3971 (1328)	4031 (1460)	
≥ 5000 cellules/mm <sup>3</sup> , %	20,0	19,2	21,0	0,42

ET : écart-type ; IMC : indice de masse corporelle ; VEMS : volume expiratoire maximal par seconde ; PD20 : dose cumulée de méthacholine inférieure ou égale à 4mg provoquant une diminution de 20% du VEMS ; IgE : immunoglobuline E ; EOS : éosinophiles ; NEU : neutrophiles.

### ***Description des marqueurs biologiques liés au stress oxydant chez les participants non asthmatiques***

Les Tableaux 6 et 7 présentent respectivement la description des activités enzymatiques des marqueurs de réponse et des concentrations des marqueurs de dommages chez les participants non asthmatiques en fonction des caractéristiques démographiques. Parmi les marqueurs de réponse (Tableau 6), l'activité enzymatique de la catalase augmentait avec l'IMC (p de tendance = 0,02) et était plus élevée chez les fumeurs actuels et ex-fumeurs que chez les non fumeurs (p de tendance = 0,004). L'activité de la GPX était positivement associée à l'âge (p de tendance = 0,01) et était plus élevée chez les femmes que chez les hommes (p < 0,0001). L'activité de la SOD était négativement associée à l'âge (p de tendance < 0,0001) et positivement associée à l'IMC (p de tendance = 0,003).

Parmi les marqueurs de dommages (Tableau 7), la concentration en 8-isoprostanes était négativement associée à l'âge (p de tendance = 0,01), et était plus élevée chez les femmes que chez les hommes (p = 0,04). La concentration en POFs était positivement associée à l'âge (p de tendance < 0,0001) et était plus élevée chez les fumeurs actuels et ex-fumeurs par rapport aux non fumeurs (p de tendance < 0,0001). De plus, chez les fumeurs actuels et ex-fumeurs, la concentration en POFs était positivement associée au nombre de paquets-années (p de tendance = 0,03) ; et chez les fumeurs actuels, la concentration en POFs était associée positivement à la consommation de tabac journalière (p de tendance = 0,001) (Figure en annexe 3).

**Tableau 6 : Description des marqueurs de réponse au stress oxydant chez les participants non asthmatiques en fonction des caractéristiques démographiques (n=774).**

	Catalase (k/g d'Hb)			GPX (U/g d'Hb)			SOD (U/g d'Hb)		
	n	Moyenne (ET)	p p*	n	MG (Q1 ; Q3)	p p*	n	MG (Q1 ; Q3)	p p*
<b>Age (ans)</b>									
[16-25[	93	169 (34,6)		93	38,9 (33,7 ; 44,0)		93	1265 (1083 ; 1517)	
[25-35[	133	154 (44,2)	<b>0,03</b>	134	37,0 (32,5 ; 42,5)	<b>0,001</b>	134	1260 (1083 ; 1511)	<b>0,01</b>
[35-45[	93	163 (38,6)	<b>0,04</b>	96	38,9 (33,3 ; 44,0)	<b>0,01</b>	96	1244 (1044 ; 1509)	<b>0,003</b>
[45-55[	181	168 (34,9)		182	40,6 (35,7 ; 46,7)		182	1204 (1206 ; 1413)	
≥ 55	262	162 (40,8)		266	40,1 (35,0 ; 46,4)		265	1170 (960 ; 1410)	
p de tendance*			0,94			<b>0,01</b>			<b>&lt;0,0001</b>
<b>Sexe</b>									
Homme	349	163 (39,4)	0,77	349	37,8 (33,1 ; 43,8)	<b>&lt; 0,0001</b>	350	1226 (1027 ; 1474)	0,31
Femme	413	164 (39,3)	0,30	420	40,7 (35,7 ; 46,7)	<b>&lt; 0,0001</b>	420	1204 (1021 ; 1453)	0,71
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>									
< 20	71	165 (33,9)		71	39,8 (35,4 ; 44,8)		71	1194 (1009 ; 1421)	
[20-25[	376	160 (39,7)	0,07	382	39,2 (33,8 ; 45,7)	0,87	382	1193 (1011 ; 1411)	0,28
[25-30[	226	165 (41,1)	0,06	227	39,7 (35,1 ; 45,8)	0,62	228	1232 (1034 ; 1470)	<b>0,02</b>
≥ 30	76	171 (37,1)		76	39,6 (35,8 ; 45,2)		76	1247 (1034 ; 1606)	
p de tendance*			<b>0,02</b>			0,73			<b>0,003</b>
<b>Statut tabagique</b>									
Non fumeur	380	159 (39,3)		385	39,6 (34,9 ; 44,8)		386	1216 (1022 ; 1474)	
Ex-fumeur	225	167 (40,0)	<b>0,02</b>	225	39,7 (34,0 ; 46,5)	0,13	225	1190 (1028 ; 1441)	0,24
Fumeur actuel	157	167 (37,7)	<b>0,02</b>	159	38,2 (33,6 ; 44,0)	0,59	159	1242 (1033 ; 1452)	0,42
p de tendance*			<b>0,004</b>			0,47			0,70

GPX : glutathion peroxydase ; SOD : superoxyde dismutase ; MG : moyenne géométrique ; Hb : hémoglobine ; IMC : indice de masse corporelle.

\*ajustement sur l'âge, le sexe et le statut tabagique.

**Tableau 7 : Description des marqueurs de dommages liés au stress oxydant chez les participants non asthmatiques en fonction des caractéristiques démographiques (n=774).**

	8-isoprostane (pg/mL)			POFs (RFU/mL)		
	n	MG (Q1 ; Q3)	p p*	n	MG (Q1 ; Q3)	p p*
<b>Age (ans)</b>						
[16-25[	52	3,97 (1,75 ; 7,67)		90	86,5 (74,9 ; 96,3)	
[25-35[	65	2,73 (1,14 ; 8,08)	<b>0,04</b>	129	89,3 (77,2 ; 101)	<b>&lt; 0,0001</b>
[35-45[	47	1,98 (0,84 ; 5,28)	<b>0,03</b>	91	92,0 (81,4 ; 101)	<b>&lt; 0,0001</b>
[45-55[	96	2,52 (1,21 ; 5,70)		177	96,9 (83,4 ; 112)	
≥ 55	113	2,01 (0,74 ; 4,66)		251	100 (87,0 ; 113)	
p de tendance*			<b>0,01</b>			<b>&lt;0,0001</b>
<b>Sexe</b>						
Homme	164	2,08 (1,05 ; 5,18)	<b>0,04</b>	335	93,1 (80,7 ; 105)	0,07
Femme	209	2,82 (1,14 ; 6,12)	<b>0,02</b>	403	95,9 (82,3 ; 109)	<b>0,03</b>
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>						
< 20	38	2,39 (0,74 ; 9,03)		68	90,9 (76,5 ; 102)	
[20-25[	193	2,67 (1,10 ; 6,62)	0,70	363	95,1 (82,7 ; 108)	0,17
[25-30[	100	2,17 (1,19 ; 4,35)	0,56	226	94,0 (80,3 ; 109)	0,34
≥ 30	42	2,38 (1,09 ; 5,67)		73	98,4 (85,2 ; 107)	
p de tendance*			0,45			0,91
<b>Statut tabagique</b>						
Non fumeur	176	2,62 (1,15 ; 6,15)		367	91,8 (79,4 ; 103)	
Ex-fumeur	124	2,16 (1,00 ; 5,24)	0,45	220	98,0 (85,2 ; 113)	<b>0,001</b>
Fumeur actuel	73	2,65 (1,22 ; 5,44)	0,92	151	96,9 (85,1 ; 111)	<b>0,0001</b>
p de tendance*			0,80			<b>&lt;0,0001</b>

POFs: produits d'oxydation fluorescents ; RFU : intensité relative de fluorescence ; MG: moyenne géométrique ; IMC : indice de masse corporelle.

\*ajustée sur l'âge, le sexe et le statut tabagique.

### *Associations entre les marqueurs biologiques liés au stress oxydant et l'asthme vie*

Aucune association significative n'était observée entre l'activité enzymatique de la SOD, la GPX ou la catalase et l'asthme vie (Tableau 8). La concentration en 8-isoprostanes était plus élevée tandis que la concentration en POFs était plus faible chez les participants avec un asthme vie comparés aux participants non asthmatiques. Après ajustement sur l'âge, le sexe et le statut tabagique, seule l'association entre les 8-isoprostanes et l'asthme vie restait significative (Tableaux 8 et 10).

**Tableau 8 : Associations entre les marqueurs biologiques liés au stress oxydant et l’asthme vie.**

	Tous les participants		Participants non asthmatiques		Participants avec asthme vie		p p†
	n	MG (Q1 ; Q3)	n	MG (Q1 ; Q3)	n	MG (Q1 ; Q3)	
<b>Marqueurs de réponse</b>							
SOD (U/g d’Hb)	1377	1218 (1036 ; 1449)	770	1213 (1024 ; 1454)	607	1223 (1064 ; 1439)	0,54 0,66
GPX (U/g d’Hb)	1378	39,1 (34,2 ; 45,3)	769	39,4 (34,3 ; 45,4)	609	38,7 (33,9 ; 44,8)	0,16 0,95
CAT (k/g d’Hb), moyenne (ET)	1368	163 (40,4)	762	163 (39,3)	606	162 (47,7)	0,70 0,79
<b>Marqueurs de dommages</b>							
8-isoprostanes (pg/mL)	688	2,88 (1,31 ; 6,66)	373	2,46 (1,10 ; 5,73)	315	3,46 (1,63 ; 7,70)	<b>0,001</b> <b>0,02</b>
POFs (RFU/mL)	1325	93,3 (79,9 ; 106)	738	94,6 (81,9 ; 108)	587	91,5 (78,0 ; 102)	<b>0,01</b> 0,74

MG: moyenne géométrique ; ET : écart-type ; SOD: superoxyde dismutase; GPX: glutathion peroxydase; POFs: produits d’oxydation fluorescents ; RFU : intensité relative de fluorescence ; Hb : hémoglobine  
†ajustement sur l’âge, le sexe et le statut tabagique

***Associations entre les marqueurs de dommages liés au stress oxydant et les caractéristiques de l’asthme chez les participants avec un asthme vie***

Parmi les participants avec un asthme vie, il n’y avait pas d’association significative entre les marqueurs de réponse au stress oxydant et les caractéristiques de l’asthme (Tableau 9).

Les marqueurs de dommages étaient associés à plusieurs caractéristiques de l’asthme (Tableau 10). La concentration en 8-isoprostanes était significativement plus élevée chez les participants avec un asthme débutant dans l’enfance comparée à celle des participants avec un asthme débutant à l’âge adulte. Aucune autre association significative n’était observée entre les 8-isoprostanes et les caractéristiques de l’asthme.

Une concentration élevée en POFs était associée significativement à un asthme débutant à l’âge adulte, à un asthme mal contrôlé, aux crises d’asthme, à la prise de traitements pour asthme, et à l’utilisation de corticoïdes inhalés dans les 12 derniers mois. De plus, une association significative était observée entre la concentration en POFs et une fonction

ventilatoire basse. De même, la concentration en POFs était corrélée négativement avec le VEMS ( $r=-0,16$ ,  $p=0,0001$ ). Toutes ces associations restaient significatives après ajustement sur l'âge, le sexe et le statut tabagique, à l'exception de l'association entre les POFs et l'asthme de l'adulte. Aucune association significative n'était observée entre les POFs et les symptômes respiratoires. Des résultats similaires étaient observés après ajustement sur le nombre de paquets-années ou la consommation journalière de tabac à la place du statut tabagique (Annexe 4).

Parmi les participants avec un asthme vie, aucune association significative n'était observée entre les marqueurs biologiques liés au stress oxydant et l'hyperréactivité bronchique.

#### ***Associations entre les marqueurs de dommages liés au stress oxydant et les marqueurs d'allergie et d'inflammation***

Aucune association significative n'était observée entre les marqueurs de dommages et les marqueurs d'allergie (IgE totales ou tests cutanés positifs) (Tableau 11). Concernant les marqueurs d'inflammation (neutrophiles et éosinophiles), une association positive et significative était observée entre les POFs et les neutrophiles ( $\geq 5000$  versus  $< 5000$  cellules/mm<sup>3</sup>). Aucune autre association significative n'était observée.



**Tableau 9 : Associations entre les marqueurs de réponse au stress oxydant et les caractéristiques de l'asthme.**

	Superoxyde dismutase (U/g d'Hb)			Glutathion peroxydase (U/g d'Hb)			Catalase (k/g d'Hb)		
	n	OR (IC à 95%)*	OR <sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*	n	OR (IC à 95%)*	OR <sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*	n	OR (IC à 95%)*	OR <sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*
<b>Asthme vie</b> (vs non asthmatiques)	1377	1,04 (0,91 ; 1,20)	0,96 (0,83 ; 1,12)	1378	0,91 (0,81 ; 1,03)	1,01 (0,89 ; 1,15)	1368	0,97 (0,84 ; 1,11)	0,97 (0,85 ; 1,12)
<i>Parmi les participants avec un asthme vie</i>									
<b>Asthme actuel</b> (vs non asthmatique actuel)	567	1,04 (0,74 ; 1,46)	1,08 (0,76 ; 1,54)	568	0,85 (0,62 ; 1,17)	0,83 (0,59 ; 1,15)	565	0,96 (0,66 ; 1,38)	0,93 (0,64 ; 1,35)
<b>Crise d'asthme, 12 mois</b>	604	0,95 (0,68 ; 1,21)	0,91 (0,64 ; 1,19)	606	0,95 (0,74 ; 1,15)	0,90 (0,68 ; 1,11)	603	1,10 (0,88 ; 1,32)	1,13 (0,91 ; 1,35)
<b>Asthme mal contrôlé***§</b> (vs asthme contrôlé)	532	0,87 (0,67 ; 1,13)	0,91 (0,70 ; 1,19)	533	0,87 (0,70 ; 1,09)	0,82 (0,65 ; 1,04)	530	1,00 (0,79 ; 1,28)	1,01 (0,79 ; 1,29)
<b>VEMS &lt; 80% prédit**</b>	596	0,98 (0,69 ; 1,40)	1,15 (0,77 ; 1,73)	598	1,21 (0,93 ; 1,57)	1,12 (0,84 ; 1,50)	595	1,04 (0,77 ; 1,39)	1,02 (0,76 ; 1,36)

\*OR exprimé pour une augmentation d'un écart interquartile (distance entre le 25ème et le 75ème percentile) de l'activité enzymatique de chaque marqueur biologique ; ajusté sur l'âge, le sexe et le statut tabagique ; § « asthme mal contrôlé » regroupe les catégories « partiellement contrôlé » et « non contrôlé ».

\*\*les résultats étaient similaires quand on restreignait l'analyse chez les participants avec un asthme actuel ; Hb : hémoglobine ; VEMS : volume expiratoire maximal par seconde.

**Tableau 10 : Associations entre les marqueurs de dommages liés au stress oxydant et les caractéristiques de l'asthme.**

	8-isoprostanes (pg/mL)			Produits d'oxydation fluorescents (RFU/mL)		
	n	OR (IC à 95%)*	OR <sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*	n	OR (IC à 95%)*	OR <sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*
<b>Asthme vie (vs non asthmatiques)</b>	688	<b>1,40 (1,17 ; 1,67)</b>	<b>1,28 (1,06 ; 1,55)</b>	1325	0,84 (0,73 ; 0,96)	0,98 (0,86 ; 1,13)
<i>Parmi les participants avec un asthme vie</i>						
<b>Asthme de l'adulte† (vs asthme de l'enfance)</b>	294	<b>0,51 (0,35 ; 0,76)</b>	<b>0,63 (0,41 ; 0,97)</b>	548	<b>1,55 (1,25 ; 1,93)</b>	1,08 (0,85 ; 1,38)
<b>Asthme actuel (vs non asthmatique actuel)</b>	295	0,65 (0,38 ; 1,13)	0,69 (0,40 ; 1,18)	547	1,44 (0,97 ; 2,16)	1,38 (0,92 ; 2,06)
<b>Asthme mal contrôlé** (vs asthme contrôlé)</b>	282	0,82 (0,59 ; 1,15)	0,86 (0,61 ; 1,22)	514	<b>1,40 (1,11 ; 1,77)</b>	<b>1,30 (1,02 ; 1,66)</b>
<b>Crise d'asthme, 12 mois</b>	315	0,80 (0,58 ; 1,10)	0,80 (0,57 ; 1,12)	584	<b>1,27 (1,04 ; 1,55)</b>	<b>1,33 (1,07 ; 1,65)</b>
<b>Exacerbations, 12 mois</b>	297	0,75 (0,47 ; 1,20)	0,79 (0,50 ; 1,25)	549	1,18 (0,90 ; 1,56)	1,11 (0,81 ; 1,52)
<b>Symptômes respiratoires, 12 mois</b>	311	0,73 (0,35 ; 1,10)	0,76 (0,39 ; 1,13)	582	1,17 (0,87 ; 1,46)	1,11 (0,81 ; 1,41)
<b>Traitements pour asthme, 12 mois§</b>	315	0,77 (0,45 ; 1,09)	0,80 (0,47 ; 1,13)	587	<b>1,34 (1,12 ; 1,56)</b>	<b>1,29 (1,05 ; 1,52)</b>
<b>Utilisation de CSI, 12 mois</b>	313	0,72 (0,51 ; 1,00)	0,80 (0,57 ; 1,11)	582	<b>1,45 (1,19 ; 1,77)</b>	<b>1,30 (1,05 ; 1,60)</b>
<b>VEMS &lt; 80% prédit**</b>	314	0,85 (0,52 ; 1,39)	1,01 (0,64 ; 1,60)	579	<b>1,63 (1,28 ; 2,07)</b>	<b>1,34 (1,04 ; 1,74)</b>
<b>Test à la métacholine PD20 ≤ 4mg**</b>	193	0,92 (0,54 ; 1,30)	0,84 (0,42 ; 1,26)	354	0,97 (0,68 ; 1,26)	0,97 (0,65 ; 1,28)

Résultats significatifs en gras. \*OR exprimé pour une augmentation d'un écart interquartile (distance entre le 25ème et le 75ème percentile) de la concentration de chaque marqueur biologique ; ajusté sur l'âge, le sexe et le statut tabagique; \*\*les résultats étaient similaires quand on restreignait l'analyse chez les participants avec un asthme actuel; †asthme de l'adulte défini pour un âge de début d'asthme ≥ 16 ans et l'asthme de l'enfance est le groupe de référence; §les traitements pour asthme définis par l'utilisation de traitements oraux ou inhalés pour améliorer la respiration dans les 12 derniers mois; RFU : intensité relative de fluorescence ; CSI: corticoïdes inhalés seuls ou combinés à un B2-agoniste à longue durée d'action; VEMS : volume expiratoire maximal par seconde; PD20: dose cumulée de métacholine inférieure ou égale à 4mg provoquant une diminution de 20% du VEMS.

**Tableau 11 : Associations entre les marqueurs de dommages liés au stress oxydant et les marqueurs d'allergie et d'inflammation chez les participants avec un asthme vie.**

	8-isoprostanes (pg/mL)			Produits d'oxydation fluorescents (RFU/mL)		
	n	OR (95% IC)*	OR <sub>ajusté</sub> (95% IC)*	n	OR (95% IC)*	OR <sub>ajusté</sub> (95% IC)*
<i>Marqueurs d'allergie</i>						
<b>IgE totales</b>						
≥100 IU/mL	314	0,98 (0,72 ; 1,34)	0,85 (0,61 ; 1,18)	584	0,99 (0,82 ; 1,21)	1,17 (0,93 ; 1,47)
<b>Test cutané positif</b>	297	0,92 (0,62 ; 1,37)	0,70 (0,47 ; 1,05)	546	0,86 (0,68 ; 1,08)	1,19 (0,90 ; 1,57)
<i>Marqueurs d'inflammation</i>						
<b>Neutrophiles**</b>						
≥5000 cellules/mm <sup>3</sup>	315	0,88 (0,62 ; 1,26)	0,94 (0,65 ; 1,36)	587	<b>1,38 (1,11 ; 1,72)</b>	<b>1,34 (1,06 ; 1,70)</b>
<b>Éosinophiles**</b>						
≥250 cellules/mm <sup>3</sup>	315	0,87 (0,63 ; 1,19)	0,84 (0,60 ; 1,16)	587	0,94 (0,78 ; 1,13)	1,02 (0,84 ; 1,25)

Résultats significatifs en gras.

\* OR exprimé pour une augmentation d'un écart interquartile (distance entre le 25ème et le 75ème percentile) de chaque concentration de biomarqueur ; ajustée sur l'âge, le sexe et le statut tabagique

\*\* les résultats étaient similaires quand on restreignait l'analyse chez les participants avec un asthme actuel ; RFU : intensité relative de fluorescence ; IgE : Immunoglobuline E.

## C) Discussion

Cette étude examinait l'association entre des marqueurs biologiques liés au stress oxydant et différentes caractéristiques de l'asthme. Aucune association significative n'était observée entre les marqueurs de réponse et les caractéristiques de l'asthme. Concernant les marqueurs de dommages, une association positive et significative était observée entre les 8-isoprostanes et l'asthme vie. Parmi les participants avec un asthme vie, pour la première fois, des associations positives et significatives étaient montrées entre les 8-isoprostanes et un asthme débutant dans l'enfance, et entre les POFs et un asthme mal contrôlé, des crises d'asthme, une prise de traitements pour l'asthme, une fonction ventilatoire basse, et un asthme neutrophilique.

La principale force de cette étude était l'analyse des associations entre différents types de marqueurs biologiques liés au stress oxydant soit de réponse soit de dommages. Les enzymes antioxydantes érythrocytaires sont des marqueurs de réponse intracellulaires [91] qui se situent en amont dans la voie biologique du stress oxydant, dans le continuum entre l'environnement et la maladie [17, 256]. Les POFs reflètent les dommages dus aux processus d'oxydation de l'ADN, de protéines et de lipides [137], et les 8-isoprostanes sont des produits spécifiques de la peroxydation lipidique [257]. Ces deux marqueurs de dommages se situent en aval dans la voie biologique du stress oxydant.

Certaines caractéristiques démographiques peuvent avoir un effet sur l'activité ou la concentration des marqueurs biologiques. Il est connu que le stress oxydant est associé à l'âge [258] : plus l'âge augmente plus le système de défense de l'organisme diminue, modifiant l'activité ou la concentration des marqueurs. Dans nos analyses, tous les marqueurs biologiques étudiés étaient associés à l'âge. La GPX et les POFs augmentaient avec l'âge tandis que la catalase, la SOD et les 8-isoprostanes diminuaient quand l'âge augmentait. Pour

les marqueurs de réponse, les résultats sont en accord avec ceux de la littérature où des associations négatives entre l'âge et la SOD et la catalase ont été observées [258, 259] tandis qu'une association positive a été observée avec la GPX [259]. Pour les marqueurs de dommages, les résultats sont discordants avec des études qui observaient des associations positives entre les POFs et l'âge [133, 260] tandis que d'autres n'observaient aucune association significative entre les POFs [136] ou les 8-isoprostanes [261, 262] et l'âge. Les hommes et les femmes pourraient également avoir une capacité différente à maintenir le statut redox en raison du rôle des hormones sexuelles [263], qui pourraient avoir un effet sur l'activité ou la concentration des marqueurs biologiques. Dans nos analyses, la GPX, les 8-isoprostanes et les POFs étaient plus élevés chez les femmes que chez les hommes. Ces résultats sont en accord avec ceux de la littérature où une différence des activités enzymatiques de la GPX selon le sexe était observée avec une activité plus élevée chez les femmes que chez les hommes [259, 263, 264]. Une étude montrait également que la concentration en isoprostanes était plus élevée chez les femmes que chez les hommes [261]. Enfin, le tabagisme peut avoir un effet sur l'activité ou la concentration des marqueurs biologiques. Nous avons observé que l'activité de la catalase et la concentration en POFs étaient plus élevées chez les fumeurs et ex-fumeurs. Ces résultats sont en accord avec ceux de la littérature pour les POFs [137, 138, 198, 260]. Pour la catalase, nos résultats sont discordants car dans la littérature, aucune association significative n'a été montrée entre la catalase et le tabac [259]. D'autres études montraient également que la concentration en 8-isoprostanes était plus élevée chez les fumeurs [257, 261]. De même, une étude a montré que l'activité de la SOD était plus élevée chez les asthmatiques fumeurs comparés à des asthmatiques non fumeurs [122]. Malgré quelques discordances, nos résultats sont dans l'ensemble cohérents avec ceux de la littérature. L'âge, le sexe et le tabac sont associés à l'activité ou à la concentration des marqueurs biologiques, et ces caractéristiques ont été prises en compte dans nos analyses comme facteurs de confusion potentiels.

Nous n'avons observé aucune association significative entre l'activité de la SOD, de la GPX et de la catalase dans les érythrocytes et les caractéristiques de l'asthme. Ces résultats sont en contradiction avec ceux observés dans la littérature. En effet, des études montraient une association entre une faible activité enzymatique de la GPX et l'asthme [17, 118, 122, 265]. Pour la SOD et la catalase, des résultats contrastés étaient observés avec des activités enzymatiques plus élevées [17, 122, 265] ou plus faibles [118, 120] en fonction du statut d'asthme. En plus des effectifs faibles des échantillons de ces études (n ~ 30 à 150) et les différences dans les techniques de mesure des marqueurs, les divergences entre les résultats pourraient être partiellement expliquées par des différences sur les caractéristiques de l'asthme étudiées (asthme, sévérité de l'asthme ou asthme incident) ou sur les compartiments biologiques dans lesquels les marqueurs étaient mesurés (érythrocytes, plasma ou sérum). La relation entre les enzymes antioxydantes et l'asthme semble complexe, impliquant différents facteurs endogènes et exogènes qui peuvent influencer l'activité enzymatique des marqueurs biologiques. L'absence d'association observée dans notre étude, ainsi que les résultats discordants dans la littérature, suggèrent que les marqueurs de réponse pourraient ne pas être les plus pertinents pour étudier le stress oxydant dans l'asthme. Cependant, des études longitudinales avec des mesures répétées de ces marqueurs biologiques sont nécessaires pour mieux comprendre les associations entre les activités des enzymes antioxydantes et l'asthme.

Nous avons observé une association positive entre les 8-isoprostanes dans le condensat de l'air expiré et l'asthme vie. Ce résultat est en accord avec les résultats des études rapportées dans la revue de la littérature faite par Aldakheel *et al.* [18], aussi bien chez les enfants que chez les adultes. Globalement, les résultats suggéraient que les 8-isoprostanes seraient un marqueur biologique pertinent pour étudier l'asthme. Notre étude confirme également que le

condensat de l'air expiré est un fluide intéressant pour étudier les marqueurs biologiques car il est collecté de façon non invasive au niveau des poumons.

Nous avons également étudié l'association entre les 8-isoprostanes et des caractéristiques de l'asthme parmi les participants avec un asthme vie. Nous n'avons observé aucune association significative entre les 8-isoprostanes et l'asthme actuel, le contrôle de l'asthme, les crises et les exacerbations de l'asthme, la fonction ventilatoire et l'hyperréactivité bronchique. Nos résultats confirment l'absence d'association entre les 8-isoprostanes et la fonction ventilatoire et l'hyperréactivité bronchique observée dans les précédentes études [112, 262]. De manière intéressante, nous avons observé que les participants qui avaient un asthme ayant débuté dans l'enfance avaient une concentration en 8-isoprostanes plus élevée que ceux qui avaient un asthme ayant débuté à l'âge adulte. Pour expliquer ces résultats, nous avons émis l'hypothèse que les 8-isoprostanes reflètent les dommages tissulaires liés à la durée de l'asthme plutôt que son expression actuelle, c'est-à-dire que plus une personne a un asthme tôt dans sa vie (par exemple depuis l'enfance) plus les dommages tissulaires au niveau des poumons sont importants, et donc la concentration en 8-isoprostanes est plus élevée. Cependant, nous n'avons pas observé d'association significative entre la durée de l'asthme et la concentration en 8-isoprostanes (Annexe 5). Une autre hypothèse est que l'asthme de l'enfance et l'asthme de l'adulte sont deux phénotypes d'asthme différents caractérisés par des mécanismes biologiques sous-jacents distincts.

Nous avons observé une association négative et significative entre la concentration en POFs et l'asthme vie qui n'était plus significative après ajustement sur l'âge, le sexe et le statut tabagique. Parmi les participants avec un asthme vie, une concentration en POFs élevée était associée significativement à un asthme mal contrôlé, une fonction ventilatoire basse, la survenue de crises d'asthme, la prise de traitements pour asthme ainsi que l'utilisation de corticoïdes inhalés au cours des 12 derniers mois. Aucune association significative n'était

observée entre les POFs et l'asthme actuel, l'asthme de l'adulte et les symptômes respiratoires. Enfin, une association positive et significative était observée entre les POFs et l'asthme neutrophilique suggérant que les POFs pourraient être liés à un phénotype d'asthme non allergique. Dans la littérature, une association positive et significative entre les POFs et d'autres maladies inflammatoires chroniques telles que les maladies rénales chroniques [133] ou les maladies cardiovasculaires [136, 138] a été rapportée. Nos résultats restaient inchangés après avoir exclu les participants ayant eu une maladie rénale chronique ou une maladie cardiovasculaire (Annexe 6). En se basant sur nos résultats ainsi que ceux de la littérature, les POFs apparaissent comme un marqueur intéressant pour étudier la voie biologique du stress oxydant dans les maladies chroniques.

Bien que les 8-isoprostanes et les POFs soient des marqueurs de dommages liés au stress oxydant, ils n'étaient pas associés aux mêmes caractéristiques de l'asthme. Les mécanismes exacts pouvant expliquer ces différences de résultats sont au-delà de la portée de notre étude épidémiologique. Des hypothèses peuvent néanmoins être avancées. Comme discuté précédemment, ces marqueurs biologiques appartiennent à différents processus biologiques, et étaient mesurés dans différents compartiments biologiques. Les 8-isoprostanes sont les principaux marqueurs de la peroxydation lipidique et étaient mesurés dans le condensat de l'air expiré – reflétant probablement les processus biologiques et l'inflammation au niveau des poumons [127]. Les POFs sont des marqueurs reflétant les dommages dus aux processus d'oxydation de l'ADN, de protéines et de lipides. Ce marqueur biologique était mesuré dans le sang et peut ainsi, au-delà de l'oxydation des lipides, refléter l'oxydation au niveau systémique.

De plus, aucun des marqueurs de réponse liés au stress oxydant n'étaient corrélés aux marqueurs de dommages, et aucune corrélation n'était observée entre les 8-isoprostanes mesurés dans le condensat et les POFs mesurés dans le sang (Annexe 7). De manière



générale, l'ensemble de ces résultats montre l'intérêt d'étudier des marqueurs biologiques dans différents compartiments biologiques et suggère que les 8-isoprostanes et les POFs sont des marqueurs complémentaires pour évaluer l'asthme.

En résumé, nos résultats suggèrent que les 8-isoprostanes sont associés à l'asthme ayant débuté dans l'enfance tandis que les POFs semblent être liés à l'expression actuelle de l'asthme et son contrôle chez l'adulte. Des implications cliniques immédiates ne peuvent être déduites de cette étude épidémiologique. Néanmoins, s'ils sont répliqués, ces résultats suggèrent que les POFs pourraient aider à identifier des groupes de patients asthmatiques avec des caractéristiques cliniques particulières.

### **V.1.1.2 Associations entre les produits d'oxydation fluorescents et l'évolution des caractéristiques de l'asthme : analyse longitudinale**

*Ce travail a été présenté au congrès de l'European Respiratory Society en Septembre 2018 et a fait l'objet d'une lettre publiée dans Respiratory Research en septembre 2019 [266].*

Les résultats de la précédente analyse transversale de l'association entre les POFs et les caractéristiques de l'asthme montraient qu'une concentration élevée en POFs était associée aux crises d'asthme et à un asthme mal contrôlé. Suite à cette analyse transversale, il serait intéressant d'étudier si les POFs sont associés à une évolution particulière de ces caractéristiques de l'asthme.

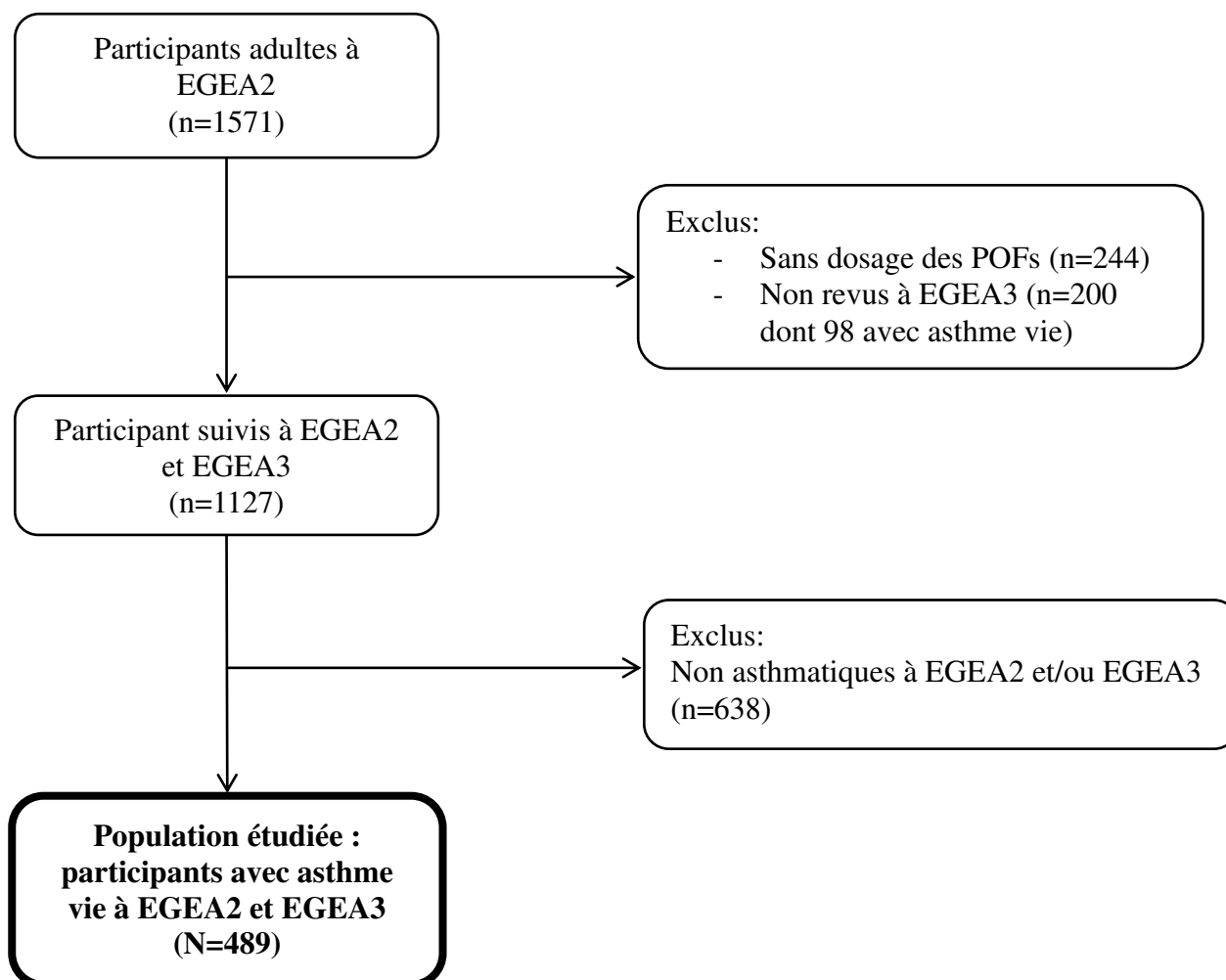
Dans la présente analyse, nous avons émis comme hypothèse qu'une concentration élevée en POFs est associée à l'évolution de l'asthme. Nous avons étudié l'association entre la concentration en POFs dans le plasma et l'évolution des caractéristiques de l'asthme sur une période de huit ans.

#### **A) Matériels et méthodes**

##### ***Sélection de la population d'analyse***

L'évolution des caractéristiques de l'asthme était étudiée en utilisant les données issues des enquêtes EGEA2 et EGEA3. Nous avons exclu les participants qui n'avaient pas de dosage de POFs à EGEA2, ceux qui n'étaient pas suivis à EGEA3 ainsi que les participants non asthmatiques à EGEA2 et/ou EGEA3. Au final 489 participants avec un asthme vie étaient sélectionnés pour les analyses. Parmi eux, 442 avaient des données sur l'asthme actuel, 421 avaient des données sur la survenue de crises d'asthme ; parmi les 355 participants avec un

asthme actuel aux deux enquêtes, 227 avaient des données sur le contrôle de l'asthme (Figure 14). Les participants revus à EGEA3 (n=1127) avaient des caractéristiques cliniques similaires aux participants qui n'avaient pas de données sur les POFs à EGEA2 (n=244) ou ceux perdus de vue à EGEA3 (n=200) (Annexe 8).



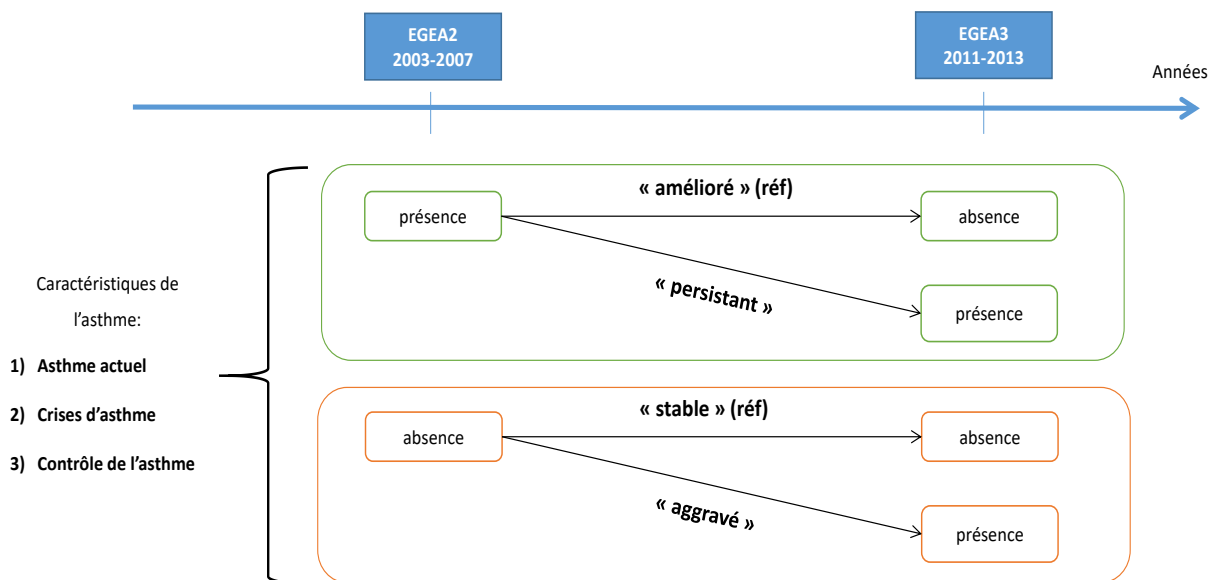
**Figure 14 : Sélection de la population dans l'étude des associations entre les POFs et l'évolution des caractéristiques de l'asthme.**

### ***Définition des caractéristiques de l'asthme et leur évolution entre EGEA2 et EGEA3***

Les caractéristiques de l'asthme étudiées étaient l'asthme actuel, les crises d'asthme définies par une réponse positive à la question « *Avez-vous eu une crise d'asthme dans les 12 derniers mois ?* », et le contrôle de l'asthme défini chez les participants avec un asthme actuel à EGEA2 et EGEA3. Les définitions du contrôle de l'asthme et de l'asthme actuel à EGE3 sont

identiques à celles d’EGEA2 décrites dans la partie Matériels et méthodes de ce manuscrit ([cf Partie IV.2.1](#)).

Pour chaque participant, l’évolution du statut d’asthme actuel, de crise d’asthme ainsi que du contrôle de l’asthme a été définie comme suit: « persistant » si la caractéristique (*i.e.* asthme actuel, crise d’asthme ou contrôle de l’asthme) était présente à la fois à EGEA2 et EGEA3, « amélioré » si la caractéristique était présente seulement à EGEA2, « aggravé » si la caractéristique était présente seulement à EGEA3, et « stable » si la caractéristique n’était présente ni à EGEA2 ni à EGEA3 (Figure 15).



**Figure 15 : Représentation schématique de la définition de l’évolution des caractéristiques de l’asthme entre EGEA2 et EGEA3.**

### *Analyses statistiques*

Nous avons étudié l’association entre la concentration en POFs à EGEA2 et le changement du statut d’asthme actuel, de crise d’asthme et du contrôle de l’asthme entre EGEA2 et EGEA3. En raison des faibles effectifs dans chacune des catégories définissant le contrôle de l’asthme, les catégories « partiellement contrôlé » et « non contrôlé » ont été regroupées pour construire une variable binaire (asthme mal contrôlé *vs* asthme contrôlé).

Pour chaque caractéristique de l'asthme, deux variables binaires ont été créées : 1) une variable qui comparait le statut « persistant » au statut « amélioré » (référence) parmi les participants qui présentaient la caractéristique à EGEA2 (*i.e.* participants avec un asthme actuel, des crises d'asthme, un asthme mal contrôlé) ; 2) une variable qui comparait le statut « aggravé » au statut « stable » (référence) parmi les participants qui ne présentaient pas la caractéristique à EGEA2 (*i.e.* participants qui n'avaient pas d'asthme actuel, pas de crises d'asthme, ou qui avaient un asthme contrôlé). Des modèles de régressions logistiques avec une équation d'estimation généralisée (GEE) ont été utilisés pour étudier les associations entre la concentration en POFs et chacune de ces caractéristiques. Les odds-ratio (ORs) étaient exprimés pour une augmentation de la concentration en POFs d'un écart interquartile et étaient ajustés sur l'âge (continu), le sexe et le statut tabagique (non fumeur, fumeur vie). Dans une analyse de sensibilité, nous avons également ajusté sur le nombre de paquets-années à la place du statut tabagique. Les analyses ont également été réalisées chez les participants qui n'avaient pas d'antécédents de maladies rénales chroniques ni de maladies cardiovasculaires, des maladies qui étaient associées aux POFs dans des études antérieures [133, 136, 138].

## **B) Résultats**

### ***Description de la population***

A EGEA2, l'âge moyen des 489 participants avec un asthme vie était de 39 ( $\pm$  16) ans, 49% étaient des femmes, 52% étaient non fumeurs, 85,5% déclaraient avoir un asthme actuel, 38% déclaraient avoir une crise d'asthme dans les 12 derniers mois et 48,5% avaient un asthme mal contrôlé (partiellement/non contrôlé). La moyenne géométrique (Q1-Q3) de la concentration en POFs était de 91,5 (78,6-102) RFU/mL (Tableau 12).

**Tableau 12 : Description des caractéristiques à EGEA2 des 489 participants.**

<b>Caractéristiques à EGEA2</b>	<b>n (%)</b>
<b>Age, ans, moyenne ± ET</b>	38,9 ± 16,1
<b>Sexe, femme</b>	239 (48,9)
<b>Statut tabagique</b>	
Non fumeur	256 (52,3)
Ex-fumeur	116 (23,7)
Fumeur actuel	117 (23,9)
<b>IMC, kg/m<sup>2</sup></b>	
< 20	63 (13,0)
[20-25[	257 (53,2)
[25-30[	119 (24,6)
≥ 30	44 (9,11)
<b>Asthme actuel</b>	418 (85,5)
<b>Crise d'asthme</b>	183 (37,6)
<b>Contrôle de l'asthme*</b>	
Non contrôlé	40 (12,0)
Partiellement contrôlé	121 (36,5)
Contrôlé	171 (51,5)
<b>Contrôle de l'asthme (binaire)*</b>	
Partiellement/non contrôlé	161 (48,5)
Contrôlé	171 (51,5)
<b>POFs, RFU/mL, MG (Q1-Q3)</b>	91,5 (78,6-102)

Résultats exprimés en n (%) sauf indication contraire. MG : moyenne géométrique ; Q1 : 1<sup>er</sup> quartile ; Q3 : 3<sup>ème</sup> quartile ; IMC : indice de masse corporel ; POFs : produits d'oxydation fluorescents ; RFU : intensité relative de fluorescence

\*contrôle de l'asthme défini chez les participants avec un asthme actuel à EGEA2 et EGEA3 (n=355).

### *Associations entre le niveau de POFs à EGEA2 et l'évolution des caractéristiques de l'asthme entre EGEA2 et EGEA3*

Nous avons observé une association significative entre la concentration en POFs et le statut « aggravé » du contrôle de l'asthme ( $p=0,002$ , Tableau 13). Précisément, parmi les participants avec un asthme contrôlé à EGEA2, une concentration élevée en POFs était associée significativement à une aggravation du contrôle de l'asthme à EGEA3 (*i.e.* asthme mal contrôlé à EGEA3) ( $OR_{ajusté}$  [IC à 95%] = 2,27 [1,32-3,90]) (Tableau 14). Aucune autre association significative n'était observée. Les résultats restaient inchangés après ajustement sur le nombre de paquets-années à la place du statut tabagique ou après avoir exclu les

participants avec des antécédents de maladies rénales chroniques ou de maladies cardiovasculaires.

**Tableau 13 : Description de la concentration des POFs à EGEA2 en fonction de l'évolution des caractéristiques de l'asthme.**

	Produits d'oxydation fluorescents (RFU/mL)							
	Amélioré		Persistant		Stable		Aggravé	
	n	MG (Q1-Q3)	n	MG (Q1-Q3)	n	MG (Q1-Q3)	n	MG (Q1-Q3)
<b>Asthme actuel</b>	38	88,6 (76,4-102)	355	92,5 (79,5-103)	31	92,3 (75,8-106)	18	91,5 (79,4-105)
<b>Crise d'asthme</b>	53	93,9 (78,0-107)	115	95,2 (80,6-106)	202	89,8 (77,3-101)	51	91,0 (80,6-100)
<b>Contrôle de l'asthme</b>	31	97,3 (77,2-116)	82	94,2 (82,8-105)	68	87,6 (78,7-96,3)	46	100 (82,1-112)

MG : moyenne géométrique ; Q1 : 1<sup>er</sup> quartile ; Q3 : 3<sup>ème</sup> quartile ; RFU : intensité relative de fluorescence

**Tableau 14 : Association entre la concentration en POFs à EGEA2 et l'évolution des caractéristiques de l'asthme entre EGEA2 et EGEA3.**

Évolution des caractéristiques de l'asthme	Produits d'oxydation fluorescents (RFU/mL)		
	n	OR (IC à 95%)	OR <sub>ajusté</sub> (IC à 95%)
<i>Persistant vs Amélioré (ref)</i>			
<b>Asthme actuel*</b>	355 vs 38	1,30 (0,86-1,98)	1,19 (0,79-1,80)
<b>Crise d'asthme*</b>	115 vs 53	1,07 (0,74-1,53)	1,13 (0,74-1,72)
<b>Asthme mal contrôlé§</b>	82 vs 31	0,93 (0,58-1,47)	0,84 (0,48-1,44)
<i>Aggravé vs Stable (ref)</i>			
<b>Asthme actuel*</b>	18 vs 31	0,95 (0,54-1,66)	0,73 (0,39-1,39)
<b>Crise d'asthme*</b>	51 vs 202	1,10 (0,76-1,60)	1,08 (0,72-1,60)
<b>Asthme mal contrôlé§</b>	46 vs 68	<b>2,31 (1,33-4,00)</b>	<b>2,27 (1,32-3,90)</b>

OR: odds ratio exprimé pour une augmentation d'un écart interquartile de la concentration en POFs; ajusté sur l'âge, le sexe et le statut tabagique. RFU : intensité de fluorescence relative.

\*parmi les 489 participants avec un asthme vie; §parmi les 355 participants avec un asthme actuel.

## C) Discussion

A notre connaissance, cette étude est la première à montrer qu'une concentration élevée en POFs était associée à une évolution délétère du contrôle de l'asthme au cours temps. Ce résultat conforte l'association que nous avons montré précédemment dans l'analyse transversale ([cf Partie V.1.1.1](#)). L'absence d'association observée avec l'évolution de l'asthme actuel était en accord avec le résultat observé dans l'analyse transversale, mais pas l'absence d'association entre les POFs et les crises d'asthme. Néanmoins, les crises d'asthme n'incluent qu'une dimension de la maladie, et sont pour cette raison rarement étudiées seules. Des études plus larges sont nécessaires pour clarifier les dimensions spécifiques de l'asthme pour lequel les POFs pourraient être un marqueur biologique d'intérêt.

Des études prospectives ont montré une association positive et significative entre une concentration élevée de POFs et l'incidence de maladies cardiovasculaires, d'autres maladies inflammatoires chroniques, chez les hommes [136] ou chez les femmes [138]. En ce qui concerne l'asthme, notre étude a montré qu'une concentration élevée en POFs était associée à des caractéristiques de l'asthme dans une analyse transversale et à une détérioration ultérieure du contrôle de l'asthme dans une analyse longitudinale. L'ensemble de nos résultats ainsi que ceux de la littérature suggèrent qu'une concentration élevée en POF à un temps donné pourrait être prédictive de l'évolution de maladies inflammatoires chroniques telles que l'asthme. Bien que plus d'études et de répliques soient nécessaires, il semble pertinent d'étudier les POFs pour identifier des groupes spécifiques de patients avec un asthme contrôlé qui pourraient potentiellement avoir un mauvais pronostic. Des études avec des mesures de la concentration des POFs de façon répétée dans le temps pourraient également aider à approfondir l'intérêt d'évaluer ce marqueur dans la gestion de l'asthme.



## **V.1.2 Associations entre l'exposition professionnelle aux irritants et les produits d'oxydation fluorescents**

*Ce travail a été présenté au congrès international conjoint de l'International Society of Exposure Science (ISES) et l'International Society for Environmental Epidemiology (ISEE) à Ottawa en Aout 2018 ainsi qu'au séminaire EGEA à Paris en Juin 2018.*

Plusieurs études ont montré une association entre les expositions professionnelles aux irritants et l'asthme, et le stress oxydant était suggéré comme une des voies biologiques impliquées dans cette association [11]. Cependant, très peu d'études épidémiologiques ont examiné le rôle de cette voie dans l'asthme en relation avec l'exposition professionnelle aux irritants.

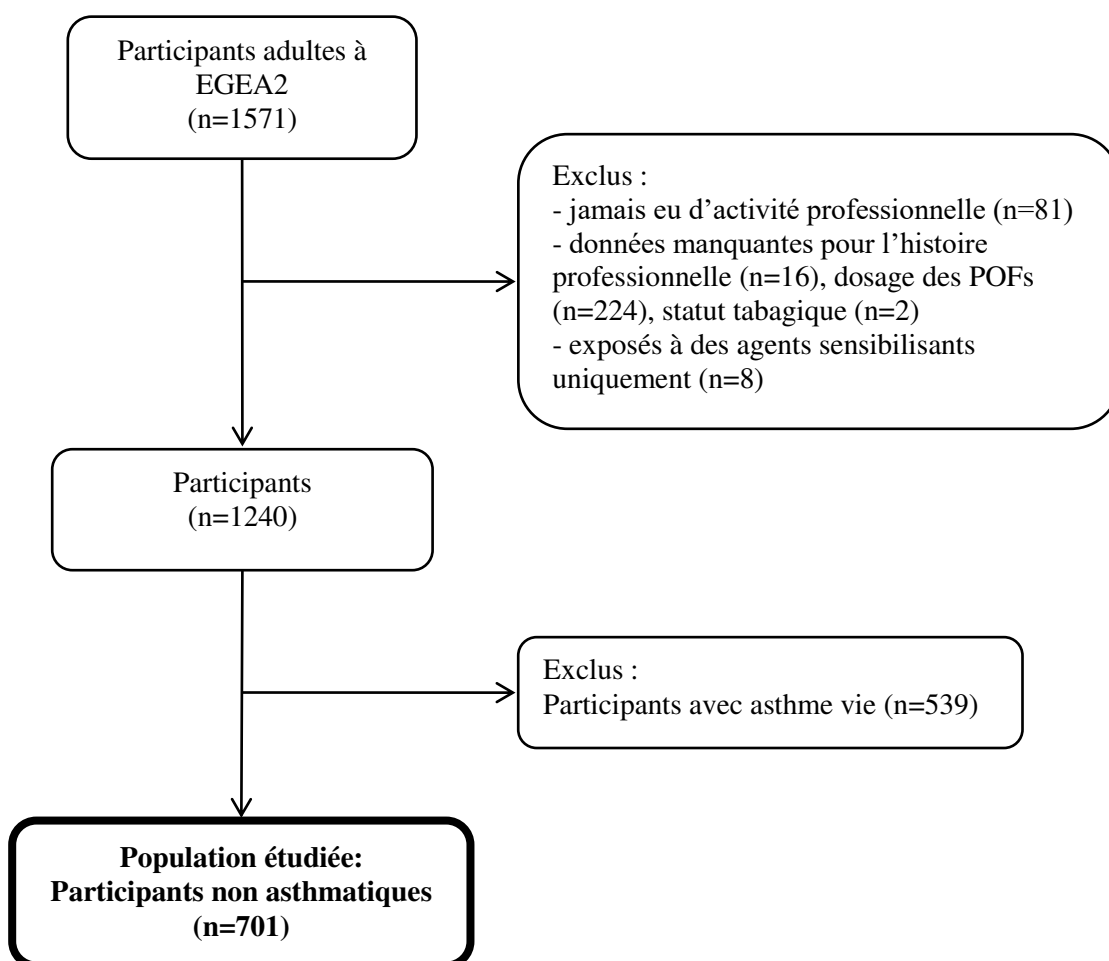
Dans cette thèse, les résultats obtenus avec l'étude des associations entre les marqueurs biologiques du stress oxydant et l'asthme suggèrent que les produits d'oxydation fluorescents (POFs) semblent être un marqueur biologique pertinent pour étudier le rôle du stress oxydant dans l'asthme. De plus, précédemment, une étude réalisée dans EGEA2 [19] a montré qu'une concentration élevée en POFs était associée à l'exposition professionnelle aux produits de nettoyage et aux produits chimiques hautement réactifs, des agents classés comme irritants respiratoires, évalués par une ancienne matrice emplois-expositions spécifique pour l'asthme [252]. Ce résultat était observé chez les hommes non asthmatiques mais pas chez les femmes.

Dans cette partie de la thèse, l'objectif est d'étudier les associations entre les produits d'oxydation fluorescents et l'exposition professionnelle à des irritants non spécifiques ainsi qu'à des sous-groupes d'irritants, estimée par une nouvelle matrice emplois-expositions spécifique pour l'asthme OAsJEM.

## A) Matériels et méthodes

### *Sélection de la population d'étude*

Dans cette analyse, les participants qui n'avaient jamais eu d'activité professionnelle ou ceux qui avaient des données manquantes pour l'histoire professionnelle, le dosage des POFs ou le statut tabagique ou ceux qui étaient exposés uniquement aux agents sensibilisants ont été exclus. Au final, 1240 participants ont été sélectionnés pour les analyses (Figure 16). Ces participants avaient des caractéristiques cliniques similaires aux participants exclus (Annexe 9). Pour s'affranchir de l'association entre les POFs et l'asthme, nous avons effectué nos analyses sur les données de participants non asthmatiques (n=701).



**Figure 16 : Sélection de la population dans l'étude des associations entre les POFs et l'exposition professionnelle aux irritants.**

### *Estimation des expositions professionnelles*

L'exposition professionnelle d'intérêt était les agents irritants qui étaient estimés par la matrice emplois-expositions spécifique pour l'asthme (OAsJEM) [251]. Deux sous-groupes d'irritants qui se chevauchent partiellement à savoir les produits chimiques hautement réactifs et les biocides étaient également étudiés. De plus, nous nous sommes intéressés à trois expositions spécifiques en lien avec les produits de nettoyage et de désinfection que sont les désinfectants chimiques de haut niveau, les produits de nettoyage domestiques et l'eau de javel, que nous avons regroupé dans un troisième sous-groupe nommé « produits de nettoyage/désinfectants » (Tableau 15). Comme plusieurs agents irritants étaient aussi classés dans le groupe des agents de petit poids moléculaire, ce groupe d'exposition était également étudié.

**Tableau 15 : Liste des 20 agents irritants classés dans les sous-groupes de produits chimiques hautement réactifs et des biocides – extrait de la matrice OAsJEM**

Agents (n=20/30)	Irritants	Produits chimiques hautement réactifs	Biocides	Produits de nettoyage/désinfectants	Agents de petit poids moléculaire
textiles	1				
moisissures	1				
endotoxines	1				
médicaments					1
désinfectants chimiques de haut niveau	1	1	1	1	1
amines aliphatiques	1	1			1
isocyanates	1	1			1
acrylates	1	1			1
résines époxy	1	1			1
persulfates/ henné	1	1			1
bois	1				1
métaux	1				1
fluides du travail des métaux	1				1
herbicides	1		1		
insecticides	1		1		
fongicides	1		1		
nettoyant d'intérieur	1			1	
javel	1	1	1	1	
solvants organiques	1	1			
gaz d'échappement	1				

Certains agents irritants ont également été classés dans le groupe des agents de petit poids moléculaire.  
Extrait du tableau représentant la liste des 30 nuisances à risque pour l'asthme estimées par OAsJEM [251].

Chaque exposition était estimée en trois catégories : « non exposé », « exposition moyenne » et « exposition élevée ». Pour les codes métier regroupant des métiers à tâches et secteurs d'activité variables, l'estimation par la matrice étaient complétée par une étape de réévaluation par expertise.

### ***Analyses statistiques***

Pour étudier l'association entre l'exposition professionnelle aux irritants et la concentration en POFs chez les non asthmatiques, des modèles linéaires mixtes étaient utilisés permettant de prendre en compte la dépendance familiale. Le groupe des non exposés était pris comme catégorie de référence. Les modèles étaient ajustés sur l'âge, le sexe et le statut tabagique. Nous avons étudié l'exposition professionnelle aux irritants estimée avec et sans la réévaluation par expertise et évaluée pour le métier actuel ou le dernier métier occupé. Comme l'exposition professionnelle varie selon le sexe, nous avons également étudié l'association entre les POFs et les irritants en stratifiant selon le sexe.

## **B) Résultats**

### ***Description de la population d'étude***

L'âge moyen des 701 participants était de  $47 \pm 15$  ans, 56% étaient des femmes, 20% étaient des fumeurs actuels et 50% avaient un indice de masse corporelle normal. La moyenne géométrique (Q1-Q3) de la concentration des POFs était de 95,2 (82,1-108) RFU/mL (Tableau 16).

**Tableau 16 : Description de la population d'étude (n=701).**

Caractéristiques	Participants non asthmatiques n=701
Age (ans, moyenne ± ET)	47,2±15,2
<b>Sexe, n (%)</b>	
<b>Femme</b>	391 (55,8)
<b>Statut tabagique, n (%)</b>	
<b>Non fumeur</b>	347 (49,5)
<b>Ex-fumeur</b>	215 (30,7)
<b>Fumeur actuel</b>	139 (19,8)
<b>IMC, kg/m<sup>2</sup>, n (%)</b>	
< 20	59 (8,5)
[20-25[	346 (49,9)
[25-30[	217 (31,3)
≥ 30	71 (10,3)
<b>POFs, RFU/mL, MG (Q1-Q3)</b>	95,1 (82,1-108)

MG : moyenne géométrique ; Q1 : 1<sup>er</sup> quartile ; Q3 : 3<sup>ème</sup> quartile ;

POFs : produits d'oxydation fluorescents ; RFU : intensité relative de fluorescence ; IMC : indice de masse corporelle

### *Description des expositions professionnelles*

La majorité des participants était non exposés aux irritants (69%), 22% avaient une exposition moyenne et 9% avaient une exposition élevée. Après l'étape de réévaluation par expertise, le nombre de participants classés comme ayant une exposition élevée ou moyenne diminuait, tandis que le nombre de participants classés comme non exposés augmentait (Tableau 17). Des résultats similaires étaient observés pour les sous-groupes d'irritants ainsi que pour les agents de petit poids moléculaire estimés avec et sans l'expertise.

La proportion d'hommes exposés aux agents irritants était plus élevée que celle des femmes exposées (10% et 5% respectivement pour une exposition élevée aux irritants, Tableau 17). Au niveau des sous-groupes, il y avait plus de femmes ayant une exposition élevée aux produits de nettoyage / désinfectants que d'hommes (4% et 2% respectivement) et les proportions étaient similaires entre hommes et femmes pour les produits chimiques hautement réactifs et les biocides.

**Tableau 17 : Description des expositions professionnelles aux irritants.**

Expositions professionnelles	Estimation sans expertise			Estimation avec expertise		
	Tous	Hommes	Femmes	Tous	Hommes	Femmes
<b>Tous les agents irritants</b>						
Non exposé	482 (69,1)	195 (62,9)	287 (74,0)	505 (72,1)	206 (66,7)	299 (76,5)
Exposition moyenne	151 (21,6)	74 (23,9)	77 (20,0)	145 (20,7)	71 (23,0)	74 (18,9)
Exposition élevée	65 (9,3)	41 (13,2)	24 (6,2)	50 (7,1)	32 (10,4)	18 (4,6)
<b>Produits chimiques hautement réactifs</b>						
Non exposé	482 (76,3)	195 (73,0)	287 (78,6)	505 (77,9)	206 (74,4)	299 (80,6)
Exposition moyenne	121 (19,1)	59 (22,1)	62 (17,0)	115 (17,8)	58 (20,9)	57 (15,4)
Exposition élevée	29 (4,6)	13 (4,9)	16 (4,4)	28 (4,3)	13 (4,7)	15 (4,0)
<b>Biocides</b>						
Non exposé	482 (83,1)	195 (84,1)	287 (82,5)	505 (84,9)	206 (86,2)	299 (84,0)
Exposition moyenne	76 (13,1)	30 (12,9)	46 (13,2)	70 (11,8)	27 (11,3)	43 (12,1)
Exposition élevée	22 (3,8)	7 (3,0)	15 (4,3)	20 (3,4)	6 (2,5)	14 (3,9)
<b>Produits de nettoyage/désinfectants</b>						
Non exposé	482 (81,7)	195 (85,9)	287 (79,1)	505 (83,1)	206 (86,6)	299 (80,8)
Exposition moyenne	82 (13,9)	27 (11,9)	55 (15,2)	85 (14,0)	28 (11,8)	57 (15,4)
Exposition élevée	26 (4,4)	5 (2,2)	21 (5,8)	18 (2,9)	4 (1,7)	14 (3,8)
<b>Agents de petit poids moléculaire</b>						
Non exposé	482 (78,1)	195 (73,6)	287 (81,5)	505 (80,9)	206 (77,2)	299 (83,8)
Exposition moyenne	115 (18,6)	51 (19,3)	64 (18,2)	92 (14,7)	44 (16,5)	48 (13,5)
Exposition élevée	20 (3,2)	19 (7,2)	1 (0,3)	27 (4,3)	17 (6,4)	10 (2,8)

Les résultats sont exprimés en n (%).

### *Associations entre l'exposition professionnelle aux agents irritants et les POFs chez les non asthmatiques*

Une association significative était observée entre une exposition moyenne aux irritants et une concentration élevée en POFs ( $p=0,04$ ). Cette association restait significative après ajustement sur l'âge, le sexe et le statut tabagique (Tableau 18). Aucune association significative n'était observée entre l'exposition élevée aux irritants et les POFs, bien que les concentrations en POFs fussent similaires chez les participants avec une exposition moyenne et chez ceux avec une exposition élevée. Des résultats similaires étaient observés pour l'estimation avec une réévaluation par expertise.

*Associations entre l'exposition professionnelle aux sous-groupes d'irritants et les POFs chez les non asthmatiques*

Une association significative était observée entre une exposition moyenne ainsi qu'une exposition élevée aux produits chimiques hautement réactifs, aux biocides et aux produits de nettoyage/désinfectants et une concentration élevée en POFs (Tableau 18). Ces associations restaient significatives après ajustement sur l'âge, le sexe et le statut tabagique excepté pour l'association entre l'exposition élevée aux produits de nettoyage/désinfectants et les POFs.

Concernant les sous-groupes d'irritants estimés avec l'étape de réévaluation par expertise, des associations significatives étaient observées entre une exposition moyenne aux trois sous-groupes étudiés et une concentration élevée en POFs. Aucune association significative n'était observée entre une exposition élevée aux sous-groupes d'irritants et les POFs.

Une association significative était observée entre une exposition moyenne aux agents de petit poids moléculaire estimés sans et avec l'étape d'expertise et une concentration élevée en POFs (Tableau 18).

**Tableau 18 : Associations entre exposition professionnelle aux irritants et POFs chez les non asthmatiques**

	Exposition professionnelle aux agents irritants									
	Estimation sans expertise					Estimation avec expertise				
	Non exposé	Exposition moyenne	p	Exposition élevée	p	Non exposé	Exposition moyenne	p	Exposition élevée	p
<b>Tous les agents irritants</b>										
n	482	151		65		505	145		50	
MG (IC à 95%)	94,0 (92,1-95,9)	97,9 (94,5-101)	<b>0,04</b>	98,3 (93,2-104)	0,12	94,0 (92,1-95,9)	98,9 (95,3-102)	<b>0,01</b>	97,7 (91,9-104)	0,23
MG <sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*	94,9 (92,9-96,9)	98,6 (95,2-102)	<b>0,05</b>	98,5 (93,5-104)	0,18	94,9 (93,0-96,8)	99,4 (96,0-103)	<b>0,02</b>	98,6 (93,0-105)	0,22
<b>Produits chimiques hautement réactifs</b>										
n	482	121		29		505	115		28	
MG (IC à 95%)	94,0 (92,0-95,9)	98,7 (94,8-103)	<b>0,03</b>	104 (95,5-112)	<b>0,02</b>	94,0 (92,1-95,9)	101 (96,6-105)	<b>0,003</b>	99,2 (91,4-108)	0,20
MG <sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*	94,7 (92,7-96,7)	99,3 (95,5-103)	<b>0,03</b>	104 (95,8-112)	<b>0,03</b>	94,8 (92,9-96,7)	101 (97,3-105)	<b>0,003</b>	100 (92,4-108)	0,20
<b>Biocides</b>										
n	482	76		22		505	70		20	
MG (IC à 95%)	94,0 (92,1-95,9)	102 (96,7-107)	<b>0,004</b>	103 (94,4-113)	<b>0,04</b>	94,0 (92,2-95,9)	104 (98,5-109)	<b>0,0004</b>	97,9 (89,0-108)	0,41
MG <sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*	94,7 (92,8-96,7)	101 (96,7-106)	<b>0,01</b>	104 (95,1-113)	<b>0,04</b>	94,8 (92,9-96,7)	103 (98,5-109)	<b>0,001</b>	99,4 (90,7-109)	0,31
<b>Produits de nettoyage/désinfectants</b>										
n	482	82		26		505	85		18	
MG (IC à 95%)	94,0 (92,1-95,9)	100 (95,8-105)	<b>0,01</b>	102 (94,3-111)	<b>0,05</b>	94,0 (92,2-95,8)	102 (97,1-107)	<b>0,002</b>	97,2 (87,9-107)	0,52
MG <sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*	94,8 (92,8-96,7)	101 (96,3-106)	<b>0,01</b>	101 (93,6-110)	0,10	94,8 (92,9-96,7)	102 (97,5-107)	<b>0,003</b>	98,3 (89,2-108)	0,46
<b>Agents de petit poids moléculaire</b>										
n	482	115		20		505	92		27	
MG (IC à 95%)	94,0 (92,1-95,9)	98,7 (94,8-103)	<b>0,03</b>	104 (94,6-114)	<b>0,02</b>	94,0 (92,2-95,9)	102 (97,4-107)	<b>0,001</b>	99,7 (91,7-108)	0,18
MG <sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*	94,8 (92,9-96,8)	99,5 (95,8-103)	<b>0,03</b>	103 (94,3-113)	0,07	94,7 (92,8-96,7)	103 (98,4-107)	<b>0,001</b>	100 (92,7-109)	0,16

Résultats significatifs en gras.

\* MG : moyenne géométrique ajustée sur âge, sexe et statut tabagique. POFs : produits d'oxydation fluorescents



*Associations stratifiées sur le sexe entre l'exposition professionnelle aux irritants et les POFs chez les non asthmatiques*

Les résultats des analyses stratifiées sur le sexe sont présentés dans le Tableau 19. Une association significative était observée entre l'exposition professionnelle aux irritants ainsi que les sous-groupes et les POFs uniquement chez les hommes (toutes les valeurs de p d'interaction < 0,05). Plus précisément, une exposition moyenne aux agents irritants ainsi qu'aux produits chimiques hautement réactifs, aux biocides et aux produits de nettoyage/désinfectants était associée à une concentration élevée en POFs chez les hommes. Une association significative était également observée entre une exposition élevée aux produits chimiques hautement réactifs et une concentration élevée en POFs chez les hommes. Les résultats restaient inchangés en ajustant sur l'âge et le statut tabagique. Aucune association significative n'était observée chez les femmes.

Une association significative était observée entre une exposition moyenne ainsi qu'une exposition élevée aux agents de petit poids moléculaire et une concentration élevée en POFs chez les hommes.

**Tableau 19 : Associations stratifiées sur le sexe entre exposition professionnelle aux irritants et POFs chez les non asthmatiques.**

	Femmes					Hommes				
	Non exposé	Exposition moyenne	p	Exposition élevée	p	Non exposé	Exposition moyenne	p	Exposition élevée	p
<b>Tous les agents irritants</b>										
<b>n*</b>	287	77		24		195	74		41	
<b>MG<sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*</b>	97,4 (94,8-100)	98,9 (94,1-104)	0,57	99,0 (90,7-108)	0,73	92,4 (89,6-95,2)	98,7 (94,1-103)	<b>0,02</b>	97,9 (91,9-104)	0,10
<b>n**</b>	299	74		18		206	71		32	
<b>MG<sub>ajusté</sub> (IC à 95%)**</b>	97,5 (94,9-100)	99,4 (94,5-105)	0,48	96,5 (87,4-107)	0,85	92,2 (89,6-95,0)	100 (95,4-105)	<b>0,004</b>	99,1 (92,2-106)	0,07
<b>Produits chimiques hautement réactifs</b>										
<b>n*</b>	287	62		16		195	59		13	
<b>MG<sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*</b>	97,3 (94,6-100)	98,6 (93,3-104)	0,66	71,6 (47,5-108)	0,28	92,0 (89,2-94,9)	100 (95,2-106)	<b>0,005</b>	105 (93,4-117)	<b>0,03</b>
<b>n**</b>	299	57		15		206	58		13	
<b>MG<sub>ajusté</sub> (IC à 95%)**</b>	97,4 (94,8-100)	100 (94,8-106)	0,34	96,4 (86,3-108)	0,86	92,0 (89,4-94,8)	102 (97,1-108)	<b>0,001</b>	104 (93,0-116)	<b>0,04</b>
<b>Biocides</b>										
<b>n*</b>	287	46		15		195	30		7	
<b>MG<sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*</b>	97,4 (94,9-100)	100 (94,4-106)	0,38	107 (96,1-118)	0,10	92,1 (89,2-95,0)	105 (97,5-113)	<b>0,002</b>	101 (86,6-118)	0,24
<b>n**</b>	299	43		14		206	27		6	
<b>MG<sub>ajusté</sub> (IC à 95%)**</b>	97,5 (95,0-100)	102 (96,1-109)	0,16	99,3 (89,2-111)	0,75	92,0 (89,3-94,9)	108 (99,7-117)	<b>0,0003</b>	102 (86,3-120)	0,23
<b>Produits de nettoyage/désinfectants</b>										
<b>n*</b>	287	55		21		195	27		5	
<b>MG<sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*</b>	97,5 (94,9-100)	98,9 (93,5-105)	0,61	101 (92,5-110)	0,44	91,9 (89,0-94,8)	108 (100-117)	<b>0,0002</b>	111 (92,3-133)	<b>0,05</b>
<b>n**</b>	299	57		14		206	28		4	
<b>MG<sub>ajusté</sub> (IC à 95%)**</b>	97,6 (95,1-100)	100 (94,8-106)	0,39	97,2 (87,2-108)	0,94	91,8 (89,0-94,6)	109 (101-118)	<b>&lt;0,0001</b>	107 (87,4-131)	0,14
<b>Agents de petit poids moléculaire</b>										
<b>n*</b>	287	64		1		195	51		19	
<b>MG<sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*</b>	97,5 (94,9-100)	98,9 (94,0-104)	0,60	71,6 (47,5-108)	0,14	92,1 (89,3-94,9)	101 (95,5-107)	<b>0,004</b>	103 (94,3-114)	<b>0,02</b>
<b>n**</b>	299	48		10		206	44		17	
<b>MG<sub>ajusté</sub> (IC à 95%)**</b>	97,3 (94,6-100)	102 (96,2-109)	0,13	90,4 (79,0-103)	0,30	91,9 (89,2-94,6)	104 (97,5-110)	<b>0,001</b>	105 (95,6-116)	<b>0,01</b>

Résultats significatifs en gras ; \*estimation des expositions sans l'étape d'expertise ; \*\* estimation des expositions avec l'étape d'expertise. MG : moyenne géométrique ajustée sur âge et statut tabagique. POFs : produits d'oxydation fluorescents.

## C) Discussion

Nous avons étudié l'association entre l'exposition professionnelle aux agents irritants et la concentration en POFs chez les non asthmatiques. Nous avons observé une association significative entre une exposition moyenne aux irritants et une concentration élevée en POFs. Nous avons également observé une association significative entre une exposition moyenne ainsi qu'une exposition élevée aux sous-groupes d'irritants que sont les produits chimiques hautement réactifs, les biocides et les produits de nettoyage/désinfectants et une concentration élevée en POFs. De même, une association significative entre une exposition moyenne aux agents de petit poids moléculaire et une concentration élevée en POFs était observée. En stratifiant sur le sexe, nous avons observé ces associations uniquement chez les hommes.

Nos résultats confirment, avec une estimation améliorée de l'exposition professionnelle, les résultats observés par Dumas *et al.* [19] dans la même population avec l'ancienne matrice emplois-expositions, à savoir une association significative entre l'exposition professionnelle aux irritants et les POFs. A notre connaissance, aucune autre étude n'a examiné les associations entre l'exposition professionnelle aux irritants et les POFs. Les études existantes ont porté sur l'association entre d'autres types d'exposition aux irritants, principalement le tabac, et la concentration en POFs. Ainsi, dans la cohorte Nurses' Health Study (NHS), Yang *et al.* [198] et Jensen *et al.* [138] ont observé que la concentration en POFs était plus élevée chez les femmes fumeuses actuelles par rapport aux non fumeuses. Dans la cohorte Health Professional Follow-up Study (HPFS), Yang *et al.* ont observé que la concentration en POFs était plus élevée chez les hommes fumeurs actuels et anciens fumeurs par rapport aux non fumeurs [260]. De même, dans la cohorte HPFS, Wu *et al.* ont observé une association entre la consommation de tabac et les POFs [137]. Parmi les fumeurs, les auteurs ont observé une

augmentation linéaire de la concentration en POFs en fonction du nombre de cigarettes fumées par jour.

Le rôle du stress oxydant dans la relation entre l'asthme et l'exposition professionnelle aux irritants a été étudié à travers d'autres marqueurs biologiques liés à cette voie biologique. Corradi *et al.* ont montré que le niveau de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) était significativement plus élevé chez des personnels de ménage comparés à des participants non exposés [177]. Vizcaya *et al.* ont étudié la concentration en 8-isoprostanes dans le condensat de l'air expiré de personnels de ménage mais n'ont pas montré d'association significative avec l'exposition aux produits de nettoyage [22].

Comme les hommes et les femmes n'étaient pas exposés aux mêmes agents irritants et que dans l'étude de Dumas *et al.*, l'association entre l'exposition professionnelle aux irritants et les POFs étaient observée uniquement chez les hommes, nous avons réalisé des analyses stratifiées sur le sexe. Dans ces analyses, nous avons observé des associations significatives entre une exposition moyenne aux irritants et aux sous-groupes et une concentration élevée en POFs uniquement chez les hommes (toutes les valeurs de p d'interaction <0,05). Cette différence selon le sexe pourrait s'expliquer par la différence de capacité à maintenir le statut redox entre les femmes et les hommes due aux hormones sexuelles [263]. Une autre explication potentielle est que pour un métier donné, l'exposition des hommes et des femmes pourrait être différente en termes de fréquence, d'intensité ou de composition des produits, des éléments qui ne pouvaient pas être pris en compte dans l'estimation par la matrice emplois-expositions. De plus, cette différence selon le sexe pourrait également s'expliquer par la différence d'exposition à d'autres facteurs environnementaux entre les hommes et les femmes. Il pourrait être nécessaire de prendre en compte plus largement les multiples expositions chimiques chez les femmes, notamment en tenant compte des expositions domestiques [19, 81]. Des études avec un effectif plus important seraient nécessaires pour

mieux comprendre le rôle de l'exposition à des produits chimiques spécifiques chez les femmes.

La force et l'originalité de notre étude porte sur l'estimation de l'exposition professionnelle par la nouvelle matrice emplois-expositions spécifique pour l'asthme (OAsJEM) qui était complétée par une étape de réévaluation par expertise offrant une estimation améliorée de l'exposition et permettant de limiter le biais de classement. Cet aspect méthodologique sera discuté plus en détail dans la suite de ce manuscrit.

En conclusion, les résultats de cette étude suggèrent que l'exposition professionnelle aux irritants est associée à des dommages liés au stress oxydant. D'autres études sont nécessaires pour approfondir le rôle de ce mécanisme biologique dans l'asthme lié au travail induit par les irritants.

## **V.2 Associations entre l'exposition professionnelle aux irritants et des endotypes d'asthme**

*Ce travail a été présenté au congrès de l'European Respiratory Society à Madrid en septembre 2019 et fait l'objet d'un article en cours de finalisation.*

Dans le premier objectif de la thèse, d'une part, nous avons observé que l'un des marqueurs de dommages liés au stress oxydant, les POFs, était associé positivement à plusieurs caractéristiques de l'asthme telles qu'un asthme mal contrôlé, une prise de traitements pour asthme, une fonction ventilatoire basse et à un asthme neutrophilique. D'autre part, nous avons observé une association significative entre une exposition professionnelle aux irritants et une concentration élevée en POFs. Ces premiers résultats suggèrent que le stress oxydant joue un rôle dans un type d'asthme avec des caractéristiques spécifiques et est lié à l'exposition professionnelle aux irritants.

Des approches récentes proposent d'étudier simultanément plusieurs caractéristiques cliniques et biologiques de l'asthme pour identifier des endotypes afin de mieux comprendre l'étiologie et les mécanismes biologiques qui sous-tendent chaque type d'asthme. Ainsi, dans EGEA, cinq endotypes d'asthme ont été identifiés chez les asthmatiques actuels ou chez les non asthmatiques par une approche non supervisée basée sur des caractéristiques cliniques et les POFs ainsi que les neutrophiles et les éosinophiles [139].

Au vu des résultats du premier objectif de la thèse, nous avons émis l'hypothèse que l'exposition professionnelle aux irritants était associée plus spécifiquement à certains endotypes.

Dans ce chapitre correspondant au deuxième objectif de la thèse, nous avons étudié les associations entre l'exposition professionnelle aux irritants et les endotypes d'asthme identifiés précédemment par une approche non supervisée.

## **A) Matériels et méthodes**

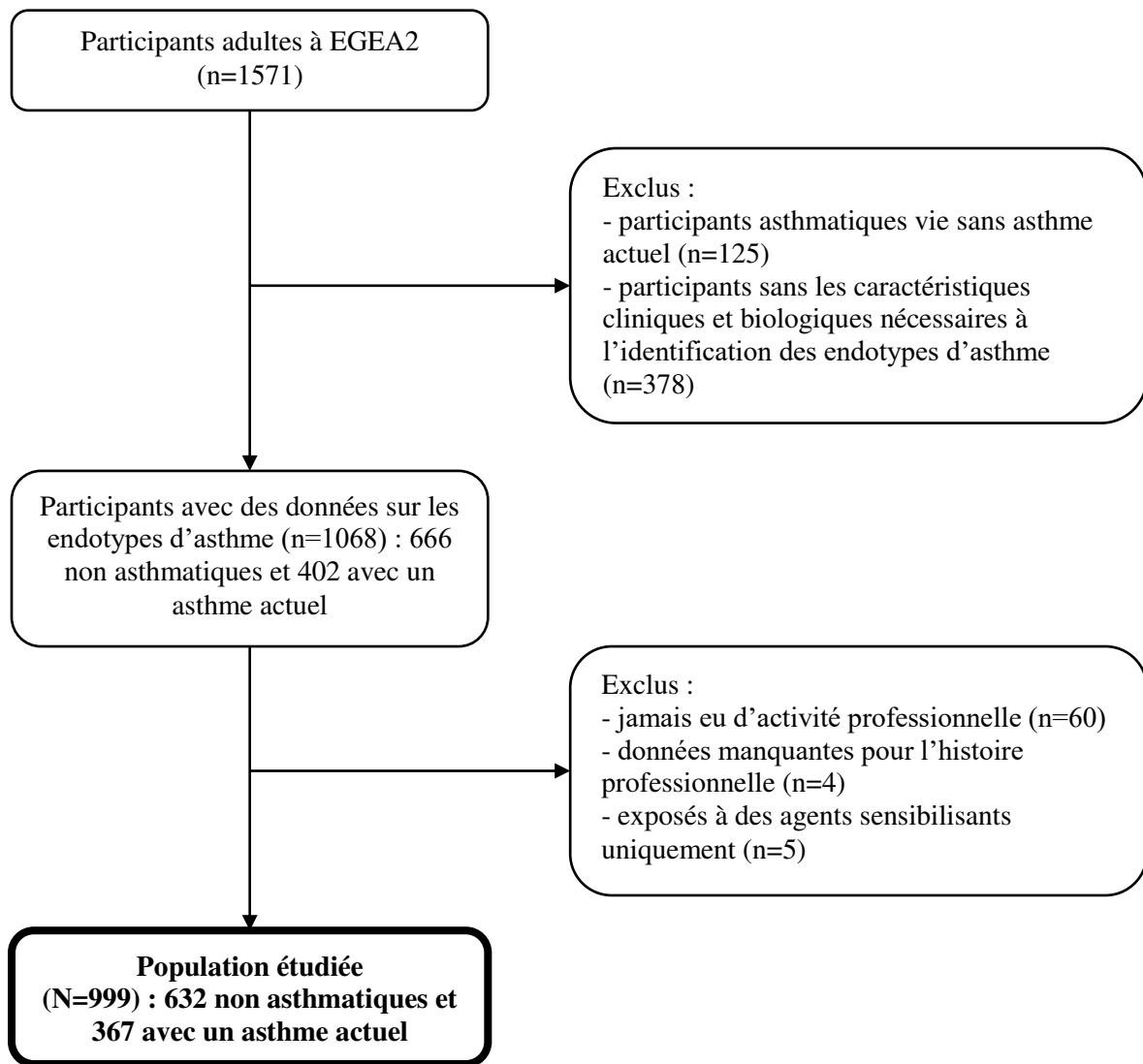
### ***Sélection de la population***

Les analyses de cette étude transversale étaient basées sur les données des participants adultes à EGEA2. Les participants qui étaient asthmatiques vie mais non asthmatiques actuels, ou ceux qui avaient des données manquantes pour les caractéristiques cliniques ou biologiques utilisées pour définir les endotypes d'asthme ont été exclus. Les participants qui n'avaient jamais eu d'activité professionnelle, ou ceux qui avaient des données manquantes pour l'histoire professionnelle, ou ceux qui étaient exposés uniquement à des agents sensibilisants au cours du métier actuel ou du dernier métier occupé ont également été exclus.

Au final, 999 adultes ( $\geq 16$  ans) non asthmatiques ou avec un asthme actuel ont été sélectionnés (Figure 17). Les participants inclus avaient des caractéristiques cliniques similaires aux participants exclus (Annexe 10).

### ***Exposition professionnelle aux irritants***

Comme dans le chapitre précédent de la thèse (cf Matériels et méthodes de la [Partie V.1.2](#)), l'exposition professionnelle était estimée par la nouvelle matrice emplois-expositions spécifique pour l'asthme (OAsJEM) [251] complétée par une réévaluation par expertise. Les expositions professionnelles d'intérêt étaient les irritants ainsi que les trois sous-groupes : produits chimiques hautement réactifs, biocides et produits de nettoyage/désinfectants. Chaque exposition était estimée en trois catégories : « non exposé », « exposition moyenne » et « exposition élevée ».



**Figure 17 : Sélection de la population dans l'étude des associations entre l'exposition professionnelle aux irritants et les endotypes d'asthme.**

### ***Définition des endotypes d'asthme***

Cinq endotypes d'asthme ont été identifiés à EGEA2 par une approche non supervisée comme décrit précédemment par Nadif *et al.* [139] et dans la partie Matériels et méthodes de ce manuscrit ([cf Partie IV](#)), dont deux endotypes chez les participants non asthmatiques et trois endotypes chez les participants avec un asthme actuel.



### *Analyses statistiques*

Des tests de Chi-deux ont été utilisés pour étudier les associations entre l'exposition professionnelle aux irritants et chaque endotype d'asthme dans des modèles univariés. Pour les catégories d'exposition à faible effectif (effectif attendu < 5), des tests exacts de Fisher ont été utilisés. Des modèles de régression logistique avec des équations d'estimation généralisée (GEE) ont été utilisés pour prendre en compte la dépendance familiale. Les modèles de régression multiple incluaient l'âge (en continu), le sexe et le statut tabagique (non fumeur, ex-fumeur et fumeur actuel) comme variables d'ajustement. Les expositions étudiées étaient estimées par la matrice emplois-expositions OAsJEM [251] avec et sans l'étape de réévaluation par expertise. Les expositions d'intérêt dans ces analyses étaient évaluées pour le métier actuel ou le dernier métier occupé. Dans tous les modèles, l'endotype de non asthmatiques asymptomatiques était utilisé comme groupe de référence pour la variable dépendante et les « non exposés » comme groupe de référence pour les expositions professionnelles.

### *Analyses de sensibilité*

Des analyses de sensibilité ont été effectuées : 1) pour étudier l'association entre l'exposition professionnelle vie (au lieu de l'exposition actuelle) aux irritants, définie par le niveau maximum d'exposition parmi tous les métiers exercés au cours de la vie, et les endotypes d'asthme ; 2) comme l'un des endotypes d'asthme était caractérisé par un indice de masse corporelle élevé et que l'obésité pourrait partager des mécanismes biologiques communs avec l'asthme [42], un ajustement sur l'IMC en plus des autres facteurs d'ajustement a été réalisé ; 3) en raison du chevauchement partiel entre les sous-groupes des irritants et des agents de petit poids moléculaire (LMW), l'association entre l'exposition professionnelle aux LMW et les endotypes d'asthme a aussi été étudiée.

## **B) Résultats**

### *Caractéristiques de la population d'étude*

Le Tableau 20 montre les caractéristiques personnelles et cliniques des 999 participants. Parmi les endotypes de non asthmatiques, les participants dans l'endotype NA1 (n=463) étaient principalement caractérisés par une absence de symptômes respiratoires, avaient un âge moyen de 47 ans, 55% étaient des femmes et 17% étaient des fumeurs actuels. Dans l'endotype NA2 (n=169), les participants étaient caractérisés principalement par des symptômes respiratoires et une proportion élevée de femmes (62%), 30% étaient des fumeurs actuels, 35% étaient en surpoids et 14% étaient obèses. Parmi les endotypes d'asthme actuel, les participants dans l'endotype CA1 (n=50) étaient principalement caractérisés par un asthme débutant à l'âge adulte, une fonction ventilatoire basse, des symptômes respiratoires, la concentration la plus élevée en POFs et le nombre le plus élevé de neutrophiles circulants ainsi que l'IMC le plus élevé avec 30% de participants en surpoids et 26% de participants obèses ; l'âge moyen était de 53 ans et 12% étaient des fumeurs actuels. Les participants dans l'endotype CA2 (n=203) étaient principalement caractérisés par la concentration la plus faible d'IgE totales, de la rhinite et une hyperréactivité bronchique, 33% étaient des ex-fumeurs, 33% étaient en surpoids et 11% étaient obèses. Les participants dans l'endotype CA3 (n=114) étaient principalement caractérisés par un asthme de l'enfance, une sensibilisation allergique, la concentration la plus élevée d'IgE totales ; ils étaient plus jeunes avec un âge moyen de 32 ans, 62% étaient des hommes et 33% étaient des fumeurs actuels.

### *Description de l'exposition professionnelle aux irritants*

Le Tableau 21 décrit l'exposition professionnelle aux irritants estimée avec et sans l'étape de réévaluation par expertise. Parmi tous les participants, 69% n'étaient exposés à aucune nuisance, 22% avaient une exposition moyenne aux irritants et 10% avaient une exposition élevée. Après l'étape de réévaluation par expertise, le nombre de participants classés comme ayant une exposition élevée ou moyenne diminuait légèrement tandis que le nombre de participants classés comme non exposés augmentait légèrement (Tableau 22).

L'endotype CA1 avait le pourcentage le plus élevé de participants ayant une exposition élevée à tous les agents irritants aussi bien qu'aux sous-groupes d'irritants (produits chimiques hautement réactifs, biocides, produits de nettoyage/désinfectants) (Tableau 21). Des résultats similaires étaient observés pour l'exposition professionnelle estimée avec et sans l'étape d'expertise.

**Tableau 20 : Description des caractéristiques des participants en fonction des endotypes d'asthme (n=999).**

Caractéristiques personnelles, cliniques, fonctionnelles et marqueurs biologiques	Tous N=999	Non asthmatiques (n=632)			Avec un asthme actuel (n=367)		
		NA1 (n=463)	NA2 (n=169)	CA1 (n=50)	CA2 (n=203)	CA3 (n=114)	
Age, ans	44.8 ± 15.8	47.0 (14.8)	48.5 (16.0)	53.2 (15.5)	41.9 (15.1)	32.4 (13.2)	
Sexe, femme	542 (54.3)	255 (55.1)	105 (62.1)	26 (52.0)	113 (55.7)	43 (37.7)	
Statut tabagique							
Non fumeur	487 (48.8)	235 (50.8)	76 (45.0)	24 (48.0)	88 (43.4)	64 (56.1)	
Ex-fumeur	290 (29.0)	148 (32.0)	42 (24.8)	20 (40.0)	68 (33.5)	12 (10.5)	
Fumeurs actuel	222 (22.2)	80 (17.3)	51 (30.2)	6 (12.0)	47 (23.1)	38 (33.3)	
IMC, kg/m <sup>2</sup> *							
< 20	95 (9.5)	43 (9.3)	9 (5.3)	1 (2.00)	25 (12.3)	17 (14.9)	
[20-25[	501 (50.2)	243 (52.5)	77 (45.6)	21 (42.0)	89 (43.8)	71 (62.3)	
[25-30[	295 (29.5)	135 (29.2)	59 (34.9)	15 (30.0)	67 (33.0)	19 (16.7)	
≥ 30	108 (10.8)	42 (9.1)	24 (14.2)	13 (26.0)	22 (10.8)	7 (6.14)	
Age de début d'asthme *, ≥ 16 ans	133 (36.2)	-	-	31 (62.0)	77 (37.9)	25 (21.9)	
VEMS % prédit	102 ± 18.5	108 ± 16.1	104 ± 17.7	76.2 ± 21.7	97.2 ± 17.3	97.0 ± 15.6	
CVF % prédit	111 ± 17.6	113 ± 17.7	111 ± 18.0	95.4 ± 20.5	110 ± 16.4	106 ± 12.9	
Essoufflement et sifflement, 12m	252 (25.2)	2 (0.4)	32 (18.9)	42 (84.0)	126 (62.1)	50 (43.9)	
Crise d'asthme, 12m	162 (44.1)	-	-	37 (74.0)	99 (48.8)	26 (22.8)	
Crises d'essoufflement au repos, 12m	122 (12.2)	3 (0.6)	12 (7.1)	26 (52.0)	67 (33.0)	14 (12.3)	
Crises d'essoufflement après une activité intense, 12m	405 (40.6)	101 (21.9)	71 (42.0)	36 (72.0)	130 (64.0)	67 (58.8)	
Symptômes nocturnes, 12m							
Toux	320 (32.0)	97 (21.0)	71 (42.0)	30 (60.0)	98 (48.3)	24 (21.0)	
Oppression thoracique	281 (28.1)	50 (10.8)	30 (17.7)	37 (74.0)	133 (65.5)	31 (27.2)	
Essoufflement	97 (9.7)	2 (0.4)	7 (4.1)	23 (46.0)	59 (29.1)	6 (5.3)	
Score de symptômes d'asthme §, médiane (min-max)	1 (0-5)	0 (0-4)	1 (0-4)	4 (1-5)	2 (0-5)	1 (0-5)	
Hospitalisations, 12m	4 (1.1)	-	-	3 (6.0)	1 (0.5)	0	
Admissions aux urgences, 12m	7 (1.9)	-	-	6 (12.0)	1 (0.5)	0	
Corticoïdes inhalés, 12m	201 (20.1)	1 (0.2)	18 (10.6)	41 (82.0)	106 (52.2)	35 (30.7)	
Corticoïdes oraux, 12m	57 (15.5)	-	-	18 (36.0)	34 (16.7)	5 (4.4)	
Toux chronique	81 (8.1)	1 (0.2)	31 (18.3)	21 (42.0)	24 (11.8)	4 (3.5)	
Crachats chroniques	70 (7.0)	0	27 (16.0)	16 (32.0)	22 (10.8)	5 (4.4)	
Dyspnée grade 3	110 (11.0)	4 (0.9)	35 (20.7)	28 (56.0)	32 (15.8)	11 (9.6)	
Test cutané positif	523 (52.4)	167 (37.0)	56 (33.1)	35 (70.0)	159 (78.3)	106 (92.9)	
Rhinite	359 (36.0)	83 (18.0)	48 (28.4)	27 (54.0)	140 (69.0)	61 (53.5)	
Eczéma	362 (36.2)	130 (28.2)	46 (27.2)	19 (38.0)	103 (50.7)	64 (56.1)	
IgE totales, IU/mL, MG (Q1-Q3)	67.5 (23.2-195)	40.3 (15.8-101)	50.6 (16.1-135)	144 (65.4-372)	125 (46-279)	203 (95.2-536)	
Eosinophiles, cellules/mm <sup>3</sup>	198 ± 163	155 ± 108	177 ± 138	301 ± 320	255 ± 181	253 ± 187	
Neutrophiles, cellules/mm <sup>3</sup>	4012 ± 1410	3915 ± 1278	4177 ± 1487	4986 ± 1651	4130 ± 1584	3522 ± 1074	
POFs, RFU/mL, MG (Q1-Q3)	94.2 (80.7-107)	94.5 (81.8-109)	97.3 (82.6-111)	106 (92.1-118)	91.7 (79.3-105)	88.9 (77.6-99.2)	

Les résultats sont présentés en n (%) ou moyenne ± écart type, sauf indication contraire. En italique : variables non incluses dans les analyses de classification chez les non-asthmatiques ; \* incluses en tant que variables continues dans les analyses de classification ; § score de symptômes d'asthme non inclus dans les analyses de classification ; MG : moyenne géométrique ; Q1 : 1<sup>er</sup> quartile ; Q3 : 3<sup>ème</sup> quartile ; IMC : indice de masse corporelle ; VEMS : volume expiratoire maximal par seconde ; IgE : immunoglobuline E ; POFs : produits d'oxydation fluorescents ; RFU : intensité relative de fluorescence.

**Tableau 21 : Description de l'exposition professionnelle actuelle aux agents irritants dans chaque endotype d'asthme.**

	Tous les participants N=999	Non asthmatiques		Avec un asthme actuel		
		NA1 n=463	NA2 n=169	CA1 n=50	CA2 n=203	CA3 n=114
<i>Sans l'étape de réévaluation par expertise</i>						
<b>Tous les agents irritants</b>						
Non exposé	683 (68,6)	315 (68,3)	117 (69,6)	34 (68,0)	143 (70,4)	74 (64,9)
Moyen	215 (21,6)	106 (23,0)	34 (20,2)	5 (10,0)	44 (21,7)	26 (22,8)
Elevé	98 (9,8)	40 (8,7)	17 (10,1)	11 (22,0)	16 (7,9)	14 (12,3)
<b>Produits chimiques hautement réactifs</b>						
Non exposé	683 (76,9)	315 (75,5)	117 (79,1)	34 (79,1)	143 (79,4)	74 (74,0)
Moyen	167 (18,8)	83 (19,9)	27 (18,2)	5 (11,6)	32 (17,8)	20 (20,0)
Elevé	38 (4,3)	19 (4,6)	4 (2,7)	4 (9,3)	5 (2,8)	6 (6,0)
<b>Biocides</b>						
Non exposé	683 (82,6)	315 (81,4)	117 (84,8)	34 (80,9)	143 (84,6)	74 (81,3)
Moyen	109 (13,2)	56 (14,5)	17 (12,3)	3 (7,2)	22 (13,0)	11 (12,1)
Elevé	35 (4,2)	16 (4,1)	4 (2,9)	5 (11,9)	4 (2,4)	6 (6,6)
<b>Produits de nettoyage/désinfectants</b>						
Non exposé	683 (80,4)	315 (80,8)	117 (81,2)	34 (85,0)	143 (79,9)	74 (77,1)
Moyen	129 (15,2)	57 (14,6)	22 (15,3)	2 (5,0)	32 (17,9)	16 (16,7)
Elevé	37 (4,4)	18 (4,6)	5 (3,5)	4 (10,0)	4 (2,2)	6 (6,2)
<i>Avec l'étape de réévaluation par expertise</i>						
<b>Tous les agents irritants</b>						
Non exposé	714 (71,5)	333 (72,1)	122 (72,2)	34 (68,0)	150 (73,9)	75 (65,8)
Moyen	206 (20,6)	96 (20,8)	36 (21,3)	8 (16,0)	38 (18,7)	28 (24,6)
Elevé	78 (7,8)	33 (7,1)	11 (6,5)	8 (16,0)	15 (7,4)	11 (9,6)
<b>Produits chimiques hautement réactifs</b>						
Non exposé	714 (78,8)	333 (77,6)	122 (80,8)	34 (79,1)	150 (82,9)	75 (73,5)
Moyen	154 (17,0)	76 (17,7)	25 (16,6)	5 (11,6)	25 (13,8)	23 (22,6)
Elevé	38 (4,2)	20 (4,7)	4 (2,6)	4 (9,3)	6 (3,3)	4 (3,9)
<b>Biocides</b>						
Non exposé	714 (84,6)	333 (83,9)	122 (85,3)	34 (85,0)	150 (87,2)	75 (81,5)
Moyen	99 (11,7)	49 (12,3)	18 (12,6)	3 (7,5)	17 (9,9)	12 (13,0)
Elevé	31 (3,7)	15 (3,8)	3 (2,1)	3 (7,5)	5 (2,9)	5 (5,4)
<b>Produits de nettoyage/désinfectants</b>						
Non exposé	714 (81,9)	333 (82,6)	122 (81,9)	34 (82,9)	150 (82,9)	75 (76,5)
Moyen	134 (15,4)	57 (14,1)	24 (16,1)	5 (12,2)	28 (15,5)	20 (20,4)
Elevé	24 (2,7)	13 (3,2)	3 (2,0)	2 (4,9)	3 (1,7)	3 (3,1)

Les résultats sont présentés en n (%).

**Tableau 22 : Comparaison du nombre de participants dans chaque catégorie d'exposition professionnelle estimée avec et sans l'étape de réévaluation par expertise.**

Avec l'étape de réévaluation par expertise	Sans l'étape de réévaluation par expertise			n total
	Non exposé n (%)	Moyen n (%)	Elevé n (%)	
Non exposé n (%)	683 (68,6)	<b>24 (2,4)</b>	<b>4 (0,4)</b>	711
Moyen n (%)	0	173 (17,4)	<b>33 (3,3)</b>	206
Elevé n (%)	0	<b>17 (1,7)</b>	61 (6,1)	78
n total	683	214	98	995

Données manquantes n=4.

Interprétation : 24 (2,4%) signifie que 24 participants classés comme ayant une exposition moyenne avec l'estimation sans réévaluation par expertise ont été classés comme non exposés avec la réévaluation par expertise.

### *Associations entre l'exposition professionnelle aux irritants et les endotypes d'asthme*

Une association positive et significative était observée entre une exposition élevée aux agents irritants estimée sans l'étape de réévaluation par expertise et l'endotype CA1 (vs NA1,  $OR_{ajusté}$  [IC à 95%] = 2,79 [1,19-6,56], Tableau 23). Aucune association significative n'était observée entre une exposition moyenne aux irritants et l'endotype CA1. De même, aucune association significative n'était observée entre les agents irritants et les autres endotypes d'asthme. Des résultats similaires étaient observés avec l'exposition estimée avec l'étape d'expertise ( $OR_{ajusté}$  [IC à 95%] = 2,70 [1,00-7,33]) pour CA1 vs NA1).

En ajustant sur l'IMC, en plus des autres facteurs d'ajustement, les résultats restaient similaires avec des ORs >2,5 pour l'association entre les irritants et CA1 (sans l'étape d'expertise : p=0,04 ; avec l'étape d'expertise : p=0,09, Tableau 23). Aucune association significative n'était observée entre l'exposition professionnelle aux irritants et l'endotype CA1 ni les autres endotypes d'asthme (Tableau 24).

**Tableau 23 : Associations entre l'exposition professionnelle actuelle aux irritants et les endotypes d'asthme (n=999).**

	Exposition professionnelle actuelle aux irritants									
	Sans l'étape de réévaluation par expertise					Avec l'étape de réévaluation par expertise				
	Non exposé	Moyen	p <sup>§</sup>	Elevé	p <sup>§</sup>	Non exposé	Moyen	p <sup>§</sup>	Elevé	p <sup>§</sup>
<b>NA2 vs NA1</b>										
<b>n</b>	432 (117 vs 315)	140 (34 vs 106)		57 (17 vs 40)		455 (122 vs 333)	132 (36 vs 96)		44 (11 vs 33)	
<b>OR<sub>brut</sub> (IC à 95%)</b>	1	0,86 (0,56- 1,34)	0,51	1,14 (0,65- 2,02)	0,66	1	1,03 (0,66-1,60)	0,92	0,91 (0,46-1,81)	0,80
<b>OR<sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*</b>	1	0,86 (0,54- 1,36)	0,51	1,09 (0,60- 1,96)	0,79	1	0,98 (0,61-1,56)	0,93	0,93 (0,46-1,89)	0,85
<b>OR<sub>ajusté</sub> (IC à 95%)**</b>	1	0,86 (0,54- 1,36)	0,51	0,98 (0,55- 1,76)	0,96	1	0,98 (0,62-1,56)	0,93	0,85 (0,42-1,69)	0,64
<b>CA1 vs NA1</b>										
<b>n</b>	349 (34 vs 315)	111 (5 vs 106)		51 (11 vs 40)		367 (34 vs 333)	104 (8 vs 96)		41 (8 vs 33)	
<b>OR<sub>brut</sub> (IC à 95%)</b>	1	0,42 (0,16- 1,14)	0,08	<b>2,73 (1,26- 5,92)</b>	<b>0,01</b>	1	0,78 (0,35-1,72)	0,62	<b>2,53 (1,02-6,27)</b>	<b>0,05</b>
<b>OR<sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*</b>	1	0,41 (0,15- 1,10)	0,08	<b>2,79 (1,19- 6,56)</b>	<b>0,02</b>	1	0,77 (0,34-1,74)	0,52	<b>2,70 (1,00-7,33)</b>	<b>0,05</b>
<b>OR<sub>ajusté</sub> (IC à 95%)**</b>	1	0,42 (0,16- 1,10)	0,08	<b>2,59 (1,05- 6,38)</b>	<b>0,04</b>	1	0,79 (0,35-1,75)	0,55	2,57 (0,87-7,58)	0,09
<b>CA2 vs NA1</b>										
<b>n</b>	458 (143 vs 315)	150 (44 vs 106)		56 (16 vs 40)		483 (150 vs 333)	134 (38 vs 96)		48 (15 vs 33)	
<b>OR<sub>brut</sub> (IC à 95%)</b>	1	0,89 (0,60- 1,33)	0,66	0,86 (0,45- 1,66)	0,68	1	0,85 (0,56-1,30)	0,55	1,02 (0,51-1,98)	0,98
<b>OR<sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*</b>	1	0,93 (0,62- 1,40)	0,73	0,87 (0,44- 1,71)	0,69	1	0,87 (0,56-1,34)	0,52	1,04 (0,52-2,10)	0,91
<b>OR<sub>ajusté</sub> (IC à 95%)**</b>	1	0,96 (0,63- 1,45)	0,83	0,87 (0,44- 1,70)	0,68	1	0,91 (0,59-1,40)	0,66	1,03 (0,51-2,07)	0,94
<b>CA3 vs NA1</b>										
<b>n</b>	389 (74 vs 315)	132 (26 vs 106)		54 (14 vs 40)		408 (75 vs 333)	124 (28 vs 96)		44 (11 vs 33)	
<b>OR<sub>brut</sub> (IC à 95%)</b>	1	1,04 (0,63- 1,72)	0,87	1,47 (0,77- 2,79)	0,23	1	1,28 (0,78-2,12)	0,30	1,49 (0,72-3,07)	0,29
<b>OR<sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*</b>	1	1,09 (0,63- 1,89)	0,76	1,30 (0,62- 2,73)	0,49	1	1,19 (0,69-2,07)	0,53	1,28 (0,56-2,90)	0,56
<b>OR<sub>ajusté</sub> (IC à 95%)**</b>	1	1,07 (0,62- 1,85)	0,81	1,28 (0,61- 2,69)	0,51	1	1,17 (0,68-2,03)	0,58	1,26 (0,55-2,86)	0,58

Résultats significatifs en gras.

\*OR: odds ratio ajusté sur âge, sexe et statut tabagique ; \*\*OR ajusté sur l'IMC, âge, sexe et statut tabagique;

§pour les modèles univariés (OR<sub>brut</sub>), les valeurs de p correspondent à celles du test de Chi-deux ou celles du test exact de Fisher.

**Tableau 24 : Associations entre exposition professionnelle vie aux agents irritants et endotypes d'asthme.**

	Exposition professionnelle vie aux agents irritants					
	Sans l'étape de réévaluation par expertise			Avec l'étape de réévaluation par expertise		
	Non exposé	Moyen	Elevé	Non exposé	Moyen	Elevé
<b>NA2 vs NA1</b>						
<b>n</b>	289 (80 vs 209)	183 (49 vs 134)	159 (39 vs 120)	303 (83 vs 220)	177 (50 vs 127)	151 (36 vs 115)
<b>OR<sub>brut</sub> (IC à 95%)</b>	1	0,95 (0,64-1,43)	0,85 (0,56-1,30)	1	1,04 (0,70-1,56)	0,83 (0,53-1,30)
<b>OR<sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*</b>	1	1,03 (0,68-1,57)	0,84 (0,53-1,32)	1	1,09 (0,71-1,67)	0,84 (0,52-1,35)
<b>CA1 vs NA1</b>						
<b>n</b>	229 (20 vs 209)	146 (12 vs 134)	138 (18 vs 120)	240 (20 vs 220)	141 (14 vs 127)	131 (16 vs 115)
<b>OR<sub>brut</sub> (IC à 95%)</b>	1	0,93 (0,45-1,92)	1,57 (0,80-3,09)	1	1,23 (0,61-2,46)	1,54 (0,76-3,12)
<b>OR<sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*</b>	1	0,96 (0,47-1,96)	1,44 (0,65-3,20)	1	1,28 (0,65-2,53)	1,37 (0,60-3,14)
<b>CA2 vs NA1</b>						
<b>n</b>	309 (100 vs 209)	196 (62 vs 134)	181 (41 vs 120)	324 (104 vs 220)	186 (59 vs 127)	155 (40 vs 115)
<b>OR<sub>brut</sub> (IC à 95%)</b>	1	0,94 (0,65-1,38)	0,71 (0,46-1,09)	1	0,97 (0,67-1,41)	0,73 (0,48-1,12)
<b>OR<sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*</b>	1	0,91 (0,61-1,36)	0,71 (0,44-1,12)	1	0,92 (0,62-1,35)	0,77 (0,49-1,21)
<b>CA3 vs NA1</b>						
<b>n</b>	261 (52 vs 209)	169 (35 vs 134)	147 (27 vs 120)	276 (56 vs 220)	166 (39 vs 127)	134 (19 vs 115)
<b>OR<sub>brut</sub> (IC à 95%)</b>	1	1,04 (0,66-1,64)	0,89 (0,53-1,47)	1	1,19 (0,76-1,86)	0,62 (0,36-1,09)
<b>OR<sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*</b>	1	0,94 (0,57-1,56)	0,92 (0,50-1,71)	1	1,04 (0,62-1,72)	0,69 (0,36-1,33)

\*OR : odds ratio ajusté sur âge, sexe et statut tabagique. Exposition professionnelle vie définie par le niveau maximum d'exposition parmi tous les métiers exercés au cours de la vie.



*Associations entre l'exposition professionnelle aux sous-groupes d'irritants et l'endotype d'asthme CA1*

Malgré un faible effectif, une association était observée entre une exposition élevée aux biocides estimée sans l'étape d'expertise et l'endotype CA1 (vs NA1, Tableau 25). Cette association était à la limite de la significativité dans le modèle univarié ( $p$  du test exact de Fisher = 0,06) et était significative dans le modèle ajusté sur l'âge, le sexe et le statut tabagique ( $OR_{\text{ajusté}}$  [IC à 95%] = 3,89 [1,32-11,5]). Des résultats similaires étaient observés avec l'exposition estimée avec l'étape d'expertise ( $OR_{\text{ajusté}}$  [IC à 95%] = 3,13 [1,00-9,83]). Bien que tous les ORs fussent supérieurs à 2,1, aucune des associations entre l'exposition professionnelle aux produits chimiques hautement réactifs et aux produits de nettoyage/désinfectants estimée avec et sans l'étape d'expertise et l'endotype CA1 n'étaient significatives.

Aucune association significative n'était observée entre l'exposition professionnelle aux agents de petit poids moléculaire estimée avec et sans l'étape d'expertise et l'endotype CA1 ni les autres endotypes (Tableau 26).

**Tableau 25 : Associations entre exposition professionnelle actuelle aux sous-groupes d'irritants et endotype d'asthme CA1.**

Sous-groupes d'irritants	CA1 vs NA1				
	Non exposé	Moyen		Elevé	
<i>Sans l'étape de réévaluation par expertise</i>					
<b>Produits chimiques hautement réactifs</b>					
n	349 (34 vs 315)	88 (5 vs 83)		23 (4 vs 19)	
OR <sub>brut</sub> (IC à 95%), p <sup>†</sup>	1	0,52 (0,19-1,43)	0,23	2,14 (0,72- 6,42)	0,28
OR <sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*, p	1	0,54 (0,20-1,46)	0,22	1,93 (0,52-7,15)	0,33
<b>Biocides</b>					
n	349 (34 vs 315)	59 (3 vs 56)		21 (5 vs 16)	
OR <sub>brut</sub> (IC à 95%), p <sup>†</sup>	1	0,48 (0,13-1,72)	0,25	3,36 (1,27-8,89)	0,06
OR <sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*, p	1	0,47 (0,13-1,65)	0,24	<b>3,89 (1,32-11,5)</b>	<b>0,01</b>
<b>Produits de nettoyage/désinfectants</b>					
n	349 (34 vs 315)	59 (2 vs 57)		22 (4 vs 18)	
OR <sub>brut</sub> (IC à 95%), p <sup>†</sup>	1	0,30 (0,07-1,37)	0,11	2,27 (0,79-6,55)	0,26
OR <sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*, p	1	0,31 (0,07-1,43)	0,13	2,25 (0,71-7,16)	0,17
<i>Avec l'étape de réévaluation par expertise</i>					
<b>Produits chimiques hautement réactifs</b>					
n	367 (34 vs 333)	81 (5 vs 76)		24 (4 vs 20)	
OR <sub>brut</sub> (IC à 95%), p <sup>†</sup>	1	0,61 (0,23-1,64)	0,37	2,02 (0,65-6,24)	0,27
OR <sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*, p	1	0,60 (0,22-1,68)	0,33	2,15 (0,62-7,50)	0,23
<b>Biocides</b>					
n	367 (34 vs 333)	52 (3 vs 49)		18 (3 vs 15)	
OR <sub>brut</sub> (IC à 95%), p <sup>†</sup>	1	0,58 (0,17-1,95)	0,40	2,26 (0,71-7,20)	0,40
OR <sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*, p	1	0,53 (0,15-1,91)	0,33	<b>3,13 (1,00-9,83)</b>	<b>0,05</b>
<b>Produits de nettoyage/désinfectants</b>					
n	367 (34 vs 333)	62 (5 vs 57)		15 (2 vs 13)	
OR <sub>brut</sub> (IC à 95%), p <sup>†</sup>	1	0,89 (0,34-2,33)	0,76	1,71 (0,39-7,41)	0,64
OR <sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*, p	1	0,87 (0,32-2,38)	0,78	2,12 (0,45-9,98)	0,34

\*OR : odds ratio ajusté sur âge, sexe et statut tabagique ; †valeur de p du test de Chi-deux ou du test exact de Fisher pour les échantillons à faible effectif (n<5). Résultats significatifs en gras.

**Tableau 26 : Associations entre exposition professionnelle actuelle aux agents de petit poids moléculaire et endotypes d'asthme.**

	Exposition professionnelle aux agents de petit poids moléculaire									
	Sans l'étape de réévaluation par expertise					Avec l'étape de réévaluation par expertise				
	Non exposé	Moyen	p§	Elevé	p§	Non exposé	Moyen	p§	Elevé	p§
<b>NA2 vs NA1</b>										
<b>n</b>	432 (117 vs 315)	104 (25 vs 79)		16 (5 vs 11)		455 (122 vs 333)	81 (22 vs 59)		23 (4 vs 19)	
<b>OR<sub>brut</sub> (IC à 95%)</b>	1	0,86 (0,54-1,38)	0,54	1,21 (0,41-3,55)	0,73	1	1,04 (0,62-1,73)	0,89	0,56 (0,18-1,72)	0,31
<b>OR<sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*</b>	1	0,83 (0,51-1,35)	0,45	0,99 (0,32-3,05)	0,99	1	0,96 (0,55-1,65)	0,87	0,52 (0,17-1,58)	0,25
<b>CA1 vs NA1</b>										
<b>n</b>	349 (34 vs 315)	86 (7 vs 79)		14 (3 vs 11)		367 (34 vs 333)	66 (7 vs 59)		22 (3 vs 19)	
<b>OR<sub>brut</sub> (IC à 95%)</b>	1	0,81 (0,31- 2,11)	0,67	2,55 (0,76- 8,56)	0,13	1	1,15 (0,44-3,00)	0,77	1,44 (0,39-5,32)	0,59
<b>OR<sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*</b>	1	0,89 (0,34- 2,32)	0,81	2,03 (0,50- 8,27)	0,33	1	1,27 (0,47-3,42)	0,63	1,52 (0,40-5,81)	0,54
<b>CA2 vs NA1</b>										
<b>n</b>	458 (143 vs 315)	105 (26 vs 79)		18 (7 vs 11)		483 (150 vs 333)	76 (17 vs 59)		30 (11 vs 19)	
<b>OR<sub>brut</sub> (IC à 95%)</b>	1	0,69 (0,43-1,11)	0,12	1,40 (0,57-3,46)	0,46	1	0,61 (0,35-1,07)	0,09	1,28 (0,60-2,75)	0,53
<b>OR<sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*</b>	1	0,70 (0,43-1,12)	0,14	1,44 (0,58-3,60)	0,44	1	0,62 (0,35-1,10)	0,10	1,26 (0,57-2,81)	0,57
<b>CA3 vs NA1</b>										
<b>n</b>	389 (74 vs 315)	98 (19 vs 79)		16 (5 vs 11)		408 (75 vs 333)	79 (20 vs 59)		23 (4 vs 19)	
<b>OR<sub>brut</sub> (IC à 95%)</b>	1	1,00 (0,57-1,76)	1,00	2,01 (0,68-5,99)	0,21	1	1,48 (0,84-2,60)	0,17	0,94 (0,30-2,90)	0,91
<b>OR<sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*</b>	1	0,91 (0,50-1,66)	0,76	1,84 (0,57-5,97)	0,31	1	1,23 (0,66-2,28)	0,51	0,88 (0,28-2,83)	0,83

\*OR : odds ratio ajusté sur âge, sexe et statut tabagique. § pour les modèles univariés (OR<sub>brut</sub>), les valeurs de p correspondent à celles du test de Chi-deux ou celles du test exact de Fisher.

## C) Discussion

Dans ce chapitre, les associations entre l'exposition professionnelle aux agents irritants et cinq endotypes d'asthme identifiés par une approche non supervisée intégrant plusieurs caractéristiques cliniques et fonctionnelles de l'asthme et des marqueurs biologiques liés au stress oxydant et à l'inflammation étaient examinées. Une association significative était observée entre une exposition élevée aux agents irritants et CA1, un endotype principalement caractérisé par un asthme débutant à l'âge adulte, une fonction ventilatoire basse, des symptômes respiratoires, une concentration élevée en marqueurs biologiques du stress oxydant, un nombre élevé de cellules de l'inflammation et un IMC élevé. Aucune association significative n'était observée entre les agents irritants et les autres endotypes d'asthme.

L'utilisation de la nouvelle version de la matrice emplois-expositions spécifique pour l'asthme OAsJEM [251] constitue une force de cette étude. En effet, la mise à jour de cette matrice permettait d'augmenter le nombre de nuisances estimées qui allaient de 22 nuisances estimées avec l'ancienne matrice développée dans les années 2000 [252] à 30 nuisances à risque pour l'asthme avec la nouvelle matrice OAsJEM. Ces 30 nuisances étaient classées dans différents grands groupes permettant de distinguer spécifiquement les agents sensibilisants des agents irritants, ce qui est intéressant pour étudier les associations avec des endotypes d'asthme spécifiques. Nous avons examiné les associations entre plusieurs sous-groupes d'irritants (produits chimiques hautement réactifs, biocides, produits de nettoyage/désinfectants) et l'endotype d'asthme CA1. Nous n'avons observé aucune association significative avec les produits chimiques hautement réactifs et les produits de nettoyage/désinfectants, et l'association observée avec les biocides était à la limite de la significativité. Dans la littérature, ces sous-groupes d'irritants étaient associés à l'asthme. Une revue de la littérature [189] a rapporté quatre études qui montraient des associations

significatives entre l'exposition professionnelle aux pesticides dont les herbicides, les insecticides ou les fongicides et l'asthme, trois agents qui étaient regroupés dans le groupe des biocides dans notre étude. De même, plusieurs études ont montré des associations entre l'exposition professionnelle aux produits de nettoyage/désinfectants et l'asthme [22, 166, 168, 170]. Malgré notre hypothèse d'un rôle irritant de ces agents, d'autres mécanismes biologiques pourraient jouer un rôle. En effet, les produits de nettoyage et désinfectants sont des mélanges de produits chimiques qui peuvent être irritants ou sensibilisants [161], et les pesticides ont été associés à un asthme allergique dans certaines études [267–270]. Dans notre étude, les analyses de ces sous-groupes d'irritants étaient limitées par la faible taille de notre échantillon, et les résultats doivent être interprétés avec précaution. Ils étaient néanmoins cohérents avec les associations observées entre les irritants en général et CA1, avec des ORs du même ordre de grandeur (tous les ORs > 2,0). Des études avec des effectifs plus larges sont nécessaires pour étudier ces sous-groupes d'irritants ainsi que les agents spécifiques.

Une association significative était observée entre l'exposition professionnelle actuelle ou au cours du dernier métier aux irritants et l'endotype CA1, et aucune association n'était observée avec l'exposition professionnelle vie. Ces résultats pourraient s'expliquer en partie par le fait que la définition des endotypes d'asthme était basée sur des caractéristiques reflétant l'activité de la maladie dans les 12 derniers mois qui seraient plutôt liée à une exposition professionnelle actuelle qu'une exposition passée.

Aucune association significative n'était observée entre l'exposition professionnelle aux agents de petit poids moléculaire et l'endotype CA1 ni les autres endotypes d'asthme. Ces résultats sont cohérents avec l'hypothèse que ces types d'agents ont des mécanismes biologiques différents impliquant des réponses immunitaires spécifiques avec ou sans production d'IgE spécifiques [147, 271].

Les associations que nous avons observées pourraient être sous-estimées en raison de la présence potentielle d'un biais du travailleur sain. Pour évaluer la présence de ce biais, l'association entre les symptômes d'asthme à EGEA1 et l'exposition professionnelle à EGEA2 stratifiée sur l'asthme vie a été étudiée dans une analyse de sensibilité. Cette analyse avait pour objectif de déterminer si la présence de symptômes d'asthme antérieurs influencerait le métier choisi plus tard et donc l'exposition (Annexe 11). Aucune association significative n'était observée contrairement à ce qui serait attendu en présence d'un biais du travailleur sain. Néanmoins, il est difficile d'établir des conclusions sur les résultats de cette analyse de sensibilité en raison d'un effectif très faible pour certaines catégories de score de symptômes d'asthme.

A notre connaissance, notre étude est la première à examiner l'association entre l'exposition professionnelle aux irritants et des endotypes d'asthme identifiés par une approche non supervisée basée sur des caractéristiques personnelles, cliniques et fonctionnelles ainsi que des marqueurs biologiques. Récemment, une étude a identifié des clusters d'asthme (n allant de 63 à 885) par une analyse de cluster hiérarchique chez 2030 professionnels de santé, et a étudié leurs associations avec un ou plusieurs clusters d'exposition aux irritants. [272]. Dans cette étude, l'identification des clusters était basée uniquement sur des traitements pour asthme et des symptômes respiratoires et les irritants étudiés incluaient uniquement les produits de nettoyage et désinfectants, ce qui rend difficile la comparaison avec les résultats de notre étude. Au-delà des irritants, d'autres études dans des populations constituées de patients avec un asthme professionnel induit par des agents spécifiques tels que les diisocyanates, ou des groupes d'agents LMW ou HMW, ont réalisé des analyses de clusters basées sur des caractéristiques cliniques et biologiques. Ainsi, Lemiere *et al.* ont identifié, parmi des participants avec un asthme professionnel potentiel (n=73), trois clusters basés sur des caractéristiques personnelles, l'atopie, des traitements pour asthme et la concentration en

FeNO avant et après une exposition à des agents HMW et LMW [273]. Les auteurs ont observé un cluster principalement composé de participants exposés à des LMW et deux clusters principalement composés de participants exposés à des agents HMW et ayant une concentration élevée en FeNO. Dans une étude chez des participants avec un asthme professionnel dû aux isocyanates (n=187), un agent LMW, Mason *et al.* ont identifié trois clusters basés sur des caractéristiques personnelles et fonctionnelles ainsi que des éosinophiles et des neutrophiles circulants [274]. Bien que dans l'ensemble de ces études, les expositions d'intérêt ne fussent pas des agents irritants, ces études intégraient des marqueurs biologiques dans leurs analyses de clusters tels que le FeNO [273] ou les neutrophiles et les éosinophiles [274]. Cependant, excepté pour le FeNO dans l'étude de Lemiere *et al.*, le nombre d'éosinophiles et de neutrophiles étaient identiques au sein de chaque cluster, et aucun endotype d'asthme spécifique n'a été identifié.

Nos résultats sont cohérents avec ceux des études précédentes qui examinaient de manière individuelle certaines des caractéristiques de l'asthme spécifiques à l'endotype CA1. Les principales caractéristiques cliniques de l'endotype CA1 étaient un asthme débutant à l'âge adulte, une fonction ventilatoire basse et des symptômes respiratoires. Les études précédentes ont montré des associations significatives entre les produits de nettoyage et des symptômes respiratoires ainsi qu'une fonction ventilatoire basse [166, 168, 170] ou un déclin de la fonction ventilatoire [275]. Sunyer *et al.* ont observé une association significative entre un niveau élevé d'exposition aux poussières minérales et un niveau modéré d'exposition aux poussières biologiques et à la fumée, des agents qui sont aussi classés comme irritants, et un déclin de la fonction ventilatoire chez des femmes ex-fumeuses [276].

L'endotype CA1 était également caractérisé par une concentration élevée en POFs. L'association observée entre l'exposition aux irritants et CA1 est ainsi cohérent avec les résultats observés dans les chapitres précédents de la thèse ainsi que dans la littérature. En

effet, nous avons observé une association significative entre l'exposition professionnelle aux irritants et une concentration élevée en POFs de même que dans l'étude de Dumas *et al.* dans EGEA2 [19]. Dans d'autres études, l'exposition aux produits de nettoyage en milieu professionnel ou en milieu domestique était associée au peroxyde d'hydrogène, une espèce réactive de l'oxygène [177] ou aux 8-isoprostanes, un marqueur spécifique de la peroxydation lipidique [22].

L'endotype CA1 était également caractérisé par un nombre élevé de neutrophiles dans le sang. A notre connaissance, peu d'études ont examiné le rôle de l'inflammation non éosinophilique dans l'asthme lié à l'exposition aux irritants et aucune étude n'a porté sur l'association entre le nombre de neutrophiles et l'exposition professionnelle aux irritants. Dans l'étude EGEA, Matulonga *et al.* ont observé une association significative entre l'utilisation fréquente d'eau de javel à domicile et un nombre élevé de neutrophiles dans le sang chez des femmes avec un asthme actuel [82]. Dans un modèle murin d'asthme induit par les irritants, McGovern *et al.* ont montré que le nombre de neutrophiles augmentait significativement après l'exposition des souris au chlore gazeux, un agent connu comme étant un irritant respiratoire [277]. Nos résultats sont cohérents avec ceux de la littérature et suggèrent un rôle de l'inflammation neutrophilique associé au stress oxydant dans la relation entre l'exposition aux irritants et l'asthme. Cette hypothèse apparaît d'autant plus pertinente que ces deux mécanismes sont fortement liés. En effet, les cellules de l'inflammation telles que les macrophages, les éosinophiles ou les neutrophiles, à la suite d'une production d'espèces réactives de l'oxygène, peuvent accroître les dommages oxydants [278] et induire ainsi le stress oxydant. Bien que l'endotype CA1 présentait également un nombre élevé d'éosinophiles circulants, ce nombre n'était pas significativement différent de celui des autres endotypes d'asthme. Enfin, l'absence d'association entre l'exposition professionnelle aux irritants et l'endotype principalement caractérisé par une sensibilisation allergique et une concentration d'IgE totales élevée (CA3) observée dans notre étude est cohérent avec



l'hypothèse d'un mécanisme non allergique/non immunologique de l'asthme induit par les irritants [11].

En résumé, notre étude suggère que l'exposition professionnelle aux irritants est associée à un sous-type d'asthme caractérisé principalement par un asthme débutant à l'âge adulte, une fonction ventilatoire basse, des symptômes respiratoires et une concentration élevée de produits d'oxydation fluorescents ainsi qu'un nombre élevé de neutrophiles. L'étude des endotypes d'asthme apporte de nouvelles connaissances sur les mécanismes biologiques sous-jacents à l'asthme associé à l'exposition professionnelles aux irritants, suggérant le stress oxydant et l'inflammation neutrophilique comme mécanismes potentiels. De plus larges études, dans un contexte épidémiologique ou chez des patients avec un asthme lié au travail, seraient nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes de l'asthme induit par les irritants et pour comprendre si les irritants en général sont associés à un seul endotype d'asthme, comme observé dans notre étude, ou si chaque type d'irritant est lié à différents endotypes spécifiques.

### **V.3 Associations entre les gènes impliqués dans la réponse au stress oxydant et l'endotype d'asthme CA1 et modification selon l'exposition professionnelle aux irritants**

*Ce travail a été présenté au séminaire annuel EGEA à Villejuif en Mai 2019 et fait l'objet d'un article en cours de finalisation.*

L'asthme est une maladie hétérogène avec une grande variabilité clinique et phénotypique. Les variants génétiques identifiés à ce jour par les études pangénomiques d'association avec l'asthme n'expliquent qu'une faible proportion de la composante génétique de la maladie [25, 49, 50]. Ce résultat pourrait s'expliquer par le fait que l'hétérogénéité phénotypique de l'asthme a été peu prise en compte dans ces études [26, 48]. La recherche d'associations entre des variants génétiques et différents endotypes d'asthme permettrait de prendre en compte cette hétérogénéité de l'asthme et de découvrir de nouveaux gènes.

Par ailleurs, l'asthme a une étiologie complexe avec plusieurs facteurs de risques dont l'exposition professionnelle aux irritants qui peuvent être en interaction avec des facteurs génétiques. L'étude des interactions gènes-environnement pourrait aussi permettre la découverte de nouveaux gènes et aider à mieux comprendre les mécanismes biologiques dans l'asthme associé à l'exposition professionnelle aux irritants [24].

Dans le chapitre précédant de ce manuscrit de thèse, cinq endotypes d'asthme identifiés par une approche non supervisée dans EGEA2 ont été étudiés. Parmi eux, l'endotype CA1 défini chez les asthmatiques actuels était le seul endotype d'asthme associé à l'exposition professionnelle élevée aux irritants. Cet endotype était caractérisé principalement par un asthme débutant à l'âge adulte, une fonction ventilatoire basse, des symptômes respiratoires et un niveau élevé de marqueurs biologique du stress oxydant et de neutrophiles.

Dans ce chapitre qui correspond au troisième objectif de la thèse, nous nous sommes donc intéressés particulièrement à cet endotype d'asthme CA1. Nous avons étudié les associations

entre des gènes impliqués dans la réponse au stress oxydant et cet endotype, et si ces associations étaient spécifiques à celui-ci. De plus, nous avons étudié si les associations entre ces gènes et l'endotype CA1 étaient différentes selon l'exposition professionnelle aux irritants.

## **A) Matériels et méthodes**

### ***Sélection de la population***

Dans cette étude transversale, les analyses étaient basées sur les données issues des participants adultes à EGEA2 appartenant aux endotypes d'asthme NA1 et CA1 soit au total 542 participants.

### ***Génotypage***

Les participants d'EGEA ont été génotypés selon une approche pangénomique et des imputations à partir du panel de référence HapMap CEU ont été effectuées sur les SNPs non génotypés. Des critères de contrôles qualités stricts ont été appliqués aux SNPs génotypés et aux SNPs imputés. Le génotypage, l'imputation des SNPs et les critères de contrôle qualité sont décrits en détail dans les Matériels et méthodes de ce manuscrit ([cf Partie IV.1.3](#)).

### ***Sélection des gènes***

Récemment, Rava *et al.* ont examiné les interactions entre les gènes impliqués dans la réponse au stress oxydant et l'exposition professionnelle aux agents de petit poids moléculaire et aux produits de nettoyage dans l'asthme de l'adulte [24]. Les auteurs ont sélectionné 411 gènes selon la première étape de l'approche dite par « pathways » décrite en détail précédemment

[215]. Cette étape consiste à établir une liste de gènes en intégrant dans le processus de sélection les informations sur les processus biologiques partagés par les gènes.

Dans cette thèse, la sélection des gènes a été effectuée de manière similaire à cette étape de sélection utilisée par Rava *et al.*. La procédure se décline en 3 étapes :

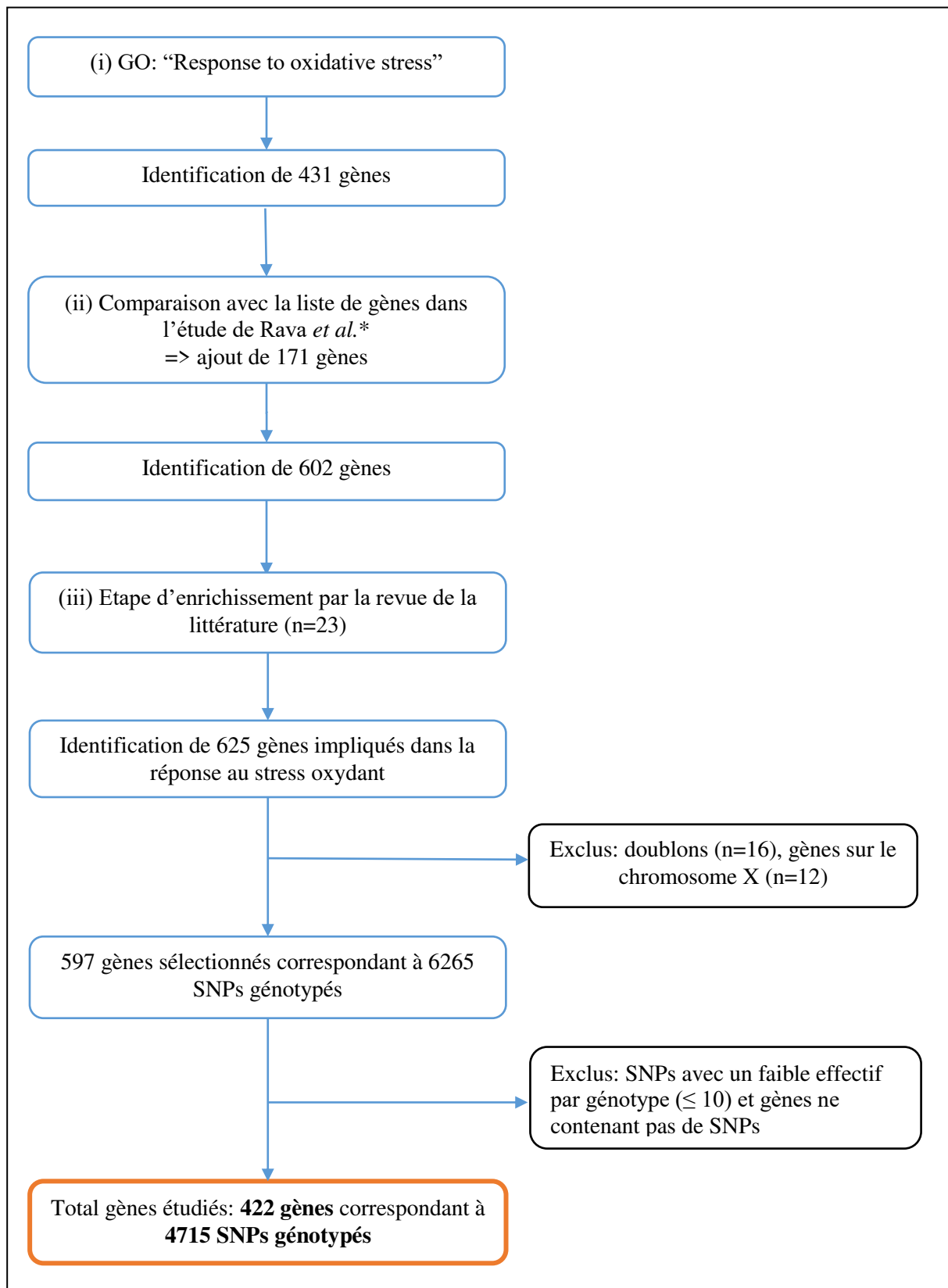
(i) La sélection initiale des gènes impliqués dans la réponse au stress oxydant a été effectuée le 19/11/2018 dans la base de données des annotations de Gene Ontology (GO) (<http://amigo.geneontology.org/amigo/landing>) à partir du mot clé « response to oxidative stress » (GO : 0006979). Cette première étape a permis l'identification de 431 gènes.

(ii) Dans un deuxième temps, la liste de gènes obtenus en (i) a été comparée à la liste des 411 gènes de l'étude de Rava *et al.* également sélectionnés en utilisant le même mot clé de GO : 0006979 en 2017 [24]. Cette étape a permis l'ajout de 171 gènes qui n'étaient pas sélectionnés à l'étape (i). A la fin de cette seconde étape, la liste comprenait 602 gènes.

(iii) La dernière étape consistait à effectuer une revue de la littérature des articles parus entre 2013 et 2019 en utilisant le moteur de recherche de données bibliographiques Pubmed avec la requête suivante : (oxidative stress[Title] AND gene[Title]) AND (« 2013/01/01[PDAT] : « 2019/01/20 »[PDAT]) AND hasabstract[text]. Cette étape a permis d'identifier 341 articles, parmi lesquels 52 ont été sélectionnés par deux experts (Mme Rachel Nadif et Mr Laurent Orsi) pour lecture sur la base du résumé. A partir de cette expertise, 23 gènes complémentaires correspondant à 14 articles ont été sélectionnés.

A la fin du processus de sélection, notre liste comprenait 625 gènes d'intérêt.

Après avoir exclus les doublons (gènes ayant plusieurs alias, n=16) et les gènes situés sur le chromosome X (n=12), 597 gènes correspondant à 6265 SNPs localisés sur ces gènes ont été sélectionnés (Figure 18).



**Figure 18 : Sélection des gènes impliqués dans la réponse au stress oxydant**

GO : base de données Gene Ontology (<http://amigo.geneontology.org/amigo/landing>; GO accession: 0006979, consultée le 19/11/18) ; \*[24].

### **Analyses d'association au niveau des SNPs**

Pour étudier les associations entre les SNPs localisés sur les gènes impliqués dans la réponse au stress oxydant et l'endotype d'asthme CA1 (vs NA1), des régressions logistiques ont été réalisées en utilisant le logiciel STATA v14.1 avec les options « cluster » et « variance robuste » pour prendre en compte la dépendance familiale entre les individus. Tous les modèles ont été ajustés sur les composantes principales tenant compte de la diversité de la population française. Après une première sélection des SNPs avec un nombre de participants (CA1 et NA1) par génotype supérieur ou égal à 10, un total de 4715 SNPs localisés sur 422 gènes impliqués dans la réponse au stress oxydant ont été sélectionnés pour les analyses (Figure 18).

Pour corriger sur les tests multiples, un seuil de significativité a été calculé par la correction de Bonferroni appliquée au Meff pour les 4715 SNPs. Le Meff correspond au nombre effectif de tests indépendants après avoir écarté la dépendance due au déséquilibre de liaison entre les SNPs, et a été estimé par la méthode de Li et Ji [279] à 2185. Ainsi, le seuil de significativité calculé était de  $p = 0,05 / 2185 = 2,3E-5$ .

Pour vérifier la robustesse de nos résultats par rapport à un possible biais lié à la faible taille de notre échantillon (pour certains SNPs, l'effectif attendu par génotype sous l'hypothèse nulle d'absence d'association était trop faible (<5) chez l'endotype CA1), différents tests spécifiques à des études avec de faibles effectifs ont été réalisés. Ces tests incluaient la régression logistique exacte et la régression logistique de Firth, une approche équivalente au test de vraisemblance pénalisée [280, 281]. La dépendance familiale ne pouvait être prise en compte avec la régression logistique exacte et la régression de Firth, les résultats de ces tests ont donc été comparés avec ceux obtenus par la régression logistique principale mais sans les

options « cluster » et « variance robuste ». L'approche semi-exacte par la méthode de Monte-Carlo [282] permettant de tenir compte de la dépendance familiale a aussi été appliquée pour vérifier la robustesse, bien que cette approche soit connue pour être conservatrice.

Pour les 10 premiers SNPs montrant les plus forts signaux d'association (10 tops SNPs) avec l'endotype CA1, nous avons également examiné les associations entre ces SNPs et les autres endotypes d'asthme CA2 et CA3 (vs NA1) afin de vérifier la spécificité de l'association avec l'endotype CA1. Pour rappel, l'endotype CA2 était caractérisé principalement par une concentration faible d'IgE totales, de la rhinite et une hyperréactivité bronchique et l'endotype CA3 était caractérisé principalement par un asthme de l'enfance, une sensibilisation allergique et une concentration élevée d'IgE totales [139]. Ces deux endotypes n'étaient pas associés significativement avec l'exposition professionnelle aux irritants.

### **Analyses d'associations au niveau des gènes**

Pour chacun des 422 gènes impliqués dans la réponse au stress oxydant, l'association avec l'endotype CA1 (vs NA1) a également été étudiée au niveau des gènes en utilisant le logiciel VEGAS (Versatile Gene-based Association Study) [283]. Le test d'association par gène utilisé était celui basé sur la meilleure statistique d'association (ou la valeur de p minimale) avec les SNPs localisés dans le gène en utilisant les résultats de la régression logistique. La corrélation entre ces statistiques due au déséquilibre de liaison entre les SNPs a été prise en compte en calculant une valeur de p empirique par des simulations de Monte-Carlo en utilisant l'échantillon de référence HapMap CEU. Les valeurs de p empiriques ont ensuite été corrigées pour les tests multiples (par le nombre de gènes testés) en utilisant la correction de Bonferroni (seuil de significativité  $p = 0,05 / 422 = 1,2E-4$ ).

## **Analyses avec les données imputées de la population de HapMap 2 CEU**

Les régions autour des SNPs montrant des associations significatives avec l'endotype CA1 (vs NA1) ont été plus finement étudiées en utilisant les données imputées de la population CEU de HapMap 2 couvrant 5 kilobases de chaque côté de chaque SNP associé.

## **Stratification sur l'exposition professionnelle aux irritants**

Pour les 10 tops SNPs associés à l'endotype CA1, des analyses séparées dans deux groupes contrastés ont été réalisées : chez les participants avec une exposition professionnelle élevée aux irritants et chez les participants non exposés. Il n'a pas été possible d'effectuer un test formel d'interaction en raison de la taille trop faible des échantillons après la stratification.

## **e-QTLs, annotations fonctionnelles et interactions entre produits chimiques et gène**

L'existence d'« expression quantitative trait loci » (e-QTL), c'est-à-dire d'étude d'association entre les SNPs (ou ses proxies,  $r^2 \geq 0,8$ ) associés à l'endotype CA1 et l'expression de gènes dans des tissus ou des fluides pulmonaires a été vérifiée. Pour cela le site internet dédié aux études d'e-QTL, Phenoscanner v2 (<http://www.phenoscanner.medschl.cam.ac.uk/>) qui combine les résultats de plusieurs bases de données d'e-QTL a été utilisé.

Les annotations fonctionnelles de ces SNPs ou leurs proxies ont été recherchées en utilisant l'outil HaploReg v4.1 (<https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>). HaploReg est un outil d'exploration des annotations des SNPs en matière de colocalisation sur des éléments de régulations actifs tels que les chromatines (marques de modification de l'histone du promoteur ou de l'enhancer), les sites hypersensibles à la DNase I et les facteurs de transcription ainsi que les sites de liaison des protéines.



De plus, les données sur les interactions entre les gènes, la maladie et des produits chimiques ont été extraites de la base de données de Comparative Toxicogenomics (CTD [284], MDI Biological Laboratory, Salisbury Cove, Maine, et NC State University, Raleigh, North Carolina. Word Wide Web (URL: <http://ctdbase.org/>) [Mai, 2019]). CTD est une base de données qui vise à faire mieux comprendre comment les expositions environnementales affectent la santé humaine.

## **B) Résultats**

### *Analyses d'association au niveau des SNPs*

Les résultats des associations entre les SNPs localisés sur les gènes impliqués dans la réponse au stress oxydant et l'endotype CA1 (vs NA1) sont montrés dans le Tableau 27.

Un SNP rs1419958 était associé à l'endotype CA1 atteignant le niveau de significativité après la correction pour les tests multiples ( $p = 2,2E-5$ ). Ce SNP était localisé sur le gène *Phosphotyrosine Interaction Domain containing 1 (PID1)* situé sur le chromosome 2q36.3. Deux autres SNPs, rs10490031 et rs2396616, localisés sur *PID1* étaient détectés comme deuxième et troisième signaux les plus forts. D'autres SNPs localisés dans quatre autres gènes : *ATP Binding Cassette Subfamily C Member 1 (ABCC1)*, *Phosphatidylinositol-3, 4, 5-Trisphosphate Dependent Rac Exchange Factor 1 (PREX1)*, *Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) Oxidase 4 (NOX4)* et *Platelet Derived Growth Factor D (PDGFD)* étaient également détectés parmi les 10 tops SNPs. Cependant, aucun de ces signaux n'atteignait le seuil statistique de significativité.

**Tableau 27 : Associations entre les 10 tops SNPs et l'endotype d'asthme CA1 (vs NA1).**

Chr	Gène	SNP	Position	N <sub>NA1/CA1</sub> *	MAF	OR (IC à 95%)	z	p
<b>2</b>	<b>PIDI</b>	<b>rs1419958</b>	<b>229168844</b>	<b>461/48</b>	<b>0,16</b>	<b>0,37 (0,23-0,58)</b>	<b>-4,24</b>	<b>2,2E-5</b>
2	PIDI	rs10490031	229116897	461/48	0,23	2,51 (1,58-4,00)	3,89	1,0E-4
2	PIDI	rs2396616	229156686	461/48	0,25	0,43 (0,27-0,67)	-3,66	2,6E-4
16	ABCC1	rs2299670	16127001	460/48	0,35	2,26 (1,40-3,62)	3,36	7,7E-4
20	PREX1	rs745086	48816978	461/48	0,47	2,10 (1,35-3,26)	3,30	9,6E-4
11	NOX4	rs10830263	89367161	461/48	0,27	1,89 (1,28-2,79)	3,21	1,3E-3
11	PDGFD	rs361315	104053848	461/48	0,34	2,04 (1,32-3,15)	3,21	1,3E-3
11	PDGFD	rs361262	104065741	461/48	0,35	0,50 (0,32-0,77)	-3,13	1,7E-3
11	PDGFD	rs361277	104085549	461/48	0,35	2,02 (1,30-3,13)	3,12	1,8E-3
11	PDGFD	rs361279	104086900	461/48	0,35	0,50 (0,32-0,77)	-3,12	1,8E-3

Résultats significatifs en gras. Seuil de significativité de la correction de Bonferroni  $p < 2,30 \text{ E-}5$ .

Chr : chromosome; SNP : polymorphisme d'un seul nucléotide ; OR: odds ratio; IC : intervalle de confiance ; MAF : fréquence d'allèle mineur estimée à partir du panel de référence 1000G (population européenne).

\*Les individus non génotypés ou les SNPs qui ne passaient pas le contrôle qualité ont été exclus.

Ces résultats étaient très proches de ceux obtenus par la régression logistique exacte, par la régression logistique de Firth ou par l'approche semi-exacte par la méthode de Monte-Carlo, confirmant leur robustesse (Tableau 28).

Aucun des 10 tops SNPs associés à CA1 n'était associé avec les endotypes CA2 et CA3, en particulier, le top SNP rs1419958 significativement associé à CA1 ( $p = 2,2\text{E-}5$ ) ne montrait aucun signal d'association avec CA2 ( $p = 0,23$ ) ni CA3 ( $p = 0,53$ ) (Tableaux 29 et 30).

**Tableau 28 : Etude de robustesse pour les 3 tops SNPs localisés sur le gène *PID1*.**

Modèles statistiques	rs1419958			rs10490031			rs2396616		
	beta (se)	Z	p	beta (se)	Z	p	beta (se)	Z	p
<i>Analyse principale</i>									
Régression logistique avec l'option cluster et variance robuste	-1,0077 (0,2375)	-4,242	2,210E-05	0,9215 (0,2370)	3,888	1,012E-04	-0,8506 (0,2326)	-3,657	2,556E-04
Régression logistique*	-1,0078 (0,2491)	-4,046	5,210E-05	0,9215 (0,2404)	3,833	1,266E-04	-0,8505 (0,2398)	-3,546	3,907E-04
<i>Tests de robustesse</i>									
Régression logistique de Firth*	-0,9989 (0,2465)	-4,052	5,070E-05	0,9115 (0,2376)	3,836	1,250E-04	-0,8401 (0,2369)	-3,547	3,900E-04
Régression logistique exacte*	-1,0012 (0,2474)		7,680E-05	0,9311 (0,2398)		1,124E-04	-0,8543 (0,2392)		3,078E-04
Approche semi-exacte par la méthode de Monte Carlo§			3,0E-05			1,1E-04			2,6E-04

\*sans les options cluster et variance robuste ; §3 millions de permutations.

**Tableau 29 : Association entre les 10 tops SNPs et l'endotype d'asthme CA2 (vs NA1).**

SNP	Gène	Chromosome	Position	MAF	OR (IC à 95%)	z	p
rs1419958	<i>PIDI</i>	2	229168844	0,16	1,24 (0,87-1,80)	1,20	0,23
rs2396616	<i>PIDI</i>	2	229116897	0,23	1,31 (0,96-1,79)	1,67	0,09
rs10490031	<i>PIDI</i>	2	229156686	0,25	0,85 (0,61-1,17)	-1,02	0,31
rs2299670	<i>ABCC1</i>	16	16127001	0,35	1,32 (1,02-1,71)	2,10	0,04
rs745086	<i>PREX1</i>	20	48816978	0,47	1,07 (0,84-1,37)	0,54	0,59
rs10830263	<i>NOX4</i>	11	89367161	0,27	1,08 (0,83-1,40)	0,56	0,58
rs361277	<i>PDGFD</i>	11	104053848	0,34	0,78 (0,60-1,02)	-1,85	0,06
rs361279	<i>PDGFD</i>	11	104065741	0,35	1,28 (0,98-1,66)	1,85	0,06
rs361315	<i>PDGFD</i>	11	104085549	0,35	0,81 (0,62-1,04)	-1,63	0,10
rs361262	<i>PDGFD</i>	11	104086900	0,35	1,23 (0,95-1,59)	1,58	0,11

Chr : chromosome ; SNP : polymorphisme d'un seul nucléotide ; OR : odds ratio ; IC : intervalle de confiance ; MAF : fréquence d'allèle mineur estimée à partir du panel de référence 1000G (population européenne).

**Tableau 30 : Association entre les 10 tops SNPs et l'endotype d'asthme CA3 (vs NA1).**

SNP	Gène	Chromosome	Position	MAF	OR (IC à 95%)	z	p
rs1419958	<i>PIDI</i>	2	229168844	0,16	0,87 (0,57-1,33)	-0,64	0,53
rs10490031	<i>PIDI</i>	2	229116897	0,23	1,28 (0,91-1,81)	1,41	0,16
rs2396616	<i>PIDI</i>	2	229156686	0,25	1,09 (0,75-1,57)	0,45	0,65
rs2299670	<i>ABCC1</i>	16	16127001	0,35	1,08 (0,79-1,46)	0,47	0,64
rs745086	<i>PREX1</i>	20	48816978	0,47	1,01 (0,73-1,39)	0,05	0,96
rs10830263	<i>NOX4</i>	11	89367161	0,27	1,21 (0,86-1,70)	1,10	0,27
rs361315	<i>PDGFD</i>	11	104053848	0,34	1,00 (0,74-1,36)	0,02	0,98
rs361262	<i>PDGFD</i>	11	104065741	0,35	1,03 (0,76-1,40)	0,20	0,84
rs361277	<i>PDGFD</i>	11	104085549	0,35	0,93 (0,68-1,28)	-0,43	0,67
rs361279	<i>PDGFD</i>	11	104086900	0,35	1,07 (0,78-1,47)	0,43	0,67

Chr: chromosome; SNP : polymorphisme d'un seul nucléotide ; OR: odds ratio; IC : intervalle de confiance ; MAF : fréquence d'allèle mineur estimée à partir du panel de référence 1000G (population européenne).

### *Analyses d'association au niveau des gènes*

Les résultats des tests basés sur les gènes sont présentés dans le Tableau 31. *PIDI*, le gène sur lequel se situait le top SNP rs1419958, significativement associé à l'endotype CA1, était aussi le gène le plus associé à cet endotype (vs NA1) bien que le résultat ( $p = 9,8E-4$ ) n'atteignît pas le seuil de significativité ( $p = 1,2E-4$ ).

**Tableau 31 : Les tops gènes estimés par les tests de VEGAS.**

Chr	Gène	Nombre de SNPs	Test	p
<b>2</b>	<b><i>PIDI</i></b>	<b>60</b>	<b>18,0</b>	<b>9,80E-04</b>
<b>11</b>	<b><i>NOX4</i></b>	<b>12</b>	<b>10,3</b>	<b>0,011</b>
19	<i>TMEM161A</i>	3	8,0	0,012
<b>20</b>	<b><i>PREX1</i></b>	<b>32</b>	<b>10,9</b>	<b>0,018</b>
11	<i>CAT</i>	8	7,9	0,025
19	<i>PPP5C</i>	6	7,7	0,027
11	<i>LDHA</i>	3	6,0	0,028
<b>16</b>	<b><i>ABCCI</i></b>	<b>70</b>	<b>11,3</b>	<b>0,028</b>
1	<i>CAPN2</i>	9	7,4	0,039
9	<i>NR4A3</i>	3	5,8	0,040
15	<i>MAP2K1</i>	6	5,8	0,041
<b>11</b>	<b><i>PDGFD</i></b>	<b>50</b>	<b>10,3</b>	<b>0,043</b>
1	<i>MTF1</i>	2	5,2	0,043
22	<i>MGAT3</i>	7	6,9	0,045

En gras : tops gènes associés à l'endotype CA1. Chr: chromosome; SNP : polymorphisme d'un seul nucléotide. Seuil de significativité de la correction de Bonferroni  $p < 1,2E-4$ .

### *Analyses avec les données imputées de HapMap 2 CEU*

Les résultats des analyses avec les données imputées sont montrés dans le Tableau 32. Les résultats des associations entre les SNPs imputés et l'endotype CA1 confirmaient ceux de l'association avec le SNP génotypé rs1419958, en montrant une légère amélioration du signal d'association ( $p = 1,1E-5$  vs  $p = 2,2E-5$ ). D'autres signaux forts d'association pour des SNPs imputés proches du rs1419958 étaient également observés.

**Tableau 32 : Associations entre les SNPs imputés autour du SNP rs1419958 localisé sur le gène *PIDI* et l'endotype d'asthme CA1 (vs NA1).**

SNP	MAF	OR	IC à 95%	z	p
rs4973171	0,49	0,72	(0,48-1,10)	-1,51	0,13
rs10171191	0,49	1,38	(0,91-2,10)	1,51	0,13
rs10171051	0,24	0,73	(0,43-1,25)	-1,16	0,25
rs10183571	0,49	1,38	(0,91-2,10)	1,51	0,13
<b>rs2396617</b>	<b>0,16</b>	<b>0,35</b>	<b>(0,22-0,56)</b>	<b>-4,40</b>	<b>1,10E-05</b>
<b>rs2396618</b>	<b>0,16</b>	<b>0,35</b>	<b>(0,22-0,56)</b>	<b>-4,40</b>	<b>1,10E-05</b>
rs10804349	0,11	1,00	(0,57-1,77)	0,01	1,00
<b>rs1419958</b>	<b>0,16</b>	<b>0,35</b>	<b>(0,22-0,56)</b>	<b>-4,40</b>	<b>1,10E-05</b>
rs1419959	0,40	0,62	(0,41-0,94)	-2,26	0,02
rs12477036	0,12	1,54	(0,75-3,18)	1,18	0,24
rs12694800	0,4	1,61	(1,07-2,44)	2,27	0,02
rs1419960	0,49	1,38	(0,91-2,10)	1,51	0,13
rs12470314	0,12	1,54	(0,75-3,18)	1,17	0,24
rs13035964	0,06	0,21	(0,03-1,48)	-1,57	0,12
rs17676334	0,11	1,53	(0,74-3,17)	1,14	0,26
rs1362256	0,44	0,63	(0,42-0,95)	-2,18	0,03

Résultats significatifs en gras.

Chr: chromosome; SNP : polymorphisme d'un seul nucléotide ; OR: odds ratio; IC : intervalle de confiance ; MAF : fréquence d'allèle mineur estimée à partir du panel de référence 1000G (population européenne).

### ***Stratification sur l'exposition professionnelle aux irritants***

En stratifiant sur l'exposition professionnelle aux irritants (non exposé/exposition élevée), l'association entre le SNP rs1419958 localisé sur *PIDI* et l'endotype CA1 était statistiquement significative uniquement chez les participants non exposés avec une augmentation non négligeable du niveau de significativité ( $p = 1,05E-6$  au lieu de  $2,2E-5$  chez tous les participants, Tableau 33). Chez les participants avec une exposition élevée aux irritants, le SNP rs1419958 ne montrait aucune indication d'association avec l'endotype CA1 ( $p = 0,91$ ).

**Tableau 33 : Associations stratifiées sur l'exposition professionnelle aux irritants entre les 10 tops SNPs et l'endotype d'asthme CA1 (vs NA1).**

Chr	Gène	SNP	Position	MAF	Participants non exposés			Participants avec une exposition élevée		
					OR (IC à 95%)	z	p	OR (IC à 95%)	z	p
2	<i>PID1</i>	rs1419958	230033560	0,16	<b>0,24 (0,14-0,43)</b>	<b>-4,88</b>	<b>1,06E-06</b>	1,12 (0,17-7,42)	0,11	0,91
2	<i>PID1</i>	rs10490031	229981613	0,23	3,23 (1,85-5,63)	4,14	3,43E-05	0,61 (0,11-3,25)	-0,58	0,56
2	<i>PID1</i>	rs2396616	230021402	0,25	0,37 (0,21-0,65)	-3,52	4,31E-04	0,26 (0,02-3,83)	-0,98	0,33
16	<i>ABCC1</i>	rs2299670	16220858	0,35	2,05 (1,17-3,58)	2,52	0,01	7,35 (0,74-72,7)	1,71	0,09
20	<i>PREX1</i>	rs745086	47433515	0,47	1,95 (1,11-3,41)	2,33	0,02	2,26 (0,48-10,4)	1,04	0,30
11	<i>NOX4</i>	rs10830263	89100329	0,27	1,61 (0,98-2,67)	1,87	0,06	1,15 (0,23-5,66)	0,17	0,86
11	<i>PDGFD</i>	rs361315	103924576	0,34	2,13 (1,19-3,80)	2,55	0,01	2,64 (0,99-7,05)	1,93	0,05
11	<i>PDGFD</i>	rs361262	103936469	0,35	0,47 (0,26-0,85)	-2,50	0,01	0,38 (0,14-1,01)	-1,93	0,05
11	<i>PDGFD</i>	rs361277	103956277	0,35	2,12 (1,17-3,84)	2,48	0,01	2,64 (0,99-7,05)	1,93	0,05
11	<i>PDGFD</i>	rs361279	103957628	0,35	0,47 (0,26-0,85)	-2,48	0,01	0,38 (0,14-1,01)	-1,93	0,05

Résultats significatifs en gras.

Chr: chromosome; SNP : polymorphisme d'un seul nucléotide ; OR: odds ratio; IC : intervalle de confiance ; MAF : fréquence d'allèle mineur estimée à partir du panel de référence 1000G (population européenne).

Exposition professionnelle aux irritants estimée par la matrice emplois-expositions spécifique pour l'asthme OAsJEM [251].

### ***e-QTLs, annotations fonctionnelles et interactions entre produits chimiques et gènes***

En utilisant le site Phenoscanner v2, aucun e-QTL n'était trouvée pour les trois tops SNPs et leurs proxies localisés sur le gène *PIDI* ni pour les autres tops SNPs dans aucun tissu pulmonaire. En utilisant l'outil dédié aux annotations fonctionnelles HaploReg v4.1, le SNP rs1419958 sur *PIDI* était cartographié sur les marques des éléments de régulation actifs qui incluent les modificateurs d'histones des promoteurs dans les tissus pulmonaires fœtaux (Tableau 34). De plus, les 3 SNPs rs1419958, rs10490031 et rs2396616 sur *PIDI* ou leurs proxies sont localisés dans des motifs de régulations dont l'altération peut modifier la fixation du facteur de transcription NF-kappa B et de l'Histone Deacetylase 2 (HDAC2).

Dans la base de données CTD, certains composés chimiques de la famille des aldéhydes tels que le butyraldéhyde ou le propionaldéhyde ainsi que des composés chlorés tels que le tetrachlorure de carbone, qui ont des propriétés irritantes des voies respiratoires, étaient répertoriés comme pouvant modifier l'expression des ARN messenger du gène *PIDI* (Tableau 35). Il est intéressant de noter que les substances de la famille des aldéhydes étaient répertoriées comme pouvant altérer l'expression de l'ARN messenger de *PIDI* dans les cellules épithéliales alvéolaires [285, 286]. Des expositions environnementales avec des propriétés irritantes telles que les émissions de véhicules modifiaient également la méthylation de *PIDI*.



**Tableau 34 : Eléments de régulation des trois tops SNPs (ou leurs proxies) localisés sur le gène *PID1* associés à l'endotype CA1.**

Chr	Gene	pos (hg19)	r <sup>2</sup>	D'	SNP	Marques d'histone Enhancer/Promoteur	Liaison des protéines	Motifs de régulation
2		230030822	0,96	0,99	rs72617162			Osf2_2
2		230031022	0,96	0,99	rs147700606			EWSR1-FLI1, GR_disc6
2	<i>PID1</i>	230031593	0,96	0,99	rs2396617			Evi-1_2
2		230032055	0,96	0,99	rs2396618			AIRE_1
2		230033560	1	1	<b>rs1419958</b>	Poumon foetal (H3K4me3_Pro)		COMP1, SIX5, SREBP
2	<i>PID1</i>	229116897	1	1	<b>rs10490031</b>			<b>HDAC2</b> , TCF4
2		229150560	0,82	0,93	rs7569303		FOXA1	STAT, p300
2		229156450	0,88	1	rs2396615			PRDM1
2		229156686	1	1	<b>rs2396616</b>			NRSF, p300
2		229157051	0,88	1	rs35419420			Pou1f1
2		229158359	0,88	1	rs13030636			PU.1
2		229159213	0,88	1	rs12463675			ZBRK1
2	<i>PID1</i>	229159594	0,88	1	rs12463823			Nanog, Nkx2, Pou2f2, Pou3f3, Pou5f1, TATA, Zfp740
2		229159794	0,9	1	rs17614196			<b>HDAC2</b> , Irf, p300, p53
2		229161497	0,88	1	rs17614232			Foxp1, Mrg_2, <b>NF-kappaB</b> , ZEB1
2		229161548	0,88	1	rs17676274			ATF3, E2F, Foxa, Jundm2, Maf, STAT
2		229162064	0,88	1	rs1362255			Pou3f3
2		229162503	0,88	0,99	rs6745401			Smad3
2		229162869	0,99	1	rs1419954			AFP1, AIRE_2, Evi-1, Foxa, Foxf1, Foxj1, Foxj2, Foxl1, Foxo, Foxq1, <b>HDAC2</b> , SIX5, Sox, Zfp105, p300

En gras : les trois tops SNPs sur *PID1* associés à l'endotype CA1.

Chr : chromosome ; SNP : polymorphisme nucléotidique.

**Tableau 35 : Produits chimiques extraits de la base de données CTD en interaction avec le gène *PID1*.**

Produits chimiques	Interactions	Organisme	Références
Aldéhydes	Les aldéhydes augmentent l'expression de l'ARNm de <i>PID1</i>	Homo sapiens	Song MK, <i>et al.</i> [286]
Butyraldéhyde	Le butyraldéhyde augmente l'expression de l'ARNm de <i>PID1</i>	Homo sapiens	Song MK, <i>et al.</i> [285]
Propionaldéhyde	Le propionaldéhyde augmente l'expression de l'ARNm de <i>PID1</i>	Homo sapiens	Song MK, <i>et al.</i> [285]
Tétrachlorure de carbone	Le tétrachlorure de carbone augmente l'expression de l'ARNm de <i>PID1</i>	Rattus norvegicus	Zhang H, <i>et al.</i> [287]
2-méthoxyéthanol ou methyl cellosolve	Le 2-méthoxyéthanol augmente l'expression de l'ARNm de <i>PID1</i>	Rattus norvegicus	Yuan X, <i>et al.</i> [288]
Acides Phtaliques	Les acides phtaliques augmentent l'expression de l'ARNm de <i>PID1</i>	Rattus norvegicus	Yuan X, <i>et al.</i> [288]
Pentanal	Le pentanal augmente l'expression de l'ARNm de <i>PID1</i>	Homo sapiens	Song MK, <i>et al.</i> [285]
Ethanol	L'éthanol affecte l'expression et l'épissage de l'ARNm de <i>PID1</i>	Mus musculus	O'Brien MA, <i>et al.</i> [289]
Emissions de véhicules	Les émissions de véhicules augmentent la méthylation de <i>PID1</i>	Homo sapiens	Tachibana K, <i>et al.</i> [290]

Dans ce tableau sont indiqués les produits chimiques ayant des propriétés irritantes des voies respiratoires et les expositions environnementales contenant des composés à propriété irritante (émissions des véhicules).

CTD: Comparative Toxicogenomics Database (URL : <http://ctdbase.org/>) [284].

## C) Discussion

Dans cette étude, nous avons examiné les associations entre des gènes impliqués dans la réponse au stress oxydant et l'endotype d'asthme CA1 (vs NA1). Nous avons identifié un SNP rs1419958 localisé sur le gène *PIDI* montrant un signal d'association avec l'endotype CA1 et cette association était spécifique à cet endotype.

A notre connaissance, aucune étude n'a montré une association entre *PIDI* et l'asthme. Nos résultats sont cohérents avec ceux des études portant sur d'autres caractéristiques respiratoires. En effet, une méta-analyse de GWAS basée sur une population européenne issue du consortium CHARGE montrait que le gène *PIDI* était associé significativement à la fonction ventilatoire évaluée par le rapport VEMS/CVF [291]. Une étude dans une population avec un asthme modéré à sévère issue du programme SARP montrait une association entre *PIDI* et la fonction ventilatoire évaluée par la CVF [292]. De plus, une étude dans une cohorte coréenne montrait une association entre *PIDI* et la bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) [293]. Par ailleurs, une étude sur l'effet du tabac sur l'expression des gènes dans le sang périphérique de patients avec une BPCO montrait que l'expression de *PIDI* était significativement différente entre les patients fumeurs et non fumeurs [294]. Bien que les SNPs sur *PIDI* identifiés dans les résultats de ces études fussent différents du SNP que nous avons détecté, nos résultats sont cohérents avec ces derniers car une fonction ventilatoire basse était l'une des caractéristiques prédominantes de l'endotype CA1. De plus, le gène *PIDI* a pour fonction moléculaire principale d'accroître la prolifération des préadipocytes sans affecter la différenciation adipocytaire, et une régulation positive de ce gène dans la graisse de participants obèses était montrée [295]. De façon cohérente, l'endotype CA1 était également caractérisé par un indice de masse corporelle élevé.

L'une des limites de notre étude est le manque de puissance lié aux faibles effectifs en particulier pour l'endotype CA1. Néanmoins, nous avons vérifié la robustesse de nos résultats

par des tests statistiques adaptés aux études avec de faibles effectifs et les résultats de ces tests étaient très proches de ceux observés dans nos analyses principales.

Les SNPs situés à une certaine distance en amont et en aval du gène sont souvent pris en compte mais le choix de cette distance n'est ni évident ni consensuel. Dans notre étude, pour que le nombre de tests reste raisonnable et ainsi garder une puissance statistique plus importante, seuls les SNPs situés dans les limites des gènes (0kb) étaient examinés. Cependant, ce choix pourrait avoir comme conséquence l'exclusion de SNPs à une distance plus large des gènes étudiés qui pourraient être en déséquilibre de liaison avec le SNP associé à l'endotype CA1 et localisés sur des gènes impliqués dans la régulation de *PIDI*. Néanmoins, avec l'étude des SNPs imputés, la densité des SNPs était augmentée et les résultats des analyses avec les données génotypées étaient confirmés dans les analyses avec les données imputées.

Après stratification sur l'exposition professionnelle aux irritants, la valeur de p de l'association entre le SNP rs1419958 localisé sur *PIDI* et l'endotype CA1 était de l'ordre de  $10^{-6}$  chez les participants non exposés aux irritants alors qu'elle était de  $10^{-5}$  chez tous les participants, et ce malgré une taille de l'échantillon diminuée. Aucun signal d'association n'était observé chez les participants avec une exposition professionnelle élevée aux irritants. Ces résultats suggèrent une interaction entre le SNP rs1419958 et l'exposition professionnelle aux irritants sur l'endotype d'asthme CA1. Un test d'interaction formel n'a pu être réalisé, et ces résultats nécessitent d'être répliqués. Malheureusement, trouver un échantillon de réplification était difficile voire impossible car, à notre connaissance, aucune étude n'est disponible avec toutes les variables nécessaires à l'identification des endotypes d'asthme et celles de l'exposition professionnelle aux irritants.

Cette étude est la première à avoir montré une association entre le SNP rs1419958 localisé sur le gène *PIDI* impliqué dans la réponse au stress oxydant et un endotype d'asthme de l'adulte spécifique avec une possible interaction entre ce SNP et l'exposition professionnelle aux

irritants. Ces résultats soulignent l'intérêt d'étudier des endotypes d'asthme pour mieux prendre en compte son hétérogénéité dans les études génétiques permettant ainsi l'identification de nouveaux gènes liés à cette maladie. Nos résultats montrent également l'intérêt de l'approche par « pathways », une approche intermédiaire entre les études gène-candidat et les études pangénomiques, qui permet de sélectionner un grand nombre de gènes partageant une voie et des fonctions biologiques spécifiques impliquées dans la maladie étudiée, aidant ainsi à mieux comprendre les mécanismes biologiques sous-jacents à cette maladie.

Les tops SNPs localisés sur le gène *PIDI* que nous avons détectés étaient cartographiés sur des marques d'éléments de régulation actifs au niveau des sites d'initiation de la transcription. Ces SNPs étaient également situés sur des motifs de régulation altérés de NF-kappa B, un facteur de transcription ubiquitaire impliqué dans le mécanisme par lequel les oxydants affectent la physiopathologie de l'asthme [296] et de l'Histone Deacetylase 2 (HDAC2) dont l'activité est régulée par le stress oxydant. De plus, des composés chimiques de la famille des aldéhydes qui sont des produits chimiques ayant des propriétés irritantes des voies respiratoires, étaient associés à une régulation de l'expression d'ARNm de *PIDI* dans les cellules épithéliales alvéolaires [285, 286].

Des études dans des populations de travailleurs répertoriées dans différentes revues de la littérature montraient que les gènes *Glutathion S-Transferase GSTM1* et *GSTP1* ainsi que le gène *N-acetyltransferase NAT1* étaient associés à un asthme induit par les diisocyanates, des agents de petit poids moléculaire [147, 195, 216, 217]. Ces trois gènes sont impliqués dans le stress oxydant, en particulier, les *GST* utilisent les produits du stress oxydant comme substrats et sont donc importants dans la protection des cellules contre les espèces réactives de l'oxygène [297]. De même, l'étude de Rava *et al.* sur laquelle nous nous sommes basés pour la méthode de sélection des gènes impliqués dans la réponse au stress oxydant a identifié les

cinq gènes suivants : *Phospholipase A2 Group IVA (PLA2G4A)*, *Phospholipase A2 Receptor 1 (PLA2R1)*, *RELA Proto-Oncogene, NF-KB Subunit (RELA)*, *Protein Kinase D1 (PRKD1)* et *Protein Kinase C Alpha (PRKCA)* en interaction avec l'exposition professionnelle aux produits de nettoyage dans l'asthme de l'adulte [24]. Bien que tous ces gènes soient présents dans la liste de gènes que nous avons sélectionnés, nous n'avons pas observé d'association significative entre ces gènes et l'endotype d'asthme CA1. Dans l'étude de Rava *et al.*, l'exposition professionnelle était estimée par l'ancienne matrice emplois-expositions [252] et comme discuté dans le chapitre précédent, les produits de nettoyage et les diisocyanates peuvent être des sensibilisants ou des irritants. De plus, l'étude de Rava *et al.* était réalisée dans trois cohortes dont EGEA et portait sur l'asthme de l'adulte en général et pas sur des endotypes spécifiques.

En conclusion, cette étude a identifié un nouveau gène *PIDI* impliqué dans la réponse au stress oxydant qui serait associé, avec une possible interaction avec l'exposition professionnelle aux irritants, à un endotype d'asthme caractérisé principalement par un asthme de l'adulte, une fonction ventilatoire basse, des symptômes respiratoires, des dommages liés au stress oxydant et de l'inflammation. Nos résultats confortent l'hypothèse d'un rôle du stress oxydant dans l'asthme de l'adulte lié à une exposition professionnelle aux irritants et plus généralement, soulignent l'intérêt des études d'interaction gène-environnement sur les endotypes d'asthme pour identifier de nouveaux gènes et mieux comprendre les mécanismes biologiques de l'asthme induit par des expositions professionnelles spécifiques.

## VI DISCUSSION GENERALE DES RESULTATS

---

### VI.1 Synthèse des principaux résultats

Cette thèse avait pour objectif général de mieux comprendre par quels mécanismes physiopathologiques l'exposition professionnelle aux irritants affecte la santé respiratoire avec comme hypothèse spécifique un rôle de la voie biologique du stress oxydant. La première partie de la thèse visait à étudier d'une part l'association entre différents marqueurs biologiques liés au stress oxydant et plusieurs caractéristiques de l'asthme, et d'autre part, l'association entre les marqueurs biologiques liés au stress oxydant et l'exposition professionnelle aux irritants. Cette première partie a permis de déterminer que, parmi les cinq marqueurs biologiques étudiés, les produits d'oxydation fluorescents (POFs), un marqueur de dommages liés au stress oxydant, était un marqueur pertinent pour aider à mieux comprendre le rôle de cette voie biologique dans l'asthme lié à une exposition professionnelle aux irritants. En effet, les POFs étaient associés d'une part à un asthme mal contrôlé, aux crises d'asthme, à une prise de traitements pour asthme, à une fonction ventilatoire basse et à un asthme neutrophilique, et d'autre part à l'exposition professionnelle aux irritants.

La deuxième partie de la thèse visait à étudier l'association entre l'exposition professionnelle aux irritants et des endotypes d'asthme construits par une approche non supervisée à partir de caractéristiques cliniques et fonctionnelles de l'asthme et de marqueurs biologiques dont ceux liés au stress oxydant (POFs) et à l'inflammation (éosinophiles, neutrophiles). Cette deuxième partie a permis de déterminer que l'exposition professionnelle aux irritants était associée à un endotype d'asthme spécifique CA1 caractérisé par un asthme de l'adulte, une fonction ventilatoire basse, des symptômes respiratoires, une concentration élevée en POFs et un nombre élevé de neutrophiles sanguins.

La troisième partie de la thèse visait à étudier l'association entre des gènes impliqués dans la réponse au stress oxydant et l'endotype d'asthme CA1 associé aux irritants identifié dans la partie précédente. Elle visait également à déterminer si cette association était similaire chez les participants avec une exposition élevée aux irritants et chez les participants non exposés. Cette troisième partie de la thèse a permis d'identifier le gène *Phosphotyrosine Interaction Domain Containing 1 (PIDI)* comme étant associé à l'endotype d'asthme spécifique CA1 avec une possible interaction avec l'exposition professionnelle aux irritants.

En conclusion, l'ensemble de ces résultats conforte l'hypothèse que la voie biologique du stress oxydant est un des mécanismes biologiques sous-jacents à la relation entre l'exposition professionnelle aux irritants et l'asthme de l'adulte. Ces résultats suggèrent également que l'exposition professionnelle aux irritants serait associée à un endotype d'asthme particulier.

## **VI.2 Discussion générale**

- Forces et limites liées à l'étude EGEA

A notre connaissance, l'étude EGEA est la seule étude épidémiologique sur l'asthme dans laquelle il était possible de réaliser l'ensemble des objectifs visé par ce projet de thèse. En effet, EGEA dispose d'informations précises et détaillées sur les caractéristiques cliniques, fonctionnelles et biologiques de l'asthme permettant une bonne caractérisation phénotypique des participants, mais également de données génétiques ainsi que l'histoire professionnelle des participants. Les participants asthmatiques d'EGEA ont été recrutés dans des services de pneumologie des hôpitaux situés dans les cinq villes où l'étude était réalisée [225]. Une procédure d'inclusion minutieuse des participants a été mise en place en utilisant des questionnaires standardisés et validés permettant de recruter des "vrais" asthmatiques et



limitant ainsi le biais de classement par rapport à l'asthme. Les autres participants étaient les membres de la famille des cas asthmatiques recrutés sur la base des réponses aux questions sur le diagnostic de l'asthme [225]. L'ensemble de ces procédures a conduit à l'obtention d'un groupe d'asthmatiques avec une grande variabilité d'expression de la maladie.

La caractérisation phénotypique détaillée incluait diverses caractéristiques de l'asthme qui avaient rarement été étudiées en relation avec des marqueurs biologiques liés au stress oxydant. EGEA dispose d'importantes données sur les marqueurs biologiques avec des dosages réalisés dans différents compartiments biologiques : érythrocytes pour les marqueurs de réponse, condensat de l'air expiré pour les 8-isoprostanes et plasma pour les POFs, permettant d'étudier la voie biologique du stress oxydant en amont et en aval dans le continuum entre l'exposition professionnelle aux irritants et l'asthme.

La taille modérée de la population d'EGEA et par conséquent le manque de puissance statistique associé constitue une limite des différentes analyses statistiques réalisées dans cette thèse. En effet, il est difficile de recueillir autant d'informations précises et détaillées dans de vastes populations. Ainsi, il a été difficile d'étudier les associations dans des sous-groupes de population tels que les endotypes d'asthme mais également les associations entre les marqueurs biologiques et les sous-groupes d'exposition ou même les expositions spécifiques. Il a également été difficile d'étudier les associations génétiques qui, compte tenu du nombre de tests à effectuer, nécessitaient particulièrement des effectifs élevés pour atteindre une puissance statistique satisfaisante. De manière générale, des données manquantes étaient observées dans chacune des analyses, en particulier pour les marqueurs biologiques et les caractéristiques cliniques de l'asthme, nécessitant d'exclure un nombre non négligeable de participants ( $n \sim 200$ ) et réduisant encore la puissance statistique. Néanmoins, dans chacune des analyses basées sur les données d'EGEA2 effectuées dans cette thèse, les caractéristiques cliniques et biologiques des participants inclus ont été comparées à celles des participants

exclus et aucune différence significative n'a été observée. De plus, l'étude EGEA ne révélait aucun biais de perdu de vue lié au statut de l'asthme et aux caractéristiques liés à l'asthme, et les adultes asthmatiques d'EGEA2 inclus dans les analyses de la thèse sont représentatifs des cas d'asthme et de leurs apparentés au premier degré atteints d'asthme issus de la population initiale d'EGEA [225]. Bien que l'étude puisse donc présenter des problèmes de puissance, il est rare d'avoir de telles données pour autant de participants (environ 1000 participants).

- Marqueurs biologiques

Les marqueurs biologiques étudiés dans cette thèse étaient associés à des caractéristiques d'asthme différentes. En effet, les POFs étaient associés à un asthme de l'adulte, un asthme mal contrôlé, des crises d'asthme et une fonction ventilatoire basse tandis que les 8-isoprostanes étaient associés à un asthme vie et à un asthme ayant débuté dans l'enfance. Ces résultats sont cohérents avec le caractère hétérogène de cette maladie.

Des facteurs liés à la mesure des marqueurs biologiques tels que le délai de conservation, la variabilité inter-plaques ou la situation géographique du centre d'examen pourraient influencer les activités enzymatiques ou les concentrations des marqueurs biologiques. Nous avons effectué des analyses préliminaires pour étudier les associations entre ces facteurs et les marqueurs biologiques et nos résultats montraient que ces facteurs n'affectaient pas la concentration ou l'activité des marqueurs. Ces résultats confortent la stabilité des marqueurs biologiques étudiés, comme attendu dans la littérature [127, 137].

Par ailleurs, le fait d'être à jeun et le taux de cholestérol sont deux facteurs connus comme étant associés aux POFs [136, 137]. Cependant, ces deux facteurs n'ont pas pu être pris en compte dans nos analyses car un jeûne n'était pas un critère requis le jour des examens cliniques et biologiques réalisés dans EGEA et le cholestérol n'était pas mesuré dans cette cohorte. Néanmoins, de manière générale, la mesure des POFs présente un grand intérêt en épidémiologie car leur concentration a été associée à différentes maladies chroniques [133,

136, 138]. En ce qui concerne l'asthme, à notre connaissance, à l'exception des travaux réalisés dans cette thèse, une seule analyse longitudinale réalisée très récemment dans EGEA par Havet *et al.* a étudié l'association entre les POFs et l'asthme [202]. Les auteurs ont montré qu'une concentration élevée en POFs à EGEA2 était associée à un risque d'asthme actuel persistant entre EGEA2 et EGEA3, ce que nous n'avons pas observé dans notre analyse. Cependant, dans l'étude de Havet *et al.*, l'asthme actuel était défini par une prise de traitements pour l'asthme ou par une survenue de crises d'asthme entre EGEA2 et EGEA3 tandis que dans cette thèse la définition de l'asthme actuel incluait les symptômes respiratoires en plus des traitements et des crises d'asthme. De plus, la population étudiée dans l'étude de Havet *et al.* était différente de la nôtre, car seuls les participants avec des données sur l'exposition à la pollution atmosphérique étaient inclus.

- Endotypes d'asthme

L'approche non supervisée intégrant de nombreuses caractéristiques de l'asthme permet d'identifier des endotypes qui ne sont pas toujours détectables avec les approches *a priori* [298], et d'affiner la caractérisation de l'asthme [95, 299, 300] tout en considérant l'hétérogénéité de cette maladie.

Dans nos travaux, la réalisation d'analyses de clusters par une approche non supervisée a permis l'utilisation efficace des données pour identifier des endotypes [99]. En effet, les approches non supervisées et notamment les modèles de mélange utilisés pour définir les endotypes étudiés dans cette thèse ont permis d'une part, d'étudier simultanément plusieurs caractéristiques de l'asthme que ce soit cliniques ou biologiques sans hypothèse *a priori*, et d'autre part, d'intégrer dans le modèle à la fois les variables catégorielles et continues.

L'originalité de cette thèse réside également dans le fait qu'à ce jour, plusieurs études ont identifié des endotypes d'asthme [5] mais très peu ont investigué l'aspect étiologique à savoir les facteurs de risque pouvant influencer ces endotypes, en particulier les expositions

professionnelles. L'étude des associations entre les endotypes et des expositions professionnelles spécifiques telles que les irritants permettait de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques par lesquels ces expositions affectent l'asthme, qui restaient jusqu'à présent peu étudiés.

- Estimation des expositions professionnelles

Dans cette thèse, l'exposition professionnelle d'intérêt était estimée par une matrice emplois-expositions spécifique pour l'asthme. Cette méthode d'estimation a permis de minimiser le biais de mémoire qui peut exister dans les études cas-témoins telles qu'EGEA où les participants atteints d'asthme pourraient se souvenir davantage de leurs expositions passées que les participants n'ayant pas d'asthme. Ainsi, la matrice emplois-expositions permettait une estimation plus objective de l'exposition comparée à l'estimation par déclaration des sujets.

De plus, l'estimation des expositions par la matrice OAsJEM avait l'avantage d'être complétée par une étape de réévaluation par expertise. L'utilisation de la matrice avec l'étape d'expertise avait pour objectif de limiter le biais de classement non différentiel potentiellement présent avec l'estimation par la matrice seule [251]. La matrice OAsJEM et l'étape d'expertise étaient développées en favorisant la spécificité pour un niveau élevé d'exposition par rapport à la sensibilité [211, 251, 301]. Ce compromis entre la sensibilité et la spécificité augmente généralement la capacité prédictive positive de la matrice [301]. Cependant, il diminue également le nombre de participants classés comme étant exposés réduisant ainsi la puissance statistique pour détecter des associations entre l'exposition et la maladie. Cette perte de puissance statistique pourrait en partie expliquer la perte de significativité de certaines associations observées dans notre étude après l'application de l'étape d'expertise, notamment pour l'association entre les sous-groupes d'irritants et les produits d'oxydation fluorescents ou les endotypes d'asthme. Néanmoins, de manière

générale, les résultats étaient similaires pour les expositions estimées avec et sans l'étape d'expertise.

Un biais du travailleur sain ou “healthy worker effect” pourrait exister dans les résultats observés dans cette thèse. En effet, les personnes avec un asthme ayant débuté dans l'enfance étaient incluses dans les analyses. Un biais du travailleur sain pourrait donc être présent si ces personnes, au moment du choix de leur première activité, avaient évité les métiers plus exposés et choisi un métier moins exposé (biais de sélection à l'embauche ou “hire effect”). De même, les personnes ayant un asthme débutant à l'âge adulte incluses dans nos analyses, en particulier celles avec un asthme sévère pouvant altérer la capacité à travailler, pourraient avoir tendance à changer d'activité pour une autre moins exposée (biais de sélection en cours d'emploi ou “survivor effect”). Les personnes ayant un asthme seraient de ce fait moins dans la population active ou dans les métiers exposés que les participants en bonne santé. Ces deux formes du biais du travailleur sain pourraient engendrer une sous-estimation des associations évaluées dans cette thèse [155, 213, 214]. Les méthodes d'inférence causale telles que les modèles marginaux structuraux permettent de prendre en compte ce type de biais [155]. Cependant, ces modèles nécessitent des données longitudinales à la fois pour l'exposition et pour la maladie d'intérêt. De telles données n'étaient pas disponibles dans cette thèse, en particulier pour les endotypes d'asthme.

- Facteurs de confusion

Au-delà des facteurs de confusion potentiels pris en compte dans nos analyses, des facteurs de confusion résiduels peuvent subsister. En effet, d'autres expositions professionnelles ou environnementales pourraient influencer les concentrations des marqueurs biologiques et avoir des effets sur l'asthme telles que l'exposition domestique aux produits ménagers qui contiennent des substances irritantes ou sensibilisantes à risque pour l'asthme ou la pollution atmosphérique que ce soit la pollution de l'air extérieur (ex: émissions des véhicules) ou la

pollution de l'air intérieur (ex: composés organiques volatiles, fumée de tabac ambiante) [302, 303]. L'ajustement sur la pollution atmosphérique n'était pas effectué dans nos analyses car même si ce facteur était associé aux marqueurs biologiques ou à l'asthme dans EGEA [201, 202], il n'était pas associé à l'exposition professionnelle.

### **VI.3 Impacts et perspectives en santé publique et en clinique**

Dans cette thèse, l'exposition professionnelle aux irritants était associée à un endotype d'asthme spécifique et les résultats apportent une preuve supplémentaire du rôle de l'exposition professionnelle aux irritants dans l'asthme. En considérant les autres études réalisées sur l'asthme lié au travail induit par les irritants, l'ensemble de ces résultats pourrait amener à améliorer la reconnaissance de ce type d'asthme comme maladie professionnelle avec les prises en charges adaptées. En effet, à ce jour, les maladies respiratoires dues aux irritants sont peu reconnues comme maladie professionnelle, excepté pour les maladies respiratoires dues à l'exposition professionnelle au formaldéhyde et aux poussières de bois, tel qu'indiqué dans les tableaux des maladies professionnelles (<http://www.inrs.fr/publications/bdd/mp.html>).

Les résultats de cette thèse ne permettent pas directement de fournir des recommandations sur les mesures de prévention de l'asthme lié au travail. Néanmoins, nos résultats et ceux de la littérature soulignent l'intérêt de renforcer la prévention primaire de l'asthme lié au travail, par exemple, par la diminution des expositions aux irritants sur le lieu de travail ou l'amélioration des recommandations sur l'utilisation des produits chimiques.

Par ailleurs, les résultats de cette thèse, en particulier l'identification d'un endotype d'asthme en lien avec l'exposition professionnelle aux irritants est un point de départ à une réflexion sur la prévention secondaire de ce sous-type d'asthme, y compris le développement de

thérapies spécifiques. En effet, les caractéristiques spécifiques de l'endotype d'asthme associé à l'exposition aux irritants que nous avons identifiées confortent l'hypothèse d'un mécanisme non éosinophilique / non allergique sous-jacent à l'asthme lié à l'exposition professionnelle aux irritants. Or, pour ces sous-types d'asthme non allergique, aucun traitement n'a été développé [3].

Au-delà de l'apport des marqueurs biologiques sur la compréhension des mécanismes physiopathologiques de l'asthme, ces marqueurs sont également d'intérêt dans la médecine personnalisée. Dans cette thèse, une concentration élevée en POFs était associée à une aggravation du contrôle de l'asthme dans le temps. Les POFs étaient également associés à une persistance de l'asthme [202]. D'autres études sont nécessaires pour étudier leur utilité clinique en tant que marqueur prédictif pour identifier les individus qui ont un bon contrôle de l'asthme à un temps donné mais qui sont susceptibles d'avoir un asthme aggravé ; ou en tant que marqueur pronostic pour évaluer l'activité et la récurrence de l'asthme dans le temps [304].

#### **VI.4 Perspectives de recherche**

Les résultats de cette thèse apportent de nouvelles connaissances sur l'étiologie de l'asthme et les mécanismes physiopathologiques sous-jacents à la relation entre l'exposition professionnelle aux irritants et l'asthme en suggérant la voie biologique du stress oxydant. De plus, nous avons montré dans cette thèse que les POFs étaient associés à un asthme neutrophilique, et l'endotype d'asthme associé à l'exposition professionnelle aux irritants était caractérisé par un nombre élevé de neutrophiles circulants. Dans la littérature, un mécanisme non éosinophilique / non allergique est suggéré pour l'asthme professionnel induit par les irritants. Ainsi, l'inflammation neutrophilique associée au stress oxydant pourrait être

associée à l'asthme lié à l'exposition professionnelle aux irritants. Néanmoins, des études expérimentales telles que des études *in vivo* ou *in vitro* seraient nécessaires pour confirmer et étayer nos résultats en apportant des connaissances plus approfondies sur les effets au niveau cellulaire et moléculaire de ces expositions, comme par exemple l'utilisation de chambres d'expositions environnementales chez l'animal, un outil déjà utilisé dans le cadre de développement de traitements antiallergiques [305].

Des études longitudinales seraient nécessaires pour aller au-delà des résultats obtenus dans cette thèse. En effet, concernant l'étude du mécanisme biologique et en particulier le rôle du stress oxydant dans l'asthme lié à l'exposition professionnelle aux irritants, la majorité des analyses a été réalisée dans le cadre d'une étude transversale, ce qui ne permet pas de distinguer les effets du stress oxydant en tant que cause ou conséquence de l'asthme. Des analyses longitudinales avec des mesures répétées dans le temps des marqueurs biologiques pourraient en partie apporter des éléments pour répondre à cette question. Néanmoins, des schémas d'études très spécifiques seraient nécessaires pour réellement comprendre les interrelations dans le temps entre les expositions professionnelles, les marqueurs biologiques liés au stress oxydant et la santé respiratoire. Par exemple, des études de cohorte d'apprentis naïfs de toute exposition professionnelle suivis du début à la fin de leur formation professionnelle avec une évaluation répétée et régulière des expositions et des paramètres cliniques et biologiques pourraient être réalisées. Ce type d'étude a par exemple déjà été réalisé chez des apprentis boulangers, pâtisseries et coiffeurs [306] ou chez des apprentis en médecine vétérinaire, hygiène dentaire et pâtisserie [307] pour étudier la sensibilisation allergique induite par une exposition professionnelle à des agents de haut poids moléculaire. Concernant les endotypes d'asthme, des données longitudinales seraient également nécessaires pour étudier la stabilité des endotypes dans le temps, c'est à dire de déterminer si les asthmatiques dans un endotype donné à un temps donné vont continuer à être dans cet endotype ultérieurement ou vont évoluer vers un autre endotype. Enfin, des données



longitudinales seraient également nécessaires pour pouvoir réaliser des analyses permettant de contrôler le biais du travailleur sain.

Pour améliorer l'estimation des expositions professionnelles, d'autres méthodes d'évaluation de l'exposition professionnelle peuvent être utilisées comme les matrices emplois-tâches-expositions [308] qui permettent de réduire le biais de classement par rapport aux matrices emplois-expositions, en particulier pour les métiers avec des tâches hétérogènes. Cette méthode permettrait d'identifier le rôle des expositions spécifiques dans le risque de survenue ou d'aggravation de l'asthme et d'améliorer ainsi sa prévention. Pour certaines expositions, l'utilisation des applications smartphones pour scanner les codes-barres des produits chimiques utilisés sur le lieu de travail, en particulier les produits de nettoyage et de désinfection, a récemment été suggérée pour faciliter la collecte des données d'exposition [309]. Les biomarqueurs d'exposition peuvent également être utilisés pour évaluer les expositions professionnelles. A l'heure actuelle, très peu de marqueurs d'exposition sont disponibles pour évaluer l'exposition professionnelle aux irritants à risque pour la santé respiratoire. Une étude a évalué l'exposition professionnelle aux produits de nettoyage et de désinfection en utilisant les trihalométhanes mesurés dans les urines, un produit dérivé de la réaction des désinfectants avec les matières organiques naturellement présentes dans l'eau, les surfaces, la poussière et les particules, comme marqueur de substitution de l'exposition aux désinfectants [310].

Au-delà du stress oxydant, la voie biologique du monoxyde d'azote–nitrite–nitrate ou stress nitrosant a également été suggérée comme mécanisme biologique impliqué dans l'asthme. Des études ont montré que le monoxyde d'azote était élevé dans les voies respiratoires des patients asthmatiques comparés aux non asthmatiques [15, 311]. Une concentration élevée de la fraction exhalée du monoxyde d'azote (FeNO) était associée à l'utilisation de produits de nettoyage (nettoyants pour vitre, produits de polissage, produits multi-usages) chez des personnels de ménage non asthmatiques [22]. De même, dans EGEA, une concentration

élevée de FeNO était associée à l'exposition domestique aux produits de nettoyage sous forme de sprays chez les femmes [81]. Ainsi, pour améliorer la compréhension de l'étiologie et des mécanismes biologiques des maladies respiratoires hétérogènes telles que l'asthme, il serait intéressant d'intégrer dans la définition des endotypes, en plus des caractéristiques cliniques, des POFs, des éosinophiles et des neutrophiles, un plus grand nombre de marqueurs biologiques tels que des cytokines, les 8-isoprostanes ou le FeNO qui étaient disponibles à EGEA mais chez un faible nombre de participants. Cela pourrait aider à identifier d'autres endotypes spécifiques pouvant être associés à des expositions professionnelles spécifiques permettant ainsi d'améliorer la prise en charge thérapeutique de l'asthme professionnel.

Enfin, comme mentionné dans la partie état des connaissances sur l'asthme au début de ce manuscrit, de nombreux facteurs non indépendants interviennent dans la survenue et l'activité de l'asthme, que ce soit des facteurs environnementaux, professionnels ou liés au mode de vie. Actuellement, la recherche s'oriente vers l'étude de l'ensemble de ces facteurs de manière simultanée plutôt que de manière individuelle à travers l'étude de l'exposome. Cette approche consiste à prendre en compte l'ensemble des expositions tout au long de la vie d'un individu que ce soit les expositions environnementales, comportementales ou professionnelles mais également les soins reçus ; elle complète l'étude du génome en fournissant une description complète de l'historique de l'exposition tout au long de la vie [312]. Récemment, dans EGEA, cette approche a été utilisée pour identifier des profils de facteurs environnementaux (pollution de l'air, environnement bâti, exposition aux espaces verts, climat,...) et de mode de vie (alimentation,...) associés à des paramètres de la fonction ventilatoire chez des adultes asthmatiques [313]. Il serait très intéressant d'étudier leurs associations avec des endotypes d'asthme. Ce type d'approches pourrait plus généralement aider à approfondir la connaissance des maladies hétérogènes et multifactorielles, afin de mieux identifier les agents causaux et d'améliorer leur prévention.

## VII REFERENCES

---

1. James SL, Abate D, Hassen Abate K, Abay SM, Abbafati C, Abbasi N, et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet* 2018; 392: 1789–1858.
2. Delmas MC, Fuhrman C, Annesi-Maesano I, Benkheder A, Delmas MC, Fuhrman C, et al. L’asthme en France: Synthèse des données épidémiologiques descriptives. *Rev. Mal. Respir.* 2010; 27: 151–159.
3. Carr TF, Zeki AA, Kraft M. Eosinophilic and noneosinophilic asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2018; 197: 22–37.
4. Diamant Z, Vijverberg S, Alving K, Bakirtas A, Bjermer L, Custovic A, et al. Towards clinically applicable biomarkers for asthma – An EAACI position paper. *Allergy* 2019; 74: 1835–1851.
5. Kaur R, Chupp G. Phenotypes and endotypes of adult asthma: Moving toward precision medicine. *J Allergy Clin Immunol* 2019; 144: 1–12.
6. Chung KF, Adcock IM. Precision Medicine for the discovery of treatable mechanisms in severe asthma. *Allergy Eur. J. Allergy Clin. Immunol.* 2019; 74: 1649–1659.
7. Rava M, Smit L a. M, Nadif R. Gene–environment interactions in the study of asthma in the postgenomewide association studies era. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2015; 15: 70–78.
8. Malo JL, Tarlo SM, Sastre J, Martin J, Jeebhay MF, Le Moual N, et al. An Official American Thoracic Society Workshop Report: Presentations and discussion of the fifth Jack Pepys Workshop on Asthma in the Workplace: Comparisons between asthma in the workplace and non-work-related asthma. *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2015; 12: S99–S110.
9. Blanc PD, Annesi-Maesano I, Balmes JR, Cummings KJ, Fishwick D, Miedinger D, et al. The Occupational Burden of Nonmalignant Respiratory Diseases. An Official American Thoracic Society and European Respiratory Society Statement. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2019; 199: 1312–1334.
10. Dao A, Bernstein DI. Occupational exposure and asthma. *Ann. Allergy, Asthma Immunol.* Elsevier Inc.; 2018; 120: 468–475.
11. Dumas O, Le Moual N. Do chronic workplace irritant exposures cause asthma? *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2016; 16: 75–85.

12. Brooks SM, Weiss MA, Bernstein IL. Reactive Airways Dysfunction Syndrome (RADS): Persistent Asthma Syndrome after High Level Irritant Exposures. *Chest*; 1985; 88: 376–384.
13. Vandenaspl O, Wiszniewska M, Raulf M, De Blay F, Gerth Van Wijk R, Moscato G, et al. EAACI position paper: Irritant-induced asthma. *Allergy* 2014; 69: 1141–1153.
14. Tarlo SM, Lemiere C. Occupational asthma. *N Engl J Med* 2014; 370: 640–649.
15. Comhair SAA, Erzurum SC. Redox Control of Asthma : Molecular Mechanisms and Therapeutic Opportunities. *Antioxid. Redox Signal.* 2010; 12: 93–124.
16. Sahiner UM, Birben E, Erzurum S, Sackesen C, Kalayci Ö. Oxidative stress in asthma: Part of the puzzle. *Pediatr. Allergy Immunol.* 2018; 29: 789–800.
17. Schulte PA. Contribution of Biological Markers to Occupational Health. *Am. J. Ind. Med.* 1998; 446: 435–446.
18. Aldakheel FM, Thomas PS, Bourke JE, Matheson MC, Dharmage SC, Lowe AJ. Relationships between adult asthma and oxidative stress markers and pH in exhaled breath condensate: A systematic review. *Allergy.* 2016; 71: 741–757.
19. Dumas O, Matran R, Zerimech F, Decoster B, Huyvaert H, Ahmed I, et al. Occupational exposures and fluorescent oxidation products in 723 adults of the EGEA study. *Eur Respir J* 2015; 46: 258-61.
20. Ghosh RE, Cullinan P, Fishwick D, Hoyle J, Warburton CJ, Strachan DP, et al. Asthma and occupation in the 1958 birth cohort. *Thorax* 2013; 68: 365–371.
21. Mak JC, Leung H, Ho S, Law B, Lam W, Tsang K, et al. Systemic oxidative and antioxidative status in Chinese patients with asthma. *Curr Opin Pulm Med.* 2004; 114:260-411.
22. Vizcaya D, Mirabelli MC, Orriols R, Anto JM, Barreiro E, Burgos F, et al. Functional and biological characteristics of asthma in cleaning workers. *Respir. Med.* 2013; 107: 673–683.
23. Pavord ID, Beasley R, Agusti A, Anderson GP, Bel E, Brusselle G, et al. After asthma: redefining airways diseases. *Lancet* 2018; 391: 350–400.
24. Rava M, Ahmed I, Kogevinas M, Le Moual N, Bouzigon E, Curjuric I, et al. Genes Interacting with Occupational Exposures to Low Molecular Weight Agents and Irritants on Adult-Onset Asthma in Three European Studies. *Environ. Health Perspect.* 2017; 125: 207–214.
25. Kuruvilla ME, Vanijcharoenkarn K, Shih JA, Eun-Hyung Lee F. Epidemiology and risk factors for asthma. *Respir. Med.* 2019; 149: 16–22.
26. Siroux V, Gonzalez JR, Bouzigon E, Curjuric I, Boudier A, Imboden M, et al. Genetic

- heterogeneity of asthma phenotypes identified by a clustering approach. *Eur. Respir. J.* 2014; 43: 439–452.
27. Global Initiative for Asthma. Guide de poche pour le traitement et la prévention de l'asthme (pour les adultes et les enfants de 5 ans et plus). 2019.
  28. Soriano JB, Alemu Abajobir A, Hassen Abate K, Ferede Abera S, Agrawal A, Beshir Ahmed M, et al. Global, regional, and national deaths, prevalence, disability-adjusted life years, and years lived with disability for chronic obstructive pulmonary disease and asthma, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet Respir Med* 2017; 5: 691–706.
  29. Raheison-Semjen C, Izadifar A, Russier M, Rolland C, Aubert J-P, Sellami R, et al. Late Breaking Abstract - Asthma prevalence and management in adults in France in 2018: ASTHMAPOP survey. *Eur. respiratory J.* European Respiratory Society (ERS); 2018. p. OA292.
  30. Portel L, Parrat E, Nocent-Ejnaini C, Mangiapan G, Prud'homme A, Oster J-P, et al. FASE-CPHG study: a panoramic snapshot of difficult-to-treat, severe asthma in French nonacademic hospitals. *Eur. Respir. J. Open Res.* 2019; 5: 00069–02019.
  31. Riviere S, Delmas M-C, Iwatsubo Y. Asthme et caractéristiques socioprofessionnelles en France en 2012. *Rev. Mal. Respir.* 2018; 35: 287–294.
  32. Papi A, Brightling C, Pedersen SE, Reddel HK. Asthma. *Lancet* 2018; 391: 783–800.
  33. Naghavi M, Alemu Abajobir A, Abbafati C, Abbas KM, Abd-Allah F, Ferede Abera S, et al. Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet* 2017; 390: 1151–1210.
  34. Roth GA, Abate D, Hassen Abate K, Abay SM, Abbafati C, Abbasi N, et al. Global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet* 2018; 392: 1736–1788.
  35. Nunes C, Pereira AM, Morais-Almeida M. Asthma costs and social impact. *Asthma Res. Pract.* 2017; 3:1.
  36. Bousquet J, Bousquet PJ, Godard P, Daures J-P. The public health implications of asthma. *Bull. World Health Organ.* 2005.
  37. Accordini S, Corsico AG, Braggion M, Gerbase MW, Gislason D, Gulsvik A, et al. The Cost of Persistent Asthma in Europe: An International Population-Based Study in Adults. *Int Arch Allergy Immunol* 2013; 160: 93–101.
  38. Burney PGJ, Luczynska C, Chinn S, Jarvis D. The European Community Respiratory

- Health Survey. *Eur. Respir. J.* 1994; 7: 954–960.
39. Asher MI, Keil U, Anderson HR, Beasley R, Crane J, Martinez F, et al. International study of asthma and allergies in childhood (ISAAC): Rationale and methods. *Eur. Respir. J.* 1995; 8: 483–491.
  40. Sá-Sousa A, Jacinto T, Azevedo LF, Morais-Almeida M, Robalo-Cordeiro C, Bugalho-Almeida A, et al. Operational definitions of asthma in recent epidemiological studies are inconsistent. *Clin. Transl. Allergy* 2014; 4:24.
  41. Bouso A, Chenivresse C, Barnig C. Place des interventions non médicamenteuses dans l’asthme Correspondance : Points essentiels Dossier thématique. *Press. Medicale* 2019; 48: 282–292.
  42. Beasley R, Semprini A, Mitchell EA. Risk factors for asthma: is prevention possible? *Lancet* 2015; 386: 1075–1085.
  43. Leynaert B, Le Moual N, Neukirch C, Siroux V, Varraso R. Facteurs environnementaux favorisant le développement d’un asthme. *Press. Medicale* 2019; 48: 262–273.
  44. Varraso R, Camargo CA. Novel dietary risk factors for asthma. *Expert Rev Respir Med* 2019; 13: 695–698.
  45. Expertise collective de l’INSERM. Susceptibilités génétiques et expositions professionnelles. Les Editio. Paris: Les Editions Inserm; 2001.
  46. Moffatt MF, Gut IG, Demenais F, Strachan DP, Bouzigon E, Heath S, et al. A Large-Scale, Consortium-Based Genomewide Association Study of Asthma. *N Engl J Med* 2010; 363: 1211–1221.
  47. Pividori M, Schoettler N, Nicolae DL, Ober C, Im HK. Shared and distinct genetic risk factors for childhood-onset and adult-onset asthma: genome-wide and transcriptome-wide studies. *Lancet Respir Med* 2019; 7: 509–522.
  48. Demenais F, Margaritte-Jeannin P, Barnes KC, Cookson WOC, Altmüller J, Ang W, et al. Multiancestry association study identifies new asthma risk loci that colocalize with immune-cell enhancer marks. *Nat. Genet.* 2018; 50: 42–53.
  49. Kauffmann F, Demenais F. Gene-environment interactions in asthma and allergic diseases: Challenges and perspectives. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2012; 130: 1229–1240.
  50. Ober C. Asthma genetics in the post-GWAS Era. *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2016; 13: S85–S90.
  51. Cookson W, Moffatt M, Strachan DP. Genetic risks and childhood-onset asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011; 128: 266–270.

52. Yang I V, Schwartz DA. Epigenetic Mechanisms and the Development of Asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 130: 1243–1255.
53. Yang I V, Lozupone CA, Schwartz DA. The Environment, the Epigenome, and Asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2017; 140: 14–23.
54. Zahiruddin AS, Grant JA, Sur S. Role of epigenetics and DNA-damage in asthma. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2018; 18: 32–37.
55. Kabesch M. Epigenetics in asthma and allergy. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2014; 14: 62–68.
56. Strine TW, Balluz LS, Ford ES. The Associations between Smoking, Physical Inactivity, Obesity, and Asthma Severity in the General US Population. *J. Asthma* 2007; 44: 651–658.
57. Boulet LP. Asthma and obesity. *Clin. Exp. Allergy* 2013; 43: 8–21.
58. Ford ES, Ga A. The epidemiology of obesity and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 897–909.
59. Barros R, Moreira P, Padrao P, Teixeira VH, Carvalho P, Delgado L, Moreira A. Obesity increases the prevalence and the incidence of asthma and worsens asthma severity. *Clin. Nutr.* 2017; 36: 1068–1074.
60. Camargo CA, Weiss ST, Zhang S, Willett WC, Speizer FE. Prospective study of body mass index, weight change, and risk of adult- onset asthma in women. *Arch. Intern. Med.* 1999; 159: 2582–2588.
61. Schatz M, Zeiger RS, Yang SJ, Chen W, Sajjan S, Allen-Ramey F, Camargo CA. Prospective study on the relationship of obesity to asthma impairment and risk. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* Elsevier Inc; 2015; 3: 560-565.e1.
62. Guilleminault L, Williams EJ, Scott HA, Berthon BS, Jensen M, Wood LG. Diet and Asthma: Is It Time to Adapt Our Message? *Nutrients* 2017; 9: 1227.
63. Andrianasolo RM, Kesse-Guyot E, Adjibade M, Hercberg S, Galan P, Varraso R. Associations between dietary scores with asthma symptoms and asthma control in adults. *Eur Respir J* 2018; 52: 1702572.
64. Eijkemans M, Mommers M, Th Draaisma JM, Thijs C, Prins MH. Physical Activity and Asthma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One* 2012; 7: e50775.
65. Lucas SR, Platts-Mills TAE. Physical activity and exercise in asthma: Relevance to etiology and treatment. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2005; 115: 928–934.
66. Brumpton BM, Langhammer A, Ferreira MAR, Chen Y, Mai X-M. Physical activity and incident asthma in adults: the HUNT Study, Norway. *BMJ Open* 2016; 6: e013856.
67. Matsunaga NY, Oliveira MS, Morcillo AM, Ribeiro JD, Ribeiro MAGO, Toro AADC.

- Physical activity and asthma control level in children and adolescents. *Respirology* 2017; 22: 1643–1648.
68. Cassim R, Milanzi E, Koplin JJ, Dharmage SC, Anne Russell M. Physical activity and asthma: cause or consequence? A bidirectional longitudinal analysis. *J Epidemiol Community Heal.* 2018; 72: 770–775.
  69. Vignoud L, Pin I, Boudier A, Pison C, Nadif R, Le Moual N, et al. Smoking and asthma: Disentangling their mutual influences using a longitudinal approach. *Respir. Med.* 2011; 105: 1805–1814.
  70. Ilmarinen P, Tuomisto LE, Kankaanranta H. Phenotypes, Risk Factors, and Mechanisms of Adult-Onset Asthma. *Mediat. Inflamm.* 2015; .
  71. Polosa R, Thomson NC. Smoking and asthma: dangerous liaisons. *Eur Respir J* 2013; 41: 716–726.
  72. Le Moual N, Jacquemin B, Varraso R, Dumas O, Kauffmann F, Nadif R. Environment and asthma in adults. *Press. Medicale Elsevier Masson SAS*; 2013; 42: e317–e333.
  73. Ai S, Qian ZM, Guo Y, Yang Y, Rolling CA, Liu E, et al. Long-term exposure to ambient fine particles associated with asthma: A cross-sectional study among older adults in six low- and middle-income countries. *Environ. Res.* 2019; 168: 141–145.
  74. Jacquemin B, Schikowski T, Carsin AE, Hansell A, Chir B, Krämer U, et al. The Role of Air Pollution in Adult-Onset Asthma : A Review of the Current Evidence. *Semin Respir Crit Care Med* 2012; 33: 606–619.
  75. Bouzigon E, Nadif R, Le Moual N, Dizier MH, Aschard H, Boudier A, et al. Facteurs génétiques et environnementaux de l’asthme et de l’allergie: synthèse des résultats de l’étude EGEA. *Rev. Mal. Respir.* 2015; 32: 822–840.
  76. Pearce N, Sunyer J, Cheng S, Chinn S, Björkstén B, Burr M, et al. Comparison of asthma prevalence in the ISAAC and the ECRHS. *Eur. Respir. J.* 2000; 16: 420–426.
  77. Caillaud D, Leynaert B, Keirsbulck M, Nadif R. Indoor mould exposure, asthma and rhinitis: findings from systematic reviews and recent longitudinal studies. *Eur Respir Rev* 2018; 27: 170137.
  78. Dumas O, Boggs KM, Quinot C, Varraso R, Zock JP, Henneberger PK, et al. Occupational exposure to disinfectants and asthma incidence in U.S. nurses: A prospective cohort study. *Am. J. Ind. Med.* 2020; 63: 44–50.
  79. Dumas O, Moual N Le. Damaging effects of household cleaning products on the lungs. *Expert Rev. Respir. Med.* 2020; 14: 1–4.
  80. Le Moual N, Varraso R, Siroux V, Dumas O, Nadif R, Pin I, et al. Domestic use of cleaning sprays and asthma activity in females. *Eur. Respir. J.* 2012; 40: 1381–1389.



81. Le Moual N, Rava M, Siroux V, Matran R NR. Use of household cleaning products, exhaled nitric oxide and lung function in females. *Eur Respir J* 2014; 44: 816–818.
82. Matulonga B, Rava M, Siroux V, Bernard A, Dumas O, Pin I, et al. Women using bleach for home cleaning are at increased risk of non-allergic asthma. *Respir. Med.* 2016; 117: 264–271.
83. Wenzel SE. Asthma: defining of the persistent adult phenotypes. *Lancet* 2006; 368: 804–813.
84. Subbarao P, Mandhane PJ, Sears MR. Asthma: epidemiology, etiology and risk factors. *CMAJ* 2009; 181: e181-90.
85. Basagaña X, Sunyer J, Kogevinas M, Zock J-P, Duran-Tauleria E, Jarvis D, et al. Socioeconomic Status and Asthma Prevalence in Young Adults. The European Community Respiratory Health Survey. *Am. J. Epidemiol.* 2004; 160: 178–188.
86. Hancox RJ, Milne BJ, Taylor DR, Greene JM, Cowan JO, Flannery EM, et al. Relationship between socioeconomic status and asthma: a longitudinal cohort study. *Thorax* 2004; 59: 376–380.
87. Fuseini H, Newcomb DC. Mechanisms driving gender differences in asthma. *Curr Allergy Asthma Rep* 2017; 17: 19.
88. Leynaert B, Sunyer J, Garcia-Esteban R, Zureik M, Burney PGJ, Anto JM, Neukirch F. Gender differences in prevalence, diagnosis and incidence of allergic and non-allergic asthma: a population-based cohort. *Thorax* 2012; 67: 625–631.
89. Becklake MR, Kauffmann F. Occasional review Gender differences in airway behaviour over the human life span. *Thorax* 1999; 54: 1119–1138.
90. Eng A, McLean D, Ellison-Loschmann L, Cheng S, Pearce N. Gender differences in occupational exposure patterns. *Occup Env. Med* 2011; 68: 888–894.
91. Rahman I, Biswas SK, Kode A. Oxidant and antioxidant balance in the airways and airway diseases. *Eur. J. Pharmacol.* 2006; 533: 222–239.
92. Bradding P, Green RH. Subclinical phenotypes of asthma. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2010; 10: 54–59.
93. Gauthier M, Ray A, Wenzel SE. Evolving concepts of asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2015; 192: 660–668.
94. Howard R, Rattray M, Prospero M, Custovic A. Distinguishing Asthma Phenotypes Using Machine Learning Approaches. *Curr Allergy Asthma Rep* 2015; 15: 38.
95. Wenzel SE. Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches. *Nat. Med.* Nature Publishing Group; 2012; 18: 716–725.
96. Bush A. Pathophysiological mechanisms of asthma. *Front. Pediatr.* 2019; 7: 1–17.

97. Anderson GP. Endotyping asthma: new insights into key pathogenic mechanisms in a complex, heterogeneous disease. *Lancet* 2008; 372: 1107–1119.
98. Ghebre MA, Bafadhel M, Desai D, Cohen SE, Newbold P, Rapley L, et al. Biological clustering supports both “dutch” and “british” hypotheses of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2015; 135: 63-72.e10.
99. Deliu M, Sperrin M, Belgrave D, Custovic A. Identification of Asthma Subtypes Using Clustering Methodologies. *Pulm. Ther.* 2016; 2: 19–41.
100. Siroux V, Garcia-Aymerich J. The investigation of asthma phenotypes. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2011; 11: 393–399.
101. Siroux V, Basagaña X, Boudier A, Pin I, Garcia-Aymerich J, Vesin A, et al. Identifying adult asthma phenotypes using a clustering approach. *Eur. Respir. J.* 2011; 38: 310–317.
102. Nadif R, Siroux V, Boudier A, Le Moual N, Just J, Gormand F, Pison C. Blood granulocyte patterns as predictors of asthma phenotypes in adults from the EGEA study. *Eur Respir J* 2016; 48: 976–978.
103. Boudier A, Curjuristic I, Basagaña X, Hazgui H, Anto JM, Bousquet J, et al. Ten-Year Follow-up of Cluster-based Asthma Phenotypes in Adults. *Am J Respir Crit Care Med* 2013; 188: 550–560.
104. Yan X, Chu J-H, Gomez J, Koenigs M, Holm C, He X, et al. Noninvasive Analysis of the Sputum Transcriptome Discriminates Clinical Phenotypes of Asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2015; 191: 1116–1125.
105. McGregor MC, Krings JG, Nair P, Castro M. Role of biologics in asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2019; 199: 433–445.
106. Barnes PJ. Inflammatory mechanisms in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2016; 138: 16–27.
107. Jesenak M, Zelieskova M, Babusikova E. Oxidative Stress and Bronchial Asthma in Children—Causes or Consequences? *Front. Pediatr.* 2017; 5: 162.
108. Bowler RP, Crapo JD. Oxidative stress in allergic respiratory diseases. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2002; 110: 349–356.
109. Van Der Vliet A, Janssen-Heininger YMW, Anathy V. Oxidative stress in chronic lung disease: from mitochondrial dysfunction to dysregulated redox signaling. *Mol Asp. Med.* 2018; 63: 59–69.
110. Agar NS, Sadrzadeh SMH, Hallaway PE, Eaton JW. Erythrocyte Catalase A Somatic Oxidant Defense? *J Clin Invest* 1986; 77: 319–321.
111. Toth KM, Clifford DP, Berger EM, White CW, Repine JE. Intact Human Erythrocytes

- Prevent Hydrogen Peroxide-mediated Damage to Isolated Perfused Rat Lungs and Cultured Bovine Pulmonary Artery Endothelial Cells. *J Clin Invest* 1984; 74: 292–295.
112. Zhao JJ, Shimizu Y, Dobashi K, Kawata T, Ono A, Yanagitani N, et al. The Relationship Between Oxidative Stress and Acid Stress in Adult Patients With Mild Asthma. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2008; 18: 41–45.
  113. Ba X, Aguilera Aguirre L, Sur S, Boldogh I. 8-oxoguanine DNA glycosylase-1 driven DNA base excision repair: role in asthma pathogenesis HHS Public Access. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2015; 15: 89–97.
  114. Ciencewicz J, Trivedi S, Kleeberger SR. Oxidants and the pathogenesis of lung diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122: 456–468.
  115. Janicka M, Kot-Wasik A, Kot J, Namieśnik J. Isoprostanes-Biomarkers of Lipid Peroxidation: Their Utility in Evaluating Oxidative Stress and Analysis. *Int. J. Mol. Sci* 2010; 11: 4631–4659.
  116. Konstantinidi EM, Lappas AS, Tzortzi AS, Behrakis PK. Exhaled Breath Condensate: Technical and Diagnostic Aspects. *Sci. World J.* Hindawi Publishing Corporation; 2015; 2015: 1–25.
  117. Montuschi P, Barnes PJ. Analysis of exhaled breath condensate for monitoring airway inflammation. *Trends Pharmacol. Sci.* 2002; 23: 232–237.
  118. Ahmad A, Shameem M, Husain Q. Relation of oxidant-antioxidant imbalance with disease progression in patients with asthma. *Ann. Thorac. Med.* 2012; 7: 226–232.
  119. Ochs-Balcom HM, Grant BJ., Muti P, Sempos CT, Freudenhelm JL, Browne RW, et al. Oxidative stress and pulmonary function in the general population. *Am. J. Epidemiol.* 2005; 162: 1137–1145.
  120. Yang L, Huang M, Huang C, Wang T. The Association between Adult Asthma and Superoxide Dismutase and Catalase Gene Activity. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2011; 156: 373–380.
  121. Mak JCW, Leung HCM, Ho SP, Ko FWS, Cheung AHK, Ip MSM, Chan-Yeung MMW. Polymorphisms in manganese superoxide dismutase and catalase genes: functional study in Hong Kong Chinese asthma patients. *Clin. Exp. Allergy* 2006; 36: 440–447.
  122. Mak JCW, Leung HCM, Ho SP, Law BKW, Lam WK, Tsang KWT, et al. Systemic oxidative and antioxidative status in Chinese patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114: 260–264.
  123. Nadeem A, Chhabra SK, Masood A RH. Increased oxidative stress and altered levels of antioxidants in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: 72–78.

124. Hanazawa T, Kharitonov SA, Barnes PJ. Increased Nitrotyrosine in Exhaled Breath Condensate of Patients with Asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1273–1276.
125. Sugiura H, Ichinose M, Tomaki M, Ogawa H, Koarai A, Kitamuro T, et al. Quantitative assessment of protein-bound tyrosine nitration in airway secretions from patients with inflammatory airway disease. *Free Radic. Res.* 2004; 38: 49–57.
126. MacPherson JC, Comhair SAA, Erzurum SC, Klein DF, Lipscomb MF, Kavuru MS, et al. Eosinophils Are a Major Source of Nitric Oxide-Derived Oxidants in Severe Asthma: Characterization of Pathways Available to Eosinophils for Generating Reactive Nitrogen Species. *J. Immunol.* 2001; 166: 5763–5772.
127. Czernska M, Zieliński M, Gromadzińska J. Isoprostanes - A novel major group of oxidative stress markers. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health* 2016; 29: 179–190.
128. Roberts LJ, Morrow JD. The generation and actions of isoprostanes. *Biochim. Biophys. Acta - Lipids Lipid Metab.* 1997; 1345: 121–135.
129. Peel AM, Crossman-Barnes C-J, Tang J, Fowler S, Davies G, Wilson A, Loke Y. Biomarkers in adult asthma: a systematic review of 8-isoprostane in exhaled breath condensate. *J. Breath Res.* 2017; 11: 016011.
130. Marnett LJ. Lipid peroxidation - DNA damage by malondialdehyde. *Mutat. Res.* 1999; 424: 83–95.
131. Bartoli ML, Novelli F, Costa F, Malagrinò L, Malagrinò M, Melosini L, et al. Malondialdehyde in Exhaled Breath Condensate as a Marker of Oxidative Stress in Different Pulmonary Diseases. *Mediators Inflamm.* Hindawi Publishing Corporation; 2011; 2011: 891752.
132. Antczak A, Nowak D, Shariati B, Król M, Piasecka G, Kurmanowska Z. Increased hydrogen peroxide and thiobarbituric acid-reactive products in expired breath condensate of asthmatic patients. *Eur Respir J* 1997; 10: 1235–1241.
133. Rebholz CM, Wu T, Hamm LL, Arora R, Khan IE, Liu Y, et al. The association of plasma fluorescent oxidation products and chronic kidney disease: a case-control study. *Am. J. Nephrol.* 2012; 36: 297–304.
134. Wu T, Rifai N, Roberts L, Willett W, Rimm E. Stability of Measurement of Biomarkers of Oxidative Stress in Blood Over 36 Hours. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; 13: 1399–1402.
135. Hart JE, Wu T, Laden F, Garshick E. Plasma fluorescent oxidation products and short-term occupational particulate exposures. *Am. J. Ind. Med.* 2012; 55: 953–960.
136. Wu T, Rifai N, Walter C, Willett W, Rimm E. Plasma Fluorescent Oxidation

- Products: Independent Predictors of Coronary Heart Disease in Men. *Am. J. Epidemiol.* 2007. p. 166:544-51.
137. Wu T, Willett WC, Rifai N, Rimm EB. Plasma fluorescent oxidation products as potential markers of oxidative stress for epidemiologic studies. *Am. J. Epidemiol.* 2007; 166: 552–560.
  138. Jensen MK, Wang Y, Rimm EB, Townsend MK, Willett W, Wu T. Fluorescent oxidation products and risk of coronary heart disease: A prospective study in women. *J. Am. Heart Assoc.* 2013; 2: 1–7.
  139. Nadif R, Febrissy M, Andrianjafimasy M, Le Moual N, Gormand F, Just J, et al. Adult asthma phenotypes identified by a cluster analysis on clinical and biological characteristics. *Eur. Respir. J.* 2018; : 62 Meeting Abstract: OA293.
  140. Crewe J, Carey R, Glass D, Peters S, Abramson MJ, Benke G, Reid A, Driscoll T, Fritschi L. A comprehensive list of asthmagens to inform health interventions in the Australian workplace. *Aust. N. Z. J. Public Health* 2016; 40: 170–173.
  141. Le Moual N, Dumas O. Asthme et produits ménagers (Asthma and household exposures). *La Lett. du Pneumol.* 2016; XIX: 280-286;307.
  142. Labrecque M. Irritant-induced asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2012. p. 12(2):140-4.
  143. Jeebhay MF, Ngajilo D, and Nicole le Moualb. Risk factors for nonwork-related adult-onset asthma and occupational asthma: a comparative review. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2014. p. 14(2):84-94.
  144. Le Moual N, Siroux V. Asthme et environnement professionnel. *La Lett. du Pneumol.* 2014; 17: 216–220.
  145. De Matteis S, Heederik D, Burdorf A, Colosio C, Cullinan P, Henneberger PK, et al. Current and new challenges in occupational lung diseases. *Eur. Respir. Rev.* 2017; 26: 170080.
  146. Leigh JP, Romano PS, Schenker MB, Kreiss K. Costs of occupational COPD and asthma. *Chest* 2002; 121: 264–272.
  147. Maestrelli P, Boschetto P, Fabbri LM, Mapp CE. Mechanisms of occupational asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009; 123: 531–542.
  148. Casas L, Nemery B. Irritants and asthma. *Eur Respir J* 2014; 44: 562–564.
  149. Cartier A. New causes of immunologic occupational asthma, 2012-2014. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2015; 15: 117–123.
  150. Quirce S, Sastre J. Occupational asthma: clinical phenotypes, biomarkers, and management. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2019; 25: 59–63.

151. Maestrelli P, Schlünssen V, Mason P, Sigsgaard T. Contribution of host factors and workplace exposure to the outcome of occupational asthma. *Eur Respir Rev* 2012; 21: 88–96.
152. Meca O, Cruz M-J, Sánchez-Ortiz M, González-Barcala F-J, Ojanguren I, Munoz X. Do Low Molecular Weight Agents Cause More Severe Asthma than High Molecular Weight Agents? *PLoS One* 2016; 11: e0156141.
153. Tarlo SM. Trends in incidence of occupational asthma. *Occup. Environ. Med.* 2015; 72: 20–22.
154. Paris C, Ngatchou-Wandji J, Luc A, Mcnamee R, Bensefa-Colas L, Larabi L, et al. Work-related asthma in France: recent trends for the period 2001-2009. *Occup Env. Med* 2012; 69: 391–397.
155. Dumas O, Le Moual N, Siroux V, Heederik D, Garcia-Aymerich J, Varraso R, et al. Work related asthma. A causal analysis controlling the healthy worker effect. *Occup. Environ. Med.* 2013; 70: 603–610.
156. Dumas O, Laurent E, Bousquet J, Metspalu A, Milani L, Kauffmann F, Le Moual N. Occupational irritants and asthma: an Estonian cross-sectional study of 34 000 adults. *Eur. Respir. J.* 2014; 44: 647–656.
157. Tarlo SM, Malo J-L, De Blay F, Le Moual N, Henneberger P, Heederik D, et al. An Official American Thoracic Society Workshop Report: Presentations and Discussion of the Sixth Jack Pepys Workshop on Asthma in the Workplace. *Ann Am Thorac Soc.* 2017; 14: 1361–1372.
158. Folletti I, Siracusa A, Paolucci G. Update on asthma and cleaning agents. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2017; 17: 90–95.
159. Quinn MM, Henneberger PK, Braun B, Delclos GL, Fagan K, Huang V, et al. Cleaning and disinfecting environmental surfaces in health care: Toward an integrated framework for infection and occupational illness prevention. *Am. J. Infect. Control* 2015; 43: 424–434.
160. Quirce S BP. Cleaning Agents and Asthma. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2010. p. 20: 542-550.
161. Saito R, Abbas Virji M, Henneberger PK, Humann MJ, Lebouf RF, Stanton ML, et al. Characterization of Cleaning and Disinfecting Tasks and Product Use Among Hospital Occupations. *Am J Ind Med* 2015; 58: 101–111.
162. Dumas O, Kauffmann F, Le Moual N. Asthme et expositions aux produits de nettoyage. *Arch. des Mal. Prof. l'Environnement* 2013; 74: 117–129.
163. Siracusa A, De Blay F, Folletti I, Moscato G, Olivieri M, Quirce S, et al. Asthma and

- exposure to cleaning products - A European Academy of Allergy and Clinical Immunology task force consensus statement. *Allergy* 2013; 68: 1532–1545.
164. Jaakkola JJK, Jaakkola MS. Professional cleaning and asthma. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2006; 6: 85–90.
  165. Zock J-P, Vizcaya D, Le Moual N. Update on asthma and cleaners. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2010; 10: 114–120.
  166. Vizcaya D, Mirabelli MC, Antó JM, Orriols R, Burgos F, Arjona L ZJ. A workforce-based study of occupational exposures and asthma symptoms in cleaning workers. *Occup Env. Med.* 2011; 68:914-9.
  167. Dumas O, Donnay C, Heederik DJJ, Hery M, Choudat D, Kauffmann F, Le Moual N. Occupational exposure to cleaning products and asthma in hospital workers. *Occup. Environ. Med.* 2012; : 883–889.
  168. Vizcaya D, Mirabelli MC, Gimeno D, Antó J-M, Delclos GL, Rivera M, et al. Cleaning products and short-term respiratory effects among female cleaners with asthma. *Occup. Environ. Med.* 2015; 72: 757–763.
  169. Delclos GL, Gimeno D, Arif AA, Burau KD, Carson A, Lusk C, et al. Occupational risk factors and asthma among health care professionals. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2007; 175: 667–675.
  170. Arif AA, Delclos GL. Association between cleaning-related chemicals and work-related asthma and asthma symptoms among healthcare professionals. *Occup. Environ. Med.* 2012; 69: 35–40.
  171. Dumas O, Varraso R, Boggs KM, Descatha A, Quinot C, Speizer FE, et al. Association of hand and arm disinfection with asthma control in US nurses. *Occup Env. Med* 2018; 75: 378–381.
  172. Dumas O, Wiley AS, Quinot C, Varraso R, Zock J-P, Henneberger PK, et al. Occupational exposure to disinfectants and asthma control in US nurses. *Eur. Respir. J.* 2017; 50: 1700237.
  173. Medina-Ramón M, Zock JP, Kogevinas M, Sunyer J, Basagaña X, Schwartz J, et al. Short-term respiratory effects of cleaning exposures in female domestic cleaners. *Eur. Respir. J.* 2006; 27: 1196–1203.
  174. Zock JP, Kogevinas M, Sunyer J, Jarvis D, Torén K AJECRHS. Asthma characteristics in cleaning workers, workers in other risk jobs and office workers. *Eur Respir J* 2002; 20:679-85.
  175. Lillienberg L, Andersson E, Janson C, Dahlman-Höglund A, Forsberg B, Holm M, et al. Occupational Exposure and New-onset Asthma in a Population-based Study in

- Northern Europe (RHINE). *Ann. Occup. Hyg* 2013; 57: 482–492.
176. Kogevinas M, Zock JP, Jarvis D, Kromhout H, Lillienberg L, Plana E, et al. Exposure to substances in the workplace and new-onset asthma: an international prospective population-based study (ECRHS-II). *Lancet* 2007; 370: 336–341.
  177. Corradi M, Gergelova P, Di Pilato E, Folesani G, Goldoni M, Andreoli R, et al. Effect of exposure to detergents and other chemicals on biomarkers of pulmonary response in exhaled breath from hospital cleaners: a pilot study. *Int Arch Occup Env. Heal.* 2012; 85: 389–396.
  178. Kongerud J, Søyseth V. Respiratory Disorders in Aluminum Smelter Workers. *J Occup Env. Med* 2014; 56: S60-70.
  179. Abramson MJ, Benke GP, Cui J, De Klerk NH, Del Monaco A, Dennekamp M, et al. Is potroom asthma due more to sulphur dioxide than fluoride? An inception cohort study in the Australian aluminium industry. *Occup. Environ. Med.* 2010; 67: 679–685.
  180. Søyseth V, Johnsen HL, Henneberger PK, Kongerud J. The Incidence of Work-related Asthma-like Symptoms and Dust Exposure in Norwegian Smelters. *Am J Respir Crit Care Med* 2012; 185: 1280–1285.
  181. Søyseth V, Johnsen HL, Henneberger PK, Kongerud J. Increased Decline in Pulmonary Function Among Employees in Norwegian Smelters Reporting Work-Related Asthma-Like Symptoms. *J Occup Env. Med* 2015; 57: 1004–1008.
  182. Storaas T, Zock J-P, Morano AE, Holm M, Björnsson E, Forsberg B, et al. Incidence of rhinitis and asthma related to welding in Northern Europe. *Eur Respir J* 2015; 46: 1290–1297.
  183. El-Zein M, Malo J-L, Infante-Rivard C, Gautrin D. Incidence of probable occupational asthma and changes in airway calibre and responsiveness in apprentice welders. *Eur Respir J* 2003; 22: 513–518.
  184. Wiggins RE, Evans G, Fishwick D, Barber CM. Asthma in furniture and wood processing workers: a systematic review. *Occup. Med. (Chic. Ill).* 2016; 66: 193–201.
  185. Badirdast P, Azari MR, Salehpour S, Ghadjari A, Khodakarim S, Panahi D, et al. The Effect of Wood Aerosols and Bioaerosols on the Respiratory Systems of Wood Manufacturing Industry Workers in Golestan Province. *Tanaffos* 2017; 16: 53–59.
  186. Reynolds SJ, Nonnenmann MW, Basinas I, Davidson M, Elfman L, Gordon J, et al. Systematic Review of Respiratory Health Among Dairy Workers. *J. Agromedicine* 2013; 18: 219–243.
  187. Omland Ø, Hjort C, Find Pedersen O, Miller MR, Sigsgaard T. New-onset asthma and the effect of environment and occupation among farming and nonfarming rural



- subjects. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 128: 761–765.
188. Koksall N, Hasanoglu HC, Gokirmak M, Yildirim Z, Gultek A. Apricot sulfurization: An occupation that induces an asthma-like syndrome in agricultural environments. *Am. J. Ind. Med.* 2003; 43: 447–453.
  189. Mamane A, Baldi I, Tessier J-F, Raheison C, Bouvier G. Occupational exposure to pesticides and respiratory health. *Eur. Respir. Rev.* 2015; 24: 306–319.
  190. Hernández AF, Parrón T, Alarcón R. Pesticides and asthma. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2011; 11: 90–96.
  191. Schenker MB, Jacobs JA. Respiratory effects of organic solvent exposure. *Tuber. Lung Dis.* 1996; 77: 4–18.
  192. Montani D, Dumas O, Despréaux T, Humbert M, Descatha A. Poumon et solvants : des liaisons dangereuses. *Rev. Mal. Respir.* Elsevier Masson SAS; 2016; 33: 652–653.
  193. Torén K, Balder B, Brisman J, Lindholm N, Löwhagen O, Palmqvist M, Tunsäter A. The risk of asthma in relation to occupational exposures: A case- control study from a Swedish city. *Eur. Respir. J.* 1999; 13: 496–501.
  194. LeVan TD, Koh WP, Lee HP, Koh D, Yu MC, London SJ. Vapor, dust, and smoke exposure in relation to adult-onset asthma and chronic respiratory symptoms: The Singapore Chinese Health Study. *Am. J. Epidemiol.* 2006; 163: 1118–1128.
  195. Mapp CE, Boschetto P, Maestrelli P, Fabbri LM. Occupational Asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* American Thoracic Society; 2005; 172: 280–305.
  196. Mamessier E, Botturi K, Vervloet D, Magnan A. Lymphocytes T régulateurs, atopie et asthme : un nouveau concept en trois dimensions. *Rev Mal Respir* 2005; 22: 305–311.
  197. Douwes J, Gibson P, Pekkanen J, Pearce N. Non-eosinophilic asthma: importance and possible mechanisms. *Thorax* 2002; 57: 643–648.
  198. Yang S, Feskanich D, Willett WC, Eliassen AH, Wu T. Association between Global Biomarkers of Oxidative Stress and Hip Fracture in Postmenopausal Women: A Prospective Study Shuman. *J Bonne Min. Res* 2014; 29: 2577–2583.
  199. Emma R, Bansal AT, Kolmert J, Wheelock CE, Dahlen S-E, Loza MJ, et al. Enhanced oxidative stress in smoking and ex-smoking severe asthma in the U-BIOPRED cohort. *PLoS One* 2018; 13: e0203874.
  200. Romieu I, Castro-Giner F, Kunzli N, Sunyer J. Air pollution, oxidative stress and dietary supplementation: A review. *Eur. Respir. J.* 2008; 31: 179–196.
  201. Havet A, Zerimech F, Sanchez M, Siroux V, Le Moual N, Brunekreef B, et al. Outdoor air pollution, exhaled 8-isoprostane and current asthma in adults: the EGEA study. *Eur Respir J* 2018; 51: 1702036.

202. Havet A, Li Z, Zerimech F, Sanchez M, Siroux V, Le Moual N, et al. Does the oxidative stress play a role in the associations between outdoor air pollution and persistent asthma in adults? Findings from the EGEA study. *Environ. Heal.* 2019; 18.
203. Chen C, Arjomandi M, Balmes J, Tager I, Holland N. Effects of Chronic and Acute Ozone Exposure on Lipid Peroxidation and Antioxidant Capacity in Healthy Young Adults. *Environ. Health Perspect.* 2007; 115.
204. Romanazzi V, Pirro V, Bellisario V, Mengozzi G, Peluso M, Pazzi M, et al. 5-F 2t isoprostane as biomarker of oxidative stress induced by tobacco smoke and occupational exposure to formaldehyde in workers of plastic laminates. *Sci. Total Environ.* 2013; 442: 20–25.
205. Nieuwenhuijsen MJ. Design of exposure questionnaires for epidemiological studies. *Occup Env. Med* 2005; 62: 272–280.
206. Dabis F, Desenclos J-C. *Epidémiologie de terrain - Méthodes et applications*. John Libbey Eurotext, editor. John Libbey Eurotext; 2012.
207. Tielemans E, Heederik D, Burdorf A, Vermeulen R, Veulemans H, Kromhout H, Hartog K. Assessment of occupational exposures in a general population: comparison of diVerent methods. *Occup Env. Med* 1999; 56: 145–151.
208. Zins M, Goldberg M. The French CONSTANCES population-based cohort: design, inclusion and follow-up. *Eur. J. Epidemiol.* 2015; 30: 1317–1328.
209. Mannelje A ‘t, Kromhout H. The use of occupation and industry classifications in general population studies. *Int. J. Epidemiol.* 2003; 32: 419–428.
210. Offermans NSM, Vermeulen R, Burdorf A, Peters S, Goldbohm A, Koeman T, et al. Comparison of expert and job-exposure matrix-based retrospective exposure assessment of occupational carcinogens in the Netherlands Cohort Study. *Occup Env. Med* 2012; 69: 745–751.
211. Bouyer J, Hémon D. Retrospective evaluation of occupational exposures in population-based case-control studies: general overview with special attention to job exposure matrices. *Int. J. Epidemiol.* 1993; 22: S57–S64.
212. Févotte J, Dananché B, Delabre L, Ducamp S, Garras L, Houot M, et al. Matgéné: A program to develop job-exposure matrices in the general population in France. *Ann. Occup. Hyg.* 2011; 55: 865–878.
213. Le Moual N, Kauffmann F, Eisen EA, Kennedy SM. The healthy worker effect in asthma: Work may cause asthma, but asthma may also influence work. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2008; 177: 4–10.
214. Dumas O, Smit LAM, Pin I, Kromhout H, Siroux V, Nadif R, et al. Do young adults

- with childhood asthma avoid occupational exposures at first hire? *Eur. Respir. J.* 2011; 37: 1043–1049.
215. Rava M, Ahmed I, Demenais F, Sanchez M, Tubert-Bitter P, Nadif R. Selection of genes for gene-environment interaction studies: a candidate pathway-based strategy using asthma as an example. *Environ. Heal.* 2013; 12: 56.
216. Hur G-Y, Park H-S. Biological and Genetic Markers in Occupational Asthma. *Curr Allergy Asthma Rep* 2015; 15: 488.
217. Dominguez-Ortega J, Barranco P, Rodríguez-Pérez R, Quirce S. Biomarkers in Occupational Asthma. *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2016; 16: 63.
218. Kim SH, Cho BY, Park CS, Shin ES, Cho EY, Yang EM, et al. Alpha-T-catenin (CTNNA3) gene was identified as a risk variant for toluene diisocyanate-induced asthma by genome-wide association analysis. *Clin. Exp. Allergy* 2009; 39: 203–212.
219. Yucesoy B, Kaufman KM, Lummus ZL, Weirauch MT, Zhang G, Cartier A, et al. Genome-Wide Association Study Identifies Novel Loci Associated With Diisocyanate-Induced Occupational Asthma. *Toxicol. Sci.* 2015; 146: 192–201.
220. Kusha Vidya M, Girish Kumar V, Sejian V, Bagath M, Krishnan G, Bhatta R. Toll-like receptors: Significance, ligands, signaling pathways, and functions in mammals. *Int Rev Immunol.* 2018; 2: 20–36.
221. Smit LA, Kogevinas M, Antó JM, González JR, Le Moual N, Kromhout H, et al. Transient receptor potential genes, smoking, occupational exposures and cough in adults. *Respir. Res.* 2012; 13.
222. Kauffmann F, Dizier MH, Annesi-Maesano I, Bousquet J, Charpin D, Demenais F, et al. EGEA (Epidemiological study on the Genetics and Environment of Asthma, bronchial hyperresponsiveness and atopy)-- descriptive characteristics. *Clin. Exp. allergy* 1999; 29 Suppl 4: 17–21.
223. Kauffmann F, Dizier MH, Pin I, Paty E, Gormand F, Vervloet D, et al. Epidemiologic Study of the Genetics and Environment of Asthma, Bronchial Hyperresponsiveness, and Atopy. Phenotype Issues. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: s123–s129.
224. Kauffmann F, Dizier M. EGEA (Epidemiological study on the Genetics and Environment of Asthma, bronchial hyperresponsiveness and atopy)--design issues. *Clin. Exp. Allergy* 1995. p. 19–22.
225. Kauffmann F, Dizier M, Annesi-Maesano I, Bousquet J, Charpin D, Demenais F, et al. Etude épidémiologique des facteurs Génétiques et Environnementaux de l'Asthme, l'hyperréactivité bronchique et l'atopie (EGEA) - Protocole et biais de sélection potentiels. *Rev Epidemiol Santé Pub* 2001; 49: 343–356.

226. Brille D, Casula D, van der Lende R, Smidt U. Commentaires relatifs au questionnaire pour l'étude de la bronchite chronique et de l'emphysème pulmonaire (1967). *Collect. d'hygiene Med. du travail* 1971; 14: Commission des communautés européennes-Luxembourg.
227. Ferris BG. Epidemiology Standardization Project (American Thoracic Society). *Am. Rev. Respir. Dis.* 1978; 118: 1–120.
228. Kauffmann F, Annesi-Maesano I, Liard R, Paty E, Faraldo B, Neukirch F DM. Construction et validation d'un questionnaire en épidémiologie respiratoire. L'exemple du questionnaire de l'Etude épidémiologique des facteurs Génétiques et Environnementaux de l'Asthme, l'hyperréactivité bronchique et l'atopie (EGEA). *Rev Mal Respir* 2002; 19: 323–333.
229. Nadif R, Bouzigon E, Le Moual N, Siroux V. EGEA Collection: a biobank devoted to asthma and asthma-related phenotypes. *Open J. Bioresour.* 2017; 322: 891–921.
230. Siroux V, Boudier A, Bousquet J, Bresson JL, Cracowski JL, Ferran J, et al. Phenotypic determinants of uncontrolled asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 124:681-7.
231. Siroux V, Boudier A, Dolgopoff M, Chanoine S, Bousquet J, Gormand F, et al. Forced midexpiratory flow between 25% and 75% of forced vital capacity is associated with long-term persistence of asthma and poor asthma outcomes. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2016; 137: 1709-1716e6.
232. Global Initiative for Asthma 2015. POCKET GUIDE FOR ASTHMA MANAGEMENT AND PREVENTION. 2015.
233. Pekkanen J, Sunyer J, Anto JM, Burney P, Abramson M, Kutin J, et al. Operational definitions of asthma in studies on its aetiology. *Eur. Respir. J.* 2005; 26: 28–35.
234. Sunyer J, Pekkanen J, Garcia-Esteban R, Svanes C, Künzli N, Janson C, et al. Asthma score: Predictive ability and risk factors. *Allergy* 2007; 62: 142–148.
235. Quanjer PH, Tammeling GJ, Cotes JE, Pedersen OF, Peslin R, Yernault J-C. Lung volumes and forced ventilatory flows. *Eur. Respir. J.* 1993; 6: 5-40.
236. Coates AL, Wanger J, Cockcroft DW, Culver BH, Testing B, Carlsen K-H, et al. ERS technical standard on bronchial challenge testing: general considerations and performance of methacholine challenge tests. *Eur Respir J* 2017; 49: 1601526.
237. Oryszczyn MP, Annesi-Maesano I, Charpin D, Paty E, Maccario J, Kauffmann F. Relationships of active and passive smoking to total IgE in adults of the epidemiological study of the genetics and environment of asthma, bronchial hyperresponsiveness, and atopy (EGEA). *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2000; 161:

- 1241–1246.
238. Nadif R, Rava M, Decoster B, Huyvaert H, Le Moual N, Bousquet J, et al. Exhaled nitric oxide, nitrite/nitrate levels, allergy, rhinitis and asthma in the EGEA study. *Eur Respir J* 2014; 44: 351–360.
239. Nadif R, Siroux V, Oryszczyn MP, Ravault C, Pison C, Pin I, Kauffmann F. Heterogeneity of asthma according to blood inflammatory patterns. *Thorax* 2009; 64: 374–380.
240. Nadif R, Jedlicka A, Mintz M, Bertrand J-P, Kleeberger S, Kauffmann F. Effect of TNF and LTA polymorphisms on biological markers of response to oxidative stimuli in coal miners: a model of gene-environment interaction. Tumour necrosis factor and lymphotoxin alpha. *J. Med. Genet.* 2003; 40: 96–103.
241. Nadif R, Bourgkard E, Dusch M, Bernadac P, Bertrand JP, Mur JM, Pham QT. Relations between occupational exposure to coal mine dusts, erythrocyte catalase and Cu<sup>++</sup>/Zn<sup>++</sup> superoxide dismutase activities, and the severity of coal workers' pneumoconiosis. *Occup. Environ. Med.* 1998; 55: 533–540.
242. Zerimech F, Huyvaert H, Matran R, Nadif R. Usefulness of a new dialysis device adapted to small volume of red blood cells and its interest in epidemiology. *Clin. Biochem.* 2011; 44: 739–741.
243. Zwart A, van Assendelft OW, Bull BS, England JM, Lewis SM, Zijlstra WG. Recommendations for reference method for haemoglobinometry in human blood (ICSH standard 1995) and specifications for international haemoglobinocyanide standard (4th edition). *J. Clin. Pathol.* 1996; 49: 271–274.
244. Nadif R, Matran R, Maccario J, Bechet M, Le Moual N, Scheinmann P, et al. Passive and active smoking and exhaled nitric oxide levels according to asthma and atopy in adults. *Ann. Allergy, Asthma Immunol.* 2010; 104: 385–393.
245. Nadif R, Febrissy M, Andrianjafimasy M, Le Moual N, Gormand F, Just J, et al. Endotypes identified by cluster analysis in asthmatics and non-asthmatics and their clinical characteristics 10 years later: the EGEA study. *submitted* 2020; .
246. Pagès J. Multiple factor analysis by example using R: Chapman and Hall/CRC. 2014.
247. McLachlan G, Peel D. Wiley series in probability and statistics. *Finite Mix. Model.* 2000; : 420–427.
248. Scrucca L, Fop M, Raftery AE. mclust 5: Clustering, Classification and Density Estimation Using Gaussian Finite Mixture Models. *R J.* 2016; 8: 289–317.
249. Schwarz G. Estimating the dimension of a model. *Ann. Stat.* 1978; 6: 461–464.
250. Fraley C, Raftery A. Model-based clustering, discriminant analysis, and density

- estimation. *J. Am. Stat. Assoc.* 2002; 97: 611–631.
251. Le Moual N, Zock J-P, Dumas O, Lytras T, Andersson E, Lillienberg L, et al. Update of an occupational asthma-specific job exposure matrix to assess exposure to 30 specific agents. *Occup. Environ. Med.* 2018; 75: 507–514.
  252. Kennedy SM, Le Moual N, Choudat D, Kauffmann F. Development of an asthma specific job exposure matrix and its application in the epidemiological study of genetics and environment in asthma (EGEA). *Occup. Environ. Med.* 2000; 57: 635–641.
  253. Chan-Yeung M, Malo JL, Bernstein DI. Table of the major inducers of occupational asthma. In: *Asthma in the workplace. New York CRC Press* 1993; : 595–623.
  254. Andrianjafimasy M, Zerimech F, Akiki Z, Huyvaert H, Le Moual N, Siroux V, et al. Oxidative stress biomarkers and asthma characteristics in adults of the EGEA study. *Eur Respir J* 2017; 50: 1701193.
  255. Babyak MA. Rescaling continuous predictors in regression models. In *Statistical Tips from the Editors of Psychosomatic Medicine. Psychosom. Med.* 2009; .
  256. Schünemann HJ, Muti P, Freudenheim JL, Armstrong D, Browne R, Klocke RA, Trevisan M. Oxidative Stress and Lung Function. *Am. J. Epidemiol.* 1997; 146: 939–948.
  257. Janssen LJ. Isoprostanes: an overview and putative roles in pulmonary pathophysiology. *Am. J. Physiol. Cell. Mol. Physiol.* 2001; 280: L1067–L1082.
  258. Kozakiewicz M, Kornatowski M, Krzywińska O, Kędziora-Kornatowska K. Changes in the blood antioxidant defense of advanced age people. *Clin. Interv. Aging* 2019; 14: 763–771.
  259. Guemouri L, Artur Y, Herbeth B, Jeandel C, Cuny G, Siest G. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase in blood. *Clin. Chem.* 1991; 37: 1932–1937.
  260. Yang S, Giovannucci E, Bracken B, Ho S-M, Wu T. Association between plasma fluorescent oxidation products and erectile dysfunction: A prospective study. *BMC Urol.* 2015; 15: 85.
  261. Schöttker B, Xuan Y, Gào X, Anusruti A, Brenner H. Oxidatively Damaged DNA/RNA and 8-Isoprostane Levels Are Associated With the Development of Type 2 Diabetes at Older Age: Results From a Large Cohort Study. *Diabetes Care* 2019; 43: 130–136.
  262. Montuschi P, Corradi M, Ciabattini G, Nightingale J, Kharitonov SA, Barnes PJ. Increased 8-Isoprostane, a Marker of Oxidative Stress, in Exhaled Condensate of

- Asthma Patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1999.
263. Malorni W, Campesi I, Straface E, Vella S, Franconi F. Redox Features of the Cell: A Gender Perspective. *Antioxid. Redox Signal.* 2007; 9: 1779–1801.
264. Malling TH, Sigsgaard T, Andersen HR, Deguchi Y, Brandslund I, Skadhauge L, et al. Differences in Associations Between Markers of Antioxidative Defense and Asthma Are Sex Specific. *Gend. Med.* 2010; 7: 115–124.
265. Al-Afaleg NO, Al-Senaidy A E-AA. Oxidative stress and antioxidant status in Saudi asthmatic patients. *Clin. Biochem.* 2011. p. 44(8-9):612-7.
266. Akiki Z, Andrianjafimasy M, Zerimech F, Le Moual N, Siroux V, Dumas O, et al. High level of fluorescent oxidation products and worsening of asthma control over time. *Respir. Res.* 2019; 20: 203.
267. Hoppin JA, Umbach DM, London SJ, Henneberger PK, Kullman GJ, Alavanja MCR, Sandler DP. Pesticides and Atopic and Nonatopic Asthma among Farm Women in the Agricultural Health Study. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 177: 11–18.
268. Hoppin JA, Umbach DM, London SJ, Henneberger PK, Kullman GJ, Coble J, et al. Pesticide use and adult-onset asthma among male farmers in the Agricultural Health Study. *Eur Respir J* 2009; 34: 1296–1303.
269. Henneberger PK, Liang X, London SJ, Umbach DM, Sandler DP, Branch E, Hoppin JA. Exacerbation of symptoms in agricultural pesticide applicators with asthma. *Int Arch Occup Environ. Heal.* 2014; 87: 423–432.
270. Baldi I, Robert C, Piantoni F, Tual S, Bouvier G, Lebailly P, Raheison C. Agricultural exposure and asthma risk in the AGRICAN French cohort. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 2014; 217: 435–442.
271. Vandenplas O, Godet J, Hurdubaea L, Riffart C, Suojalehto H, Wiszniewska M, et al. Are high- and low-molecular-weight sensitizing agents associated with different clinical phenotypes of occupational asthma? *Allergy* 2019; 74: 261–272.
272. Su F-C, Friesen MC, Humann M, Stefaniak AB, Stanton ML, Liang X, et al. Clustering asthma symptoms and cleaning and disinfecting activities and evaluating their associations among healthcare workers. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 2019; 222: 873–883.
273. Lemiere C, NGuyen S, Sava F, ois Huaux F, Vandenplas O. Occupational asthma phenotypes identified by increased fractional exhaled nitric oxide after exposure to causal agents. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2014; 134: 1063–1067.
274. Mason P, Chiara Frigo A, Cristina Scarpa M, Maestrelli P, Guarnieri G. Cluster analysis of occupational asthma caused by isocyanates. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2018;

- 142: 2011-2012.e2.
275. Svanes Ø, Bertelsen RJ, L Lygre SH, Carsin AE, An JM, Forsberg B, et al. Cleaning at Home and at Work in Relation to Lung Function Decline and Airway Obstruction. *Am J Respir Crit Care Med* 2018; 197: 1157–1163.
276. Sunyer J, Zock JP, Kromhout H, Garcia-Esteban R, Radon K, Jarvis D, et al. Lung function decline, chronic bronchitis, and occupational exposures in young adults. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2005; 172: 1139–1145.
277. MCGovern TK, Goldberger M, Allard B, Farahnak S, Hamamoto Y, O’Sullivan M, et al. Neutrophils Mediate Airway Hyperresponsiveness after Chlorine-Induced Airway Injury in the Mouse. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2015; 52: 513–522.
278. Peroni DG, Bodini A, Corradi M, Coghi A, Boner AL, Piacentini GL. Markers of oxidative stress are increased in exhaled breath condensates of children with atopic dermatitis. *Br. J. Dermatol.* 2012; 166: 839–843.
279. Li J, Ji L. Adjusting multiple testing in multilocus analyses using the eigenvalues of a correlation matrix. *Heredity (Edinb).* 2005; 95: 221–227.
280. Wang X, Zhang Q, Liu D. Firth logistic regression for rare variant association tests. *Front. Genet.* 2014; 5.
281. Firth D. Bias Reduction of Maximum Likelihood. *Biometrika* 1993; 80: 27–38.
282. North B V, Curtis D, Sham PC. A Note on the Calculation of Empirical P Values from Monte Carlo Procedures. *Am. J. Hum. Genet* 2002; 71: 439–442.
283. Liu JZ, Mcrae AF, Nyholt DR, Medland SE, Wray NR, Brown KM, et al. A Versatile Gene-Based Test for Genome-wide Association Studies. *Am. J. Hum. Genet.* 2010; 87: 139–145.
284. Davis AP, Grondin CJ, Lennon-Hopkins K, Saraceni-Richards C, Sciaky D, King BL, et al. The Comparative Toxicogenomics Database’s 10th year anniversary: update 2015. *Nucleic Acids Res.* 2015; 43: D914–D920.
285. Song M-K, Lee H-S, Ryu J-C. Integrated analysis of microRNA and mRNA expression profiles highlights aldehyde-induced inflammatory responses in cells relevant for lung toxicity. *Toxicology* 2015; 334: 111–121.
286. Song M-K, Choi H-S, Lee H-S, Ryu J-C. Transcriptome Profile Analysis of Saturated Aliphatic Aldehydes Reveals Carbon Number-Specific Molecules Involved in Pulmonary Toxicity. *Chem Res Toxicol* 2014; 27: 1362–1370.
287. Zhang H, Chen Q, Dahan A, Xue J, Wei L, Tan W, Zhang G. Transcriptomic analyses reveal the molecular mechanisms of schisandrin B alleviates CCl<sub>4</sub>-induced liver fibrosis in rats by RNA-sequencing. *Chem. Biol. Interact.* 2019; 309: 108675.



288. Yuan X, Jonker MJ, de Wilde J, Verhoef A, Wittink FRA, van Benthem J, et al. Finding maximal transcriptome differences between reprotoxic and non-reprotoxic phthalate responses in rat testis. *J. Appl. Toxicol.* 2011; 31: 421–430.
289. O'Brien MA, Weston RM, Sheth NU, Bradley S, Bigbee J, Pandey A, et al. Ethanol-Induced Behavioral Sensitization Alters the Synaptic Transcriptome and Exon Utilization in DBA/2J Mice. *Front. Genet.* 2018; 9: 402.
290. Tachibana K, Takayanagi K, Akimoto A, Ueda K, Shinkai Y, Umezawa M, Takeda K. Prenatal diesel exhaust exposure disrupts the DNA methylation profile in the brain of mouse offspring. *J. Toxicol. Sci.* 2015; 40: 1–11.
291. Hancock DB, Chs S, Fhs T, Ple A. Meta-analyses of genome-wide association studies identify multiple novel loci associated with pulmonary function. *Nat Genet* 2010; 42: 45–52.
292. Li X, Howard TD, Moore WC, Ampleford EJ, Li H, Busse WW, et al. Importance of hedgehog interacting protein and other lung function genes in asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2011; 127: 1457–1465.
293. Jin Kim W, Nam Lim M, Hong Y, Silverman EK, Lee J-H, Hyun Jung B, et al. Association of Lung Function Genes with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Lung* 2014; 192: 473–480.
294. Obeidat M, Ding X, Fishbane N, Hollander Z, Ng RT, McManus B, et al. The Effect of Different Case Definitions of Current Smoking on the Discovery of Smoking-Related Blood Gene Expression Signatures in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Nicotine Tob. Res.* 2016; : 1903–1909.
295. Wang B, Zhang M, Ni Y-H, Liu F, Fan H-Q, Fei L, et al. Identification and characterization of NYGGF4, a novel gene containing a phosphotyrosine-binding (PTB) domain that stimulates 3T3-L1 preadipocytes proliferation. *Gene* 2006; 379: 132–140.
296. Schuliga M. NF-kappaB Signaling in Chronic Inflammatory Airway Disease. *Biomolecules* 2015; 5: 1266–1283.
297. Piirilä P, Wikman H, Luukkonen R, Kääriä K, Rosenberg C, Nordman H, et al. Glutathione S-transferase genotypes and allergic responses to diisocyanate exposure. *Pharmacogenetics* 2001; 11: 437–445.
298. Nadif R, Dizier MH, Bouzigon E, Demenais F, Pin I, Siroux V. Mieux comprendre l'hétérogénéité et l'étiologie de l'asthme : et environnementaux de l'asthme (EGEA). *La Lett. du Pneumol.* 2017; 20.
299. Agusti A, Bel E, Thomas M, Vogelmeier C, Brusselle G, Holgate S, et al. Treatable

- traits: toward precision medicine of chronic airway diseases. *Eur. Respir. J.* 2016; 47: 410–419.
300. Fajt ML, Wenzel SE. Asthma phenotypes and the use of biologic medications in asthma and allergic disease: The next steps toward personalized care. *J. Allergy Clin. Immunol.* Elsevier Ltd; 2015; 135: 299–310.
301. Ge CB, Friesen MC, Kromhout H, Peters S, Rothman N, Lan Q, Vermeulen R. Use and reliability of exposure assessment methods in occupational case–control studies in the general population: Past, present, and future. *Ann. Work Expo. Heal.* 2018; 62: 1047–1063.
302. Pénard-Morand C, Annesi-Maesano I. Air pollution: from sources of emissions to health effects. *Breathe* 2004; 1: 108–119.
303. Rapport d'étude de L'Anses. Étude exploratoire du coût socio-économique des polluants de l'air intérieur. 2014.
304. Wu AC, Kiley JP, Noel PJ, Amur S, Burchard EG, Clancy JP, et al. Current Status and Future Opportunities in Lung Precision Medicine Research with a Focus on Biomarkers. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2018; 198: 116–136.
305. Khayath N, Radu C, Choual I, Jilani S, Vecellio L, Domis N, De Blay F. Environmental exposure chambers (EEC): A novel tool for pathophysiological and pharmaceutical research. *Rev. Mal. Respir.* Elsevier Masson SAS; 2018; 35: 390–402.
306. Wild P, Mével H, Penven E, Zmirou-Navier D, Barbaud A, Bohadana A, Paris C. FeNO levels increase with degree of sensitisation in apprentices at risk of occupational asthma. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 2017; 21: 1194–1200.
307. Gautrin D, Ghezze H, Infante-Rivard C, Magnan M, L'Archevêque J, Suarathana E, Malo JL. Long-term outcomes in a prospective cohort of apprentices exposed to high-molecular-weight agents. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2008; 177: 871–879.
308. Quinot C, Dumas O, Henneberger PK, Varraso R, Wiley AS, Speizer FE, et al. Development of a Job-Task-Exposure Matrix to assess occupational exposure to disinfectants among U.S. nurses. *Occup Env. Med* 2017; 74: 130–137.
309. Quinot C, Amsellem-Dubourget S, Temam S, Sévin E, Barreto C, Tackin A, et al. Development of a bar code-based exposure assessment method to evaluate occupational exposure to disinfectants and cleaning products: a pilot study. *Occup Env. Med* 2018; 75: 668–674.
310. Ioannou S, Andrianou XD, Charisiadis P, Makris KC. Biomarkers of end of shift exposure to disinfection byproducts in nurses. *J. Environ. Sci. (China)* 2017; 58: 217–223.

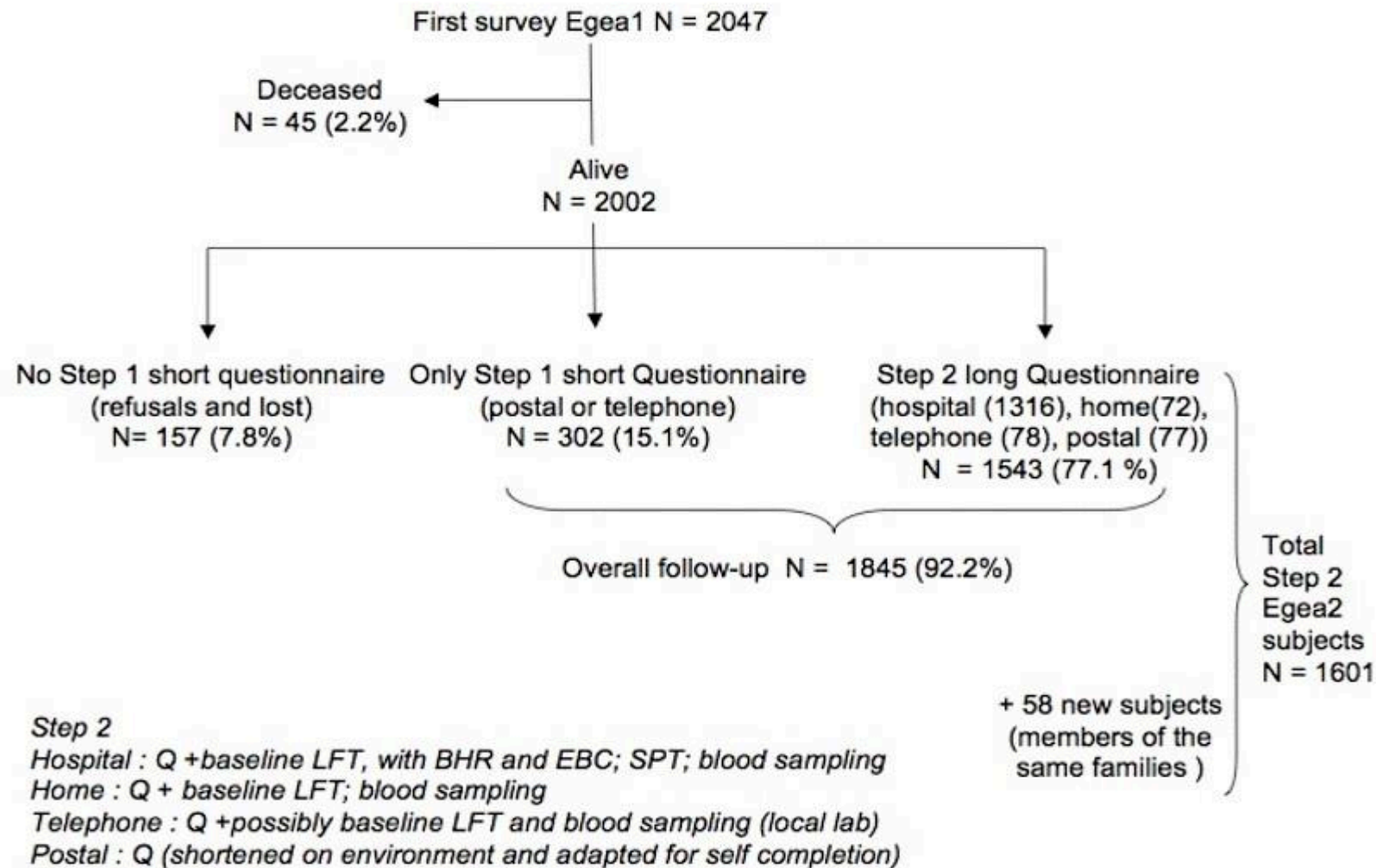
311. Erzurum SC. New Insights in Oxidant Biology in Asthma. *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2016; 13: 35–39.
312. Wild CP. The exposome: From concept to utility. *Int. J. Epidemiol.* 2012; 41: 24–32.
313. Guillien A, Lepeule J, Seyve E, Le Moual N, Pin I, Pison C, et al. Environment and lung function in adults with asthma: an exposome approach in the EGEA study. *Eur Respir J* European Respiratory Society; 2019. p. OA484.

## VIII ANNEXES

---

Annexe 1 : Représentation graphique de l'enquête de suivi EGEA2 .....	219
Annexe 2 : Comparaison des caractéristiques à EGEA2 des participants inclus et exclus des analyses de l'association entre les marqueurs biologiques liés au stress oxydant et l'asthme et ses caractéristiques. ....	220
Annexe 3 : Description des POFs en fonction du statut tabagique, du nombre de paquets par an ainsi que de la consommation journalière de tabac. ....	221
Annexe 4 : Associations entre POFs et caractéristiques de l'asthme ajusté sur paquets/année ou cig/jour. ....	222
Annexe 5 : Association entre 8-iso et durée asthme. ....	223
Annexe 6 : Association entre marqueurs de dommages et caractéristiques de l'asthme à EGEA2 chez les participants sans antécédents de maladie chroniques autre que l'asthme... ..	224
Annexe 7 : Corrélation entre les marqueurs biologiques liés au stress oxydant, le VEMS et le nombre de neutrophiles et d'éosinophiles. ....	225
Annexe 8 : Comparaison des caractéristiques à EGEA2 des participants inclus et exclus des analyses de l'association entre les POFs et l'évolution des caractéristiques de l'asthme entre EGEA2 et EGEA3.....	228
Annexe 9 : Comparaison des caractéristiques à EGEA2 des participants inclus et exclus des analyses de l'association entre les POFs et l'exposition professionnelle aux irritants. ....	229
Annexe 10 : Comparaison des caractéristiques à EGEA2 des participants inclus et exclus des analyses de l'association entre l'exposition professionnelle aux irritants et les endotypes d'asthme. ....	230
Annexe 11 : Analyse de sensibilité pour évaluer le biais du travailleur sain.....	231

**Annexe 1 : Représentation graphique de l'enquête de suivi EGEA2**

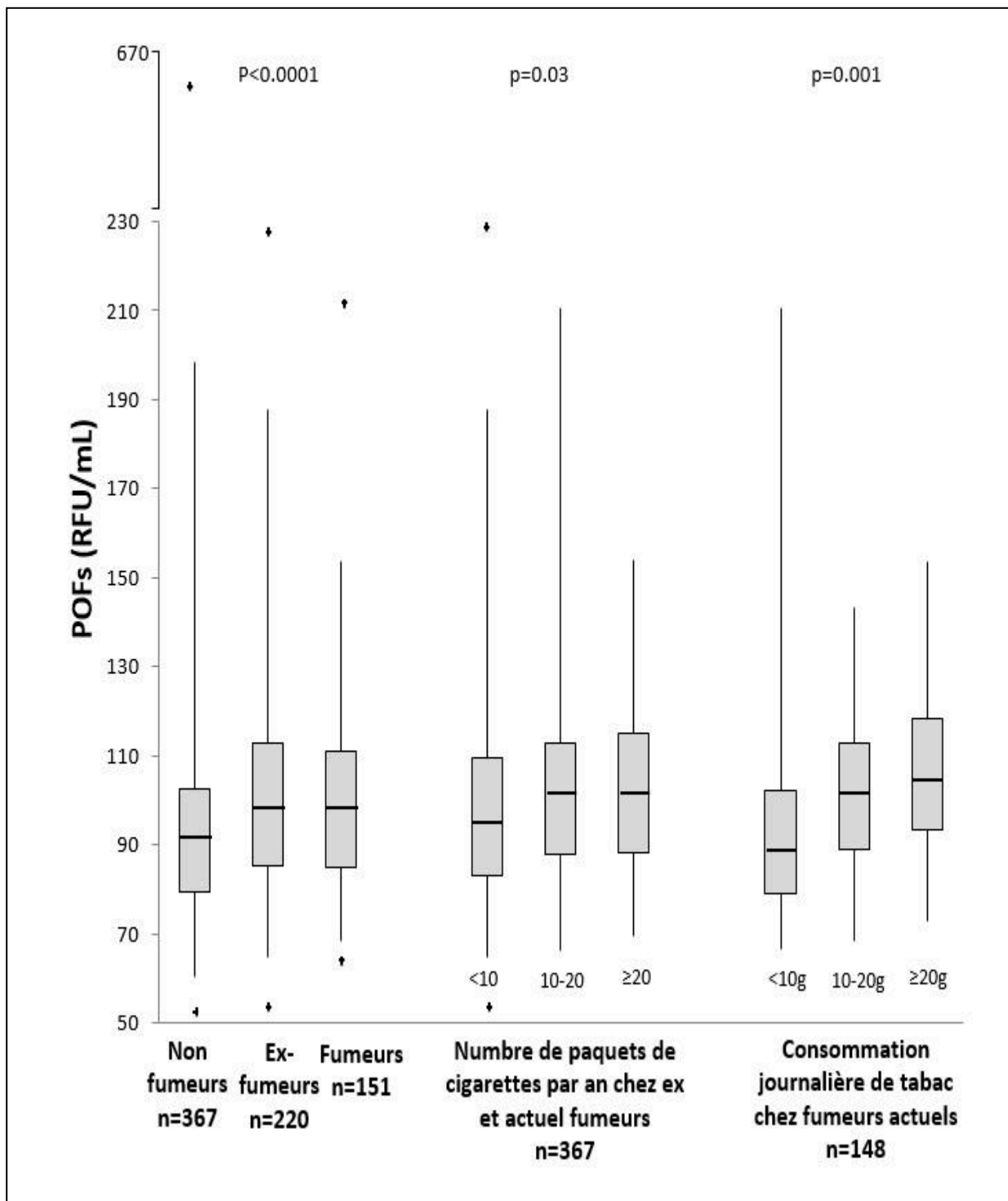


**Annexe 2 : Comparaison des caractéristiques à EGEA2 des participants inclus et exclus des analyses de l'association entre les marqueurs biologiques liés au stress oxydant et l'asthme et ses caractéristiques.**

Caractéristiques à EGEA2	Tous les participants n=1571		Participants inclus n=1388		Participants exclus n=183		
	n	%	n	%	n	%	
Age, ans, moyenne (ET)	1571	50.6	1388	51.2	183	46.5	0.23
Sexe, femme	1571	42.8 (16.5)	1388	43.0 (16.5)	183	40.7 (16.9)	0.08
Statut tabagique							
Non fumeurs	780	49.9	696	50.1	84	48.0	
Ex-fumeurs	422	27.0	380	27.4	42	24.0	0.24
Fumeurs actuel	361	23.1	312	22.5	49	28.0	
IMC, kg/m <sup>2</sup>							
< 20	149	10.7	145	10.6	4	14.8	
[20-25[	717	51.5	704	51.6	13	48.2	0.11
[25-30[	383	27.5	379	27.8	3	14.8	
≥ 30	143	10.3	137	10.0	6	22.2	
Asthme vie	1571	43.5	1388	44.2	183	37.7	0.09
Asthme actuel	580	85,0	572	88.8	58	86.2	0.55
Contrôle de l'asthme							
Non contrôlé	334	57.8	311	57.9	23	56.1	
Partiellement contrôlé	179	31.0	169	31.5	10	24.4	0.19
Contrôlé	65	11.2	57	10.6	8	19.5	
Tests cutanés positifs	1303	56.2	1281	56.3	22	50.0	0.56
IgE totales, ≥ 100 IU/mL	1396	43.0	1383	43.0	13	46.1	0.82
VEMS % prédit, moyenne (ET)	1387	102 (18.0)	1360	102 (18.1)	27	97.6 (15.1)	0.16
VEMS % prédit	1387	9.60	1360	9.70	27	3.70	0.29
Test à la méthacholine*, PD20 ≤4mg, %	866	44.0	851	44.3	15	26.7	0.17

ET : écart-type ; IMC : indice de masse corporelle ; VEMS: volume expiratoire maximal par seconde; IgE: Immunoglobuline E; \*test à la méthacholine effectué chez les participants ayant un VEMS <80% prédit; PD20: dose cumulée de méthacholine inférieure ou égale à 4mg causant une diminution de 20% du VEMS; † valeur de p du test de Chi2 pour les variables qualitatives et du test de Student pour les variables quantitatives.

**Annexe 3 : Description des POFs en fonction du statut tabagique, du nombre de paquets par an ainsi que de la consommation journalière de tabac.**



**Annexe 4 : Associations entre POFs et caractéristiques de l'asthme ajusté sur paquets/année ou cig/jour.**

	<b>Produits d'oxydation fluorescents (RFU/mL)</b>					
	Résultats de l'analyse principale		Ajustement sur le nombre de paquets-années		Ajustement sur la consommation journalière	
	n	OR <sub>ajusté</sub> (IC à 95%) <sup>a*</sup>	n	OR <sub>ajusté</sub> (IC à 95%) <sup>b*</sup>	n	OR <sub>ajusté</sub> (IC à 95%) <sup>c*</sup>
<b>Asthme vie (vs asthme vie)</b>	1325	0.98 (0.86; 1.13)	1316	0.98 (0.85; 1.12)	1322	0.99 (0.86; 1.13)
<i>Parmi les participants avec un asthme vie</i>						
<b>Asthme de l'adulte† (vs asthme de l'enfance)</b>	548	1.08 (0.85; 1.38)	543	1.07 (0.82; 1.39)	548	1.05 (0.82; 1.35)
<b>Asthme actuel (vs non asthmatique actuel)</b>	547	1.38 (0.92; 2.06)	542	1.39 (0.92; 2.11)	547	1.39 (0.95; 2.04)
<b>Asthme mal contrôlé** (vs asthme contrôlé)</b>	514	1.30 (1.02; 1.66)	510	1.32 (1.03; 1.69)	514	1.28 (1.01; 1.63)
<b>Crise d'asthme, 12 mois</b>	584	1.33 (1.07; 1.65)	579	1.39 (1.11; 1.73)	584	1.34 (1.08; 1.66)
<b>Exacerbations, 12 mois</b>	549	1.11 (0.81; 1.52)	544	1.13 (0.81; 1.58)	549	1.13 (0.82; 1.55)
<b>Symptômes respiratoires, 12 mois</b>	582	1.11 (0.81; 1.41)	577	1.10 (0.81; 1.51)	582	1.11 (0.83; 1.50)
<b>Traitements pour asthme, 12 mois<sup>§</sup></b>	587	1.29 (1.05; 1.52)	582	1.30 (1.02; 1.66)	587	1.30 (1.03; 1.63)
<b>Utilisation de CSI, 12 mois</b>	582	1.30 (1.05; 1.60)	577	1.32 (1.06; 1.65)	582	1.28 (1.04; 1.58)
<b>VEMS &lt; 80% prédit**</b>	579	1.34 (1.04; 1.74)	575	1.30 (0.99; 1.71)	579	1.33 (1.02; 1.73)
<b>Test à la métacholine PD20 ≤ 4mg**</b>	354	0.97 (0.65; 1.28)	353	0.97 (0.71 ; 1.33)	354	0.99 (0.72 ; 1.35)

<sup>a</sup>ajusté sur âge, sexe et statut tabagique; <sup>b</sup> ajusté sur âge, sexe et paquets-années; <sup>c</sup> ajusté sur âge, sexe et consommation journalière de tabac (g/jour); \*OR exprimé pour une augmentation d'un IQR.



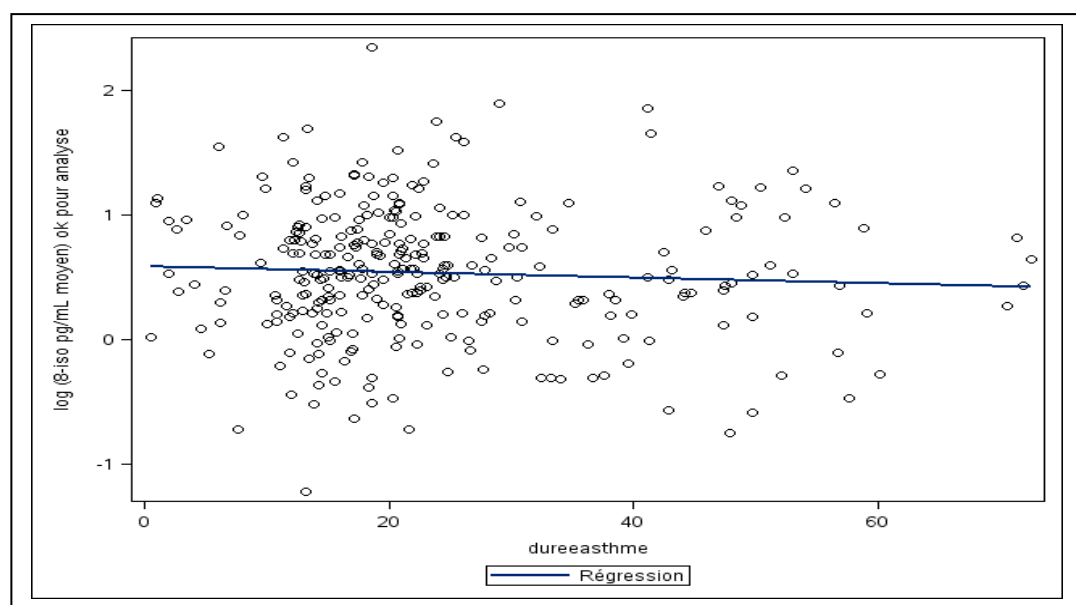
## Annexe 5 : Association entre 8-iso et durée asthme.

Variable « dureeasthme » = age à EGEA2 – age de début d’asthme

Description des variables

Variabes	n	Moyenne (ET) en années	Minimum en années	Maximum en années
<b>Durée de l’asthme</b>	573	23.75 (13.72)	-0.02	72.59
<b>Age à EGEA2</b>	614	39.06 (16.33)	15.80	79.28
<b>Age de début d’asthme</b>	573	15.29 (15.10)	0	65

Représentation graphique de la relation entre la concentration en 8-isoprostanes à EGEA2 et la durée de l’asthme



Association entre 8-isoprostanes et durée de l’asthme

	Durée de l’asthme			
	MG (Q1 ; Q3)	p univariée	Pajustée age, sexe, tabac	Pajustée sexe, tabac
<b>8-isoprostanes (pg/mL)</b>	3.45 (1.63 ; 7.70)	0.31	0.28	0.66

**Annexe 6 : Association entre marqueurs de dommages et caractéristiques de l'asthme à EGEA2 chez les participants sans antécédents de maladie chroniques autre que l'asthme.**

	8-isoprostanes (pg/mL)			Produits d'oxydation fluorescents (RFU/mL)		
	n	OR (IC à 95%)*	OR <sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*	n	OR (IC à 95%)*	OR <sub>ajusté</sub> (IC à 95%)*
<b>Asthme vie (vs non asthmatiques)</b>	640	1.36 (1.12; 1.64)	1.24 (1.20; 1.29)	1240	0.84 (0.73; 0.96)	0.99 (0.86; 1.14)
<i>Parmi les participants avec un asthme vie</i>						
<b>Asthme de l'adulte† (vs asthme de l'enfance)</b>	277	0.47 (0.31; 0.70)	0.58 (0.37; 0.90)	520	1.58 (1.26; 1.98)	1.10 (0.85; 1.41)
<b>Asthme actuel (vs non asthmatique actuel)</b>	278	0.63 (0.35; 1.14)	0.68 (0.39; 1.18)	518	1.43 (0.93; 2.13)	1.42 (0.94 (2.13)
<b>Asthme mal contrôlé** (vs asthme contrôlé)</b>	268	0.81 (0.57; 1.16)	0.85 (0.58; 1.24)	487	1.42 (1.11; 1.82)	1.32 (1.03; 1.71)
<b>Crise d'asthme, 12 mois</b>	298	0.84 (0.60; 1.18)	0.83 (0.59; 1.19)	555	1.24 (1.01; 1.52)	1.29 (1.03; 1.61)
<b>Exacerbations, 12 mois</b>	280	0.72 (0.44; 1.18)	0.76 (0.47; 1.23)	520	1.18 (0.90; 1.56)	1.11 (0.81; 1.52)
<b>Symptômes respiratoires, 12 mois</b>	294	0.69 (0.46 ; 1.05)	0.73 (0.49 ; 1.11)	553	1.15 (0.85 ; 1.54)	1.10 (0.81 ; 1.48)
<b>Traitements pour asthme, 12 mois§</b>	298	0.75 (0.54; 1.06)	0.78 (0.55; 1.10)	558	1.34 (1.07; 1.68)	1.32 (1.04; 1.68)
<b>Utilisation de CSI, 12 mois</b>	296	0.63 (0.44; 0.89)	0.69 (0.49; 0.98)	553	1.48 (1.21; 1.81)	1.33 (1.07; 1.66)
<b>VEMS &lt; 80% prédit**</b>	297	0.74 (0.44; 1.24)	0.90 (0.55; 1.46)	551	1.69 (1.32; 2.17)	1.43 (1.10; 1.86)
<b>Test à la métacholine PD20 ≤ 4mg**</b>	186	0.93 (0.63 ; 1.37)	0.85 (0.56 ; 1.30)	344	1.00 (0.76 ; 1.32)	0.97 (0.72 ; 1.31)

\*OR exprimé pour une augmentation d'un écart interquartile (distance entre le 25ème et le 75ème percentile) de chaque niveau de marqueur biologique; ajusté sur l'âge, le sexe et le statut tabagique; \*\*les résultats sont similaires quand on restreint l'analyse chez les participants avec un asthme actuel; †asthme de l'adulte défini pour un âge de début d'asthme ≥ 16 ans et l'asthme de l'enfance est le groupe de référence; §les traitements pour asthme définis par l'utilisation de traitements oraux ou inhalés due à des problèmes respiratoires dans les 12 derniers mois; CSI: corticoïdes inhalés seuls ou combinés à un B2-agoniste à longue durée d'action; VEMS : volume expiratoire maximal par seconde; PD20: dose provoquant une diminution de 20% du VEMS ; RFU : intensité relative de fluorescence.

**Annexe 7 : Corrélation entre les marqueurs biologiques liés au stress oxydant, le VEMS et le nombre de neutrophiles et d'éosinophiles.**

**A. Chez tous les participants (n=1388).**

	<b>POFs</b>	<b>8-isoprostanes</b>	<b>SOD</b>	<b>GPX</b>	<b>Catalase</b>	<b>VEMS % prédit</b>	<b>NEU cellules/mm3</b>	<b>EOS cellules/mm3</b>
<b>POFs</b>								
R	1	-0,02	-0,03	0,03	0,06	-0,03	0,09	-0,06
Valeur de p	-	0,63	0,24	0,22	0,04	0,28	0,00	0,04
N	1325	663	1320	1321	1313	1305	1315	1315
<b>8-isoprostanes</b>								
R		1	0,03	0,04	-0,05	-0,04	-0,07	-0,002
Valeur de p		-	0,49	0,33	0,16	0,34	0,09	0,96
N		688	679	679	674	687	681	681
<b>SOD</b>								
R			1	-0,02	0,05	0,01	0,03	-0,02
Valeur de p			-	0,43	0,08	0,61	0,32	0,51
N			1377	1375	1365	1349	1367	1367
<b>GPX</b>								
R				1	-0,05	0,01	-0,06	-0,03
Valeur de p				-	0,07	0,65	0,02	0,21
N				1378	1366	1350	1369	1369
<b>Catalase</b>								
R					1	0,01	0,06	-0,03
Valeur de p					-	0,76	0,03	0,28
N					1368	1340	1358	1358

R : coefficient de corrélation de Pearson ; SOD : superoxyde dismutase ; GPX : glutathion peroxydase ; POFs : produit d'oxydation fluorescent ; VEMS : volume expiratoire maximal par seconde ; NEU : nombre de neutrophiles ; EOS : nombre d'éosinophiles.

**B. Chez les participants avec un asthme vie (n=614).**

	<b>POFs</b>	<b>8-isoprostanes</b>	<b>SOD</b>	<b>GPX</b>	<b>Catalase</b>	<b>VEMS % prédit</b>	<b>NEU cellules/mm3</b>	<b>EOS cellules/mm3</b>
<b>POFs</b>								
R	1	-0,01	-0,03	0,03	0,04	-0,16	0,12	-0,04
Valeur de p		0,83	0,41	0,49	0,35	0,00	0,01	0,31
N	587	304	583	585	582	579	584	584
<b>8-isoprostanes</b>								
R		1	0,05	0,03	0,05	0,02	-0,04	-0,06
Valeur de p			0,35	0,59	0,34	0,69	0,43	0,26
N		315	310	310	310	314	312	312
<b>SOD</b>								
R			1	0,01	0,01	0,02	0,07	-0,06
Valeur de p				0,87	0,78	0,71	0,07	0,16
N			607	606	603	596	604	604
<b>GPX</b>								
R				1	-0,09	-0,02	-0,05	-0,01
Valeur de p					0,04	0,60	0,22	0,82
N					605	598	606	606
<b>Catalase</b>								
R					1	-0,01	0,12	-0,05
Valeur de p						0,78	0,00	0,18
N					606	595	603	603

R : coefficient de corrélation de Pearson ; SOD : superoxyde dismutase ; GPX : glutathion peroxydase ; POFs : produit d'oxydation fluorescent ; VEMS : volume expiratoire maximal par seconde ; NEU : nombre de neutrophiles ; EOS : nombre d'éosinophiles.

**C. Chez les participants non asthmatiques vie (n=714).**

	<b>POFs</b>	<b>8-isoprostanes</b>	<b>SOD</b>	<b>GPX</b>	<b>Catalase</b>	<b>VEMS % prédit</b>	<b>NEU cellules/mm3</b>	<b>EOS cellules/mm3</b>
<b>POFs</b>								
R	1	0,01	-0,03	0,03	0,07	0,05	0,06	-0,04
Valeur de p		0,92	0,43	0,37	0,06	0,15	0,08	0,31
N	738	359	737	736	731	726	731	731
<b>8-isoprostanes</b>								
R		1	0,01	0,06	-0,13	-0,02	-0,09	0,00
Valeur de p			0,83	0,27	0,01	0,72	0,09	0,94
N		373	369	369	364	373	369	369
<b>SOD</b>								
R			1	-0,04	0,08	0,03	-0,01	0,01
Valeur de p				0,25	0,04	0,49	0,75	0,69
N			770	769	762	753	763	763
<b>GPX</b>								
R				1	-0,02	0,02	-0,08	-0,05
Valeur de p					0,61	0,55	0,04	0,20
N				769	761	752	763	763
<b>Catalase</b>								
R					1	0,02	0,005	0,01
Valeur de p						0,58	0,89	0,86
N					762	745	755	755

R : coefficient de corrélation de Pearson ; SOD : superoxyde dismutase ; GPX : glutathion peroxydase ; POFs : produit d'oxydation fluorescent ; VEMS : volume expiratoire maximal par seconde ; NEU : nombre de neutrophiles ; EOS : nombre d'éosinophiles.

**Annexe 8 : Comparaison des caractéristiques à EGEA2 des participants inclus et exclus des analyses de l'association entre les POFs et l'évolution des caractéristiques de l'asthme entre EGEA2 et EGEA3.**

Caractéristiques à EGEA2	Tous les participants n=1571		Participants inclus n=1127		Participants exclus n=444		p <sup>†</sup>
	n	%	n	%	n	%	
<b>Age, ans, moyenne (ET)</b>	1571	42.8 (16.5)	1127	43,4 (16,2)	444	41,2 (17,3)	0,01
<b>Sexe, femme</b>	1571	50.6	1127	53,3	444	43,7	0,001
<b>Statut tabagique</b>							
<b>Non fumeur</b>	780	49.9	577	51,3	203	46,3	0,05
<b>Ex-fumeurs</b>	422	27.0	306	27,2	116	26,5	
<b>Fumeur actuel</b>	361	23.1	242	21,5	119	27,2	
<b>IMC, kg/m2</b>							
<b>&lt; 20</b>	149	10.7	121	10,9	28	10,1	0,08
<b>[20-25[</b>	717	51.5	572	51,3	145	52,2	
<b>[25-30[</b>	383	27.5	317	28,5	66	23,7	
<b>≥ 30</b>	143	10.3	104	9,3	39	14,0	
<b>Asthme vie</b>	1571	43,5	1127	43,4	444	43,7	0,91
<b>Asthme actuel</b>	682	85,0	489	85,5	193	83,9	0,61
<b>Crise d'asthme</b>	698	36,4	501	36,9	197	35,0	0,64
<b>Contrôle de l'asthme*</b>							
<b>Non contrôlé</b>	334	57.8	255	59,0	79	54,1	0,07
<b>Partiellement contrôlé</b>	179	31.0	136	31,5	43	29,5	
<b>Contrôlé</b>	65	11.2	41	9,5	24	16,4	
<b>Contrôle de l'asthme (binaire)*</b>							
<b>Partiellement/non contrôlé</b>	334	57,8	255	59,0	79	54,1	0,30
<b>Contrôlé</b>	244	42,2	177	41,0	67	45,9	
<b>POFs, RFU/mL, MG (Q1-Q3)</b>	1327	93,3 (79,9-106)	1127	93,4 (80,3-105)	200	92,7 (80,3-108)	0,64

ET : écart-type ; IMC : indice de masse corporelle

\*contrôle de l'asthme défini chez les participants avec un asthme actuel à EGEA2 et EGEA3 ; † valeur de p du test de Chi2 pour les variables qualitatives et du test de Student pour les variables quantitatives.

**Annexe 9 : Comparaison des caractéristiques à EGEA2 des participants inclus et exclus des analyses de l'association entre les POFs et l'exposition professionnelle aux irritants.**

Caractéristiques à EGEA2	Tous les participants n=1571		Participants inclus n=1240		Participants exclus n=331		p <sup>†</sup>
	n	%	n	%	n	%	
Age, ans, moyenne (ET)	1571	42.8 (16.5)	1240	44,2 (15,8)	331	37,4 (18,0)	<0,0001
Sexe, femme	1571	50.6	1240	52,3	331	44,1	0,01
Statut tabagique							
Non fumeur	780	49.9	606	48,9	174	53,9	0,01
Ex-fumeur	422	27.0	357	28,8	65	20,1	
Fumeur actuel	361	23.1	277	22,3	84	26,0	
IMC, kg/m <sup>2</sup>							
< 20	149	10.7	121	9,9	28	16,8	0,0002
[20-25[	717	51.5	622	50,8	95	56,9	
[25-30[	383	27.5	359	29,3	24	14,4	
≥ 30	143	10.3	123	10,0	20	12,0	
Asthme vie	1571	43,5	1240	43,5	331	43,5	0,99
POFs, RFU/mL, MG (Q1-Q3)	1327	93,3 (79,9-106)	1240	93,8 (80,6-106)	87	86,1 (72,9-99,7)	0,001 0,70*
Exposition professionnelle aux irritants							
Non exposé	1059	72,3	886	71,5	173	76,9	0,18
Moyen	297	20,3	256	20,7	41	18,2	
Elevé	108	7,4	97	7,8	11	4,9	

ET : écart-type ; MG : moyenne géométrique ; Q1 : 1<sup>er</sup> quartile ; Q3 : 3<sup>ème</sup> quartile ; † valeur de p du test de Chi<sup>2</sup> pour les variables qualitatives et du test de Student pour les variables quantitatives ; \* valeur de p du modèle ajusté sur âge, sexe, tabac.  
 IMC : indice de masse corporelle ; POFs : produits d'oxydation fluorescents ; RFU : intensité relative de fluorescence.

**Annexe 10 : Comparaison des caractéristiques à EGEA2 des participants inclus et exclus des analyses de l'association entre l'exposition professionnelle aux irritants et les endotypes d'asthme.**

Caractéristiques à EGEA2	Tous les participants n=1571		Participants inclus n=999		Participants exclus n=572		p <sup>†</sup>
	n	%	n	%	n	%	
Age, ans, moyenne (ET)	1571	42,8 (16,5)	999	44, 8 (15,8)	572	39,2 (17,1)	<0,0001
Sexe, femme	1571	50,6	999	54,3	572	44,2	0,0001
Statut tabagique							
Non fumeur	782	50,0	487	48,8	295	52,1	0,05
Ex-fumeur	422	27,0	290	29,0	132	23,3	
Fumeur actuel	361	23,1	222	22,2	139	24,6	
IMC, kg/m <sup>2</sup>							
< 20	149	10,7	95	9,5	54	13,7	0,01
[20-25[	717	51,5	501	50,2	216	55,0	
[25-30[	383	27,5	295	29,5	88	22,4	
≥ 30	143	10,3	108	10,8	35	8,9	
Asthme vie	1571	43,5	999	36,7	572	55,2	<0,0001
Asthme actuel	630	88,6	367	100	263	72,6	<0,0001
Score de symptômes d'asthme, médiane (min-max)	1507	0 (0-5)	966	0 (0-5)	541	0 (0-5)	0,72
IgE totale, ≥ 100 IU/mL	1396	43,0	996	40,7	400	49,0	0,004
VEMS % prédit, moyenne (ET)	1387	102 (18,0)	999	102 (18,5)	388	103 (16,8)	0,76
Neutrophiles, cellules/mm <sup>3</sup> , moyenne (ET)	1393	4005 (1395)	999	4012 (1410)	394	3990 (1358)	0,79
Eosinophiles, cellules/mm <sup>3</sup> , moyenne (ET)	1393	204 (161)	999	198 (163)	394	220 (155)	0,02
POFs, RFU/mL, MG (Q1-Q3)	1327	93,3 (79,9-106)	999	94,2 (80,7-107)	328	90,5 (77,4-101)	0,01
Exposition professionnelle aux irritants							
Non exposé	1059	72,3	714	71,5	345	74,0	0,53
Moyen	297	20,3	206	20,6	91	19,5	
Elevé	108	7,4	78	7,8	30	6,5	

ET : écart-type ; IMC : indice de masse corporelle ; POFs : produits d'oxydation fluorescents ; † valeur de p du test de Chi2 pour les variables qualitatives et du test de Student pour les variables quantitatives.



## Annexe 11 : Analyse de sensibilité pour évaluer le biais du travailleur sain.

### Associations entre score de symptômes d'asthme à EGEA1 et exposition professionnelle aux irritants chez les participants asthmatiques vie à EGEA2

Exposition professionnelle aux irritants	Scores de symptômes d'asthme à EGEA1					
	0 (ref)		1-3		4-5	
	n	OR (IC à 95%)	n	OR (IC à 95%)	n	OR (IC à 95%)
<b>Sans l'étape d'expertise</b>						
No exposé (ref)	30	1	94	1	110	1
Moyen	15	1	34	0.72 (0.35-1.51)	23	0.42 (0.19-0.90)
Elevé	1	1	17	-	20	-
<b>Avec l'étape d'expertise</b>						
No exposé (ref)	32	1	97	1	1	1
Moyen	13	1	32	0.81 (0.38-1.73)	16	0.55 (0.25-1.18)
Elevé	1	1	25	-	15	-

\*cinq niveaux de scores de symptômes d'asthme définis selon Pekkanen *et al.*

### Associations entre score de symptômes d'asthme à EGEA1 et exposition professionnelle aux irritants chez les participants non asthmatiques à EGEA2

Exposition professionnelle aux irritants	Scores de symptômes d'asthme à EGEA1					
	0 (ref)		1-3		4-5	
	n	OR (IC à 95%)	n	OR (IC à 95%)	n	OR (IC à 95%)
<b>Sans l'étape d'expertise</b>						
No exposé (ref)	281	1	100	1	0	-
Moyen	96	1	30	0.88 (0.55-1.40)	0	-
Elevé	38	1	12	0.89 (0.45-1.77)	0	-
<b>Avec l'étape d'expertise</b>						
No exposé (ref)	299	1	103	1	0	-
Moyen	86	1	30	1.01 (0.63-1.62)	0	-
Elevé	30	1	10	0.97 (0.46-2.05)	0	-

\* cinq niveaux de scores de symptômes d'asthme définis selon Pekkanen *et al.*

**Titre :** Exposition professionnelle aux agents irritants et asthme : rôle des marqueurs biologiques liés au stress oxydant.

**Mots clés :** endotypes d'asthme, exposition professionnelle, irritants, stress oxydant, marqueurs biologiques, interaction gène-environnement.

**Résumé :** L'exposition professionnelle aux irritants est un des facteurs de risque de l'asthme. Cependant, les mécanismes biologiques par lesquels elle affecte la santé respiratoire restent mal connus. Le rôle de la voie biologique du stress oxydant a été suggéré.

Les objectifs de la thèse sont d'étudier : 1) les associations entre des marqueurs biologiques liés au stress oxydant et l'exposition professionnelle aux irritants d'une part et l'asthme d'autre part; 2) les associations entre l'exposition professionnelle aux irritants et des endotypes d'asthme identifiés à partir de caractéristiques cliniques et biologiques; 3) les associations entre un grand nombre de gènes impliqués dans la voie métabolique du stress oxydant et les endotypes d'asthme et si ces associations étaient modifiées par l'exposition professionnelle aux irritants. L'ensemble de ces objectifs a été réalisé à partir des données des participants adultes de l'étude Épidémiologique des facteurs Génétiques et Environnementaux de l'Asthme (EGEA, n=1571).

Parmi les marqueurs biologiques étudiés, les produits d'oxydation fluorescents (POFs), un marqueur de dommages liés au stress oxydant, étaient associés à une exposition professionnelle élevée aux irritants et à plusieurs caractéristiques de l'asthme telles que des crises d'asthme, un mauvais contrôle de l'asthme, une utilisation de traitements pour l'asthme, et un asthme neutrophilique. Une exposition professionnelle élevée aux irritants était associée à l'endotype d'asthme caractérisé par un asthme de l'adulte, une fonction ventilatoire basse, des symptômes respiratoires, une concentration élevée en POFs et un nombre élevé de neutrophiles. Cet endotype d'asthme était également associé au gène *Phosphotyrosine Interaction Domain Containing 1 (PID1)*, et cette association était observée uniquement chez les participants non exposés aux irritants.

En conclusion, cette thèse apporte de nouvelles connaissances sur le rôle du stress oxydant dans l'association entre exposition professionnelle aux irritants et santé respiratoire.

**Title:** Occupational exposure to irritant agents and asthma: the role of biomarkers related to oxidative stress.

**Keywords:** asthma endotypes, occupational exposure, irritants, oxidative stress, biomarkers, biomarkers, gene-environment interaction.

**Abstract:** Occupational exposure to irritant agents is one of the asthma risk factors. However, the biological mechanisms by which irritants affect respiratory health remain poorly understood. The role of oxidative stress pathway was suggested.

The aims of the thesis are to study: 1) the associations between biomarkers related to oxidative stress and occupational exposure to irritants on the one hand, and to asthma on the other hand; 2) the associations between occupational exposure to irritants and asthma endotypes integrating clinical characteristics and biomarkers; 3) the associations between a large number of genes involved in oxidative stress pathway and asthma endotypes and whether these associations were modified by occupational exposure to irritants. Data from adult participants from the Epidemiological study of Genetic and Environmental factors of Asthma (EGEA, n=1571) were used.

Among the biomarkers studied, Fluorescent oxidative products (FOPs), a biomarker of damages related to oxidative stress, were associated both with high level of occupational exposure to irritants and with several asthma characteristics such as asthma attacks, poor asthma control, use of treatments for asthma, and neutrophilic asthma. High level of occupational exposure to irritants was associated with an asthma endotype characterized by adult-onset asthma, respiratory symptoms, poor lung function, high level of FOPs and neutrophils. This asthma endotype was also associated to *Phosphotyrosine Interaction Domain Containing 1 (PID1)* gene and this association was observed among unexposed participants only.

In conclusion, this thesis brings new knowledge on the role of oxidative stress in the association between occupational exposure to irritants and respiratory health.