

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université SAAD DAHLEB de Blida
Faculté des sciences agro-vétérinaires et biologiques
Département de Biologie



MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER

Science de la nature et de la vie

Option : Bio-signalisation Cellulaire et Moléculaire, Immunologie

Thème :

**Contribution à la recherche de l'implication des gènes du
complexe majeur d'histocompatibilité humain de classe II dans la
maladie cœliaque**

Préparé par :

MILIANI Maroua

Devant les jurys :

M^{me} EDDAIKRHA A.	Maitre assistant A, USD de Blida	Président
M^{me} CHAKHMA A.	Maitre assistant A, USD de Blida	Examineur
M^{me} CHELGHOUM H.	Maitre assistant A, USD de Blida	Examineur
Mr MEDDOUR Y.	Maitre assistant , HCA de Ain Naadja	Promoteur
M^{me} SAADI L.	Maitre de conférences B, USD de Blida	Co-promoteur

juin 2013

Année universitaire 2012/2013

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail

A ma très chère mère Fadila

Tu es l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

Je ne peux exprimer à travers ses lignes tous mes sentiments d'amour et de tendresse envers toi.

A la mémoire de mon père Abd El Kader

Le destin ne nous a pas laissé le temps pour jouir ce bonheur ensemble et de t'exprimer l'immense amour que je vous porte.

Puisse Dieu tout puissant vous accorder sa clémence, sa miséricorde et vous accueillir dans son saint paradis. ...

A toute ma famille

Avec toute mon estime, affection et respect, je vous souhaite santé, bonheur et prospérité.

A Tous mes Amis

Veillez accepter l'expression de mon amour, ma gratitude pour votre amitié, compréhension et encouragements.

Je vous souhaite beaucoup de réussite, de bonheur et prospérité.

A tous ceux ou celles qui me sont chers et que j'ai omis involontairement de citer.

A Tous Mes enseignants tout au long de mes études.

A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

REMERCIEMENTS

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.

J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive connaissance à Mme SAADI Leila, Enseignante chercheuse au sein de la faculté des sciences Agro-vétérinaires et biologiques de l'université de Saad Dahlab. Pour sa disponibilité et ses conseils précieux et leurs soutiens. Et de nous avoir offert une formation complète, tout au long de ces trois dernières années, tout d'abord en licence de biologie moléculaire et moléculaire, puis en master de Bio-signalisation Cellulaire et Moléculaire, Immunologie, qui nous a permis d'acquérir les connaissances nécessaires afin d'entreprendre notre travail de fin de cycle.

Je tiens à exprimer également toute ma gratitude au Mr MEDDOUR YANIS -Chef d'unité d'histocompatibilité et d'immunologie cellulaire au laboratoire d'immunologie de l'Hôpital central de l'armée (HCA)-, qui nous a fait l'honneur de nous encadrer tout au long de notre étude en nous offrant les meilleures conditions de travail ainsi que d'excellents conseils qui nous ont permis de mener à bien ce stage de fin de cycle.

J'adresse mes sincères remerciements à M^{me} EDDAIKRHA A. -Maitre assistant au département de Biologie de l'Université de Blida - d'avoir accepté de présider le jury.

J'exprime mes vifs remerciements à M^{me} CHAKHMA A. -Maître assistant au département de Biologie -et à M^{me} CHALGHOUM H. -Maître assistant au département de Biologie- d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.

J'adresse mes vifs remerciements au Pr CHAIB S. -Chef de service d'immunologie de l'Hôpital central de l'armée (HCA)-, de nous avoir si gentiment accueillis au sein de son service. Ainsi que pour le partage de ses connaissances, de son savoir et de ses encouragements tout au long de notre stage.

Mes vifs remerciements vont à tout le personnel d l'Hôpital Central de l'Armée (HCA) et en particulier à M^{me} KABBOUR NADIA et Mr ATIR MOURAD pour toute l'aide qu'ils m'ont donnée.

Mes sentiments de reconnaissances et mes remerciements vont également a l'encontre de toute personne qui a participé de prés ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

ملخص

المرض البطني هو مرض معوي ذاتي المناعة ناتج عن استهلاك المواد التي تحتوي على الدابوق (الغلوتين) لدى الأشخاص ذوي قابلية جينية للإصابة به. ويُمثل هذا المرض على المستوى النسيجي بضمور الزغابة المعوية. العامل الجيني الرئيسي المسبب لمرض البطني هو النظام التوافق الجيني.

لقد قمنا بدراسة التنوع الجيني لجزيئة نظام التوافق الجيني للقسم الثاني لدى 24 شخص جزائري مصاب بمرض البطني. وتحقيقاً لهذه الغاية قمنا باستعمال تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل المسبق باستخلاص الحمض النووي للمرضى من أجل تحديد نسب كل من النمط المظهري ، الوراثة والفرداني للمورثات DRB 1 و QBD1 لنظام التوافق الجيني للقسم الثاني لمرض البطني.

النتائج المتحصل عليها تثبت تدخل كل من الجزيئات DQ2 و QD8 والليل RD17 بالإضافة الى النمط الفرداني 5.2 في مرض البطني، وتجعلنا نفترض ان الاليلين DR13 و DQ6 يلعبان دوراً في الحماية ضد مرض البطني.

الكلمات المفتاح :

المرض البطني، الدابوق، نظام التوافق الجيني، التنوع الجيني، نظام التوافق الجيني BRD1، نظام التوافق الجيني BQD1.

RESUME

La maladie cœliaque est une entéropathie auto-immune déclenchée par le gluten alimentaire chez des sujets génétiquement prédisposés. Le facteur génétique inducteur principal de cette maladie est le système HLA. Dans notre travail, nous avons étudié le polymorphisme génétique des molécules HLA de classe II dans une population de 24 patients algériens atteints de la maladie cœliaque. Pour cela, nous avons utilisé une technique de typage générique : par la réaction de polymérisation en chaîne par amorces spécifiques de séquence (PCR-SSP), précédée par l'extraction de l'ADN génomique des patients, afin de déterminer les fréquences phénotypique, génotypique et haplotypique des gènes des locus DRB1 et DQB1 du complexe HLA de classe II dans la maladie cœliaque. Les résultats obtenus confirment l'implication des molécules DQ2 et DQ8, de l'allèle DR17 ainsi que l'haplotype 5.2 dans la maladie. Ils laissent également penser que les allèles DR13 et DQ6 pourraient constituer des allèles protecteurs contre la maladie cœliaque.

Mots clés : Maladie cœliaque, Gluten, Système HLA, Polymorphisme, HLA DRB1, HLA DQB1.

ABSTRACT

Celiac disease (CD) is an autoimmune enteropathy induced by ingestion of dietary gluten in genetically predisposed individuals, it reflects on the histologically by intestinal villous atrophy, the main genetic factor inducer of CD is the HLA system. We studied the genetic polymorphism of HLA class II molecules in a population of 24 Algerian patients with celiac disease. For this we used a generic typing technique: by the Polymère Chain Reaction-Specific Sequence Primers (PCR-SSP), preceded by extraction of genomic DNA of patients to determine the phenotypic, genotypic and haplotype frequencies of HLA DRB1 and HLA DQB1 genes. The results are correlated with those in the literature, Indeed, they allowed us to confirm the involvement of molecules DQ2 and DQ8, DR17 allele and the haplotype 5.2 in the MC, it's also suggest that the DR13 and DQ6 alleles could be protective against celiac disease.

Keywords: Celiac disease, gluten, HLA polymorphism, HLA DRB1, HLA DQB1.

LISTE DES ABREVIATIONS

AC : Anticorps

AAG : Anticorps Anti-Gliadine

ADN : Acide Désoxyribonucléique

BET : Bromure d'Ethidium

CAS : Cartridges

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

CPA : Cellule Présentatrice d'Antigène

EDTA : Acide Ethylène Diamine Tétracétique

EMA: Anticorps Anti-Endomysium

EDB: Elution Dilution Buffer

HLA: Human Leucocyte Antigène

IL : Interleukine

INF : Interféron

LB: Lymphocytes B

LDB: Lysis Dilution Buffer

LIE: Lymphocyte Intraépithélial

LT: Lymphocyte T

MC: Maladie Cœliaque

MEC: Matrice Extracellulaire

MMP: Métalloprotéase Matricielle

NK: Natural Killer

OR: Odds Ratio

P: Bras court chromosomique

Pc: Probabilité corrigée

PCR-SSR : Polymérase Chain Réaction-Spécifique Séquence Primers

RR : Risque Relative

q: Bras long chromosomique

TAE : Tris Acétate EDTA

TCR: cell Receptor des lymphocytes T

Th: Lymphocyte T helper

TGt : Transglutaminase tissulaire

Tpm: tour par minute

UV: Ultraviolet

WDB: Wash Dilution Buffer

WTS: Waste Tube

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Caractéristiques générales des patients et sujets témoins.....	16
Tableau II : Programme d'amplification SSP INNOTRAIN-Ready.....	20
Tableau III : Prévalence de la maladie cœliaque chez la population générale.....	Annexe 2
Tableau IV : Manifestation cliniques de la MC.....	Annexe 2
Tableau V : Maladies associés à la maladie cœliaque.....	Annexe 2
Tableau VI: Fréquence phénotypique des allèles HLA DRB1 chez les patients cœliaque et les témoins.....	Annexe 3
Tableau VII : Fréquence des allèles HLA DQB1 chez les patients cœliaques et les témoins.....	Annexe 3
Tableau VIII : Fréquence des allèles HLA DRB1 chez les patients cœliaques et les témoins.....	Annexe 3
Tableau IX : Fréquence de l'homozygotie et de l'hétérozygotie des allèles HLA DQB1chez les patients et les témoins (X étant n'importe quel allèle autre que DQ2 et DQ8).....	Annexe 3
Tableau X : Fréquence des haplotypes HLA DRB1*-BQB1* chez les patients et les témoins.....	Annexe 3

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Coupe histologique d'une muqueuse normale	4
Figure 2 : Coupe histologique d'une atrophie vilositaire totale.....	4
Figure 3 : Exemple d'une séquence primaire en acides aminés « peptides α -gliadine » : Noter l'abondance des résidus Proline (P) et Glutamine (Q) ...	6
Figure 4: Déamination par la transglutaminase tissulaire.....	7
Figure 5: Complexe épitope du peptide du gluten (α -gliadine) à la poche peptidique de la molécule DQ2.....	7
Figure 6 : Mécanisme de la maladie cœliaque.....	10
Figure 7: Haplotypes associées aux hétérodimères HLA-DQ2 et HLA-D.....	14
Figure 8 : Mécanisme général de la réaction de polymérisation en chaîne.....	
Figure 9 : Répartition des patients selon le sexe.....	24
Figure 10 : Répartition des s selon le sexe.....	25
Figure 11 : Répartition des patients diagnostiqués cœliaques suivant les signes cliniques.....	25 26
Figure 12 : Répartition des patients selon la présence ou non d'antécédents.....	26
Figure 13 : Fréquence phénotypique des allèles HLA DQ B1 chez les patients cœliaque et les témoins	27
Figure 14 : Fréquences des allèles HLA DBQ1 chez les patients cœliaques et les témoins.....	28
Figure 15 : Fréquences des allèles DRB1 chez les patients cœliaques et les témoins.	
Figure 16 : Fréquence de l'homozygotie et de l'hétérozygotie des allèles HLA DQB1 chez les patients et les témoins.....	29

SOMMAIRE

RESUME

LISTE DES ABREVIATION

GLOSSAIRE

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAU

INTRODUCTION	1
Chapitre I: RAPPELLES BIBLIOGRAPHIQUES.....	2
I.1.définition de la maladie.....	2
I.2. Epidémiologie	2
I.3. Histopathologie.....	2
I.5. Immunopathologie de la maladie.....	3
I.4.1. Antigènes.....	5
I.4.2. Anticorps associés a la maladie	7
I.4.3. Physiopathologie.....	9
I.5. Facteurs de risques environnementaux.....	11
I.5.1. Infections virale.....	11
I.5.2. L'allaitement maternel.....	11
I.6. Facteurs de prédisposition génétique.....	12
I.6.1. Définition du complexe majeur d'histocompatibilité humain	12
I.6.2. Autres gènes	15
Chapitre II: MATERIEL ET METHODE	
II.1. Matériel	16
II.1.1. Matériel biologique.....	16
II.2. Méthodes.....	16
II.2.1. Typage générique HLA de classe II DR, DQ.....	17

II.3. Testes Statistiques.....	23
--------------------------------	----

Chapitre III: RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. RESULTATS.....	24
-----------------------	----

III.1.1. Caractéristiques de la cohorte.....	24
--	----

III.1.2. Etude du génotype HLA DRB1 DQB1 par typage générique.....	27
--	----

III.2. Discussion.....	32
------------------------	----

III.2.1. Phénotype de la population pour la molécule HLA classe II DQ.....	32
--	----

III.2.2. Allèles HLA DQBI.....	33
--------------------------------	----

III.2.3. Allèles HLA DRBI.....	33
--------------------------------	----

III.2.4. Génotype HLA DRQ1 / DQB1.....	34
--	----

III.2.4. Haplotypes HLA DRB1 - DQB1.....	34
--	----

CONCLUSION.....	36
-----------------	----

REFERENCES

ANNEXES

INTRODUCTION

La discrimination du soi et du non soi, est l'élément fondamental de toute l'immunité en induisant un état de tolérance. La rupture de cette tolérance pour les antigènes du soi, pourrait conduire au développement des maladies auto-immunes qui est influencé par des facteurs génétiques et environnementaux (Chatenoud, 2007).

Les maladies auto-immunes peuvent être systémiques ou spécifique d'organe où la réponse auto-immune est dirigée exclusivement contre des composants d'un organe tel que la maladie cœliaque (Mayer, 2000). Cette dernière est une maladie auto-immune inflammatoire intestinale déclenchée par le gluten alimentaire chez des sujets génétiquement prédisposés. Parmi les facteurs de prédisposition génétiques, les gènes codants les molécules HLA de classe II DQ occupent le premier plan car près de 90 des patients expriment l'allèle HLA DQ2, le reste exprime dans leur grande majorité l'allèle HLA DQ8 (Terrazzano et *al.*, 2007 ; Steinele et *al.*, 2001).

L'objectif de ce travail est d'étudier, par techniques de typage générique par la réaction de polymérisation en chaîne par amorces spécifiques de séquence (PCR-SSP), le polymorphisme génétique des molécules HLA de classe II DRB1,DQB1, dans une population de 24 patients algériens atteints de la maladie cœliaque , en comparaison à une population de 25 sujets sains, également d'origine algérienne. Le but étant d'établir les fréquences phénotypique, génotypique et haplotypique des gènes des locus DRB1et DQB1 du complexe HLA de classe II dans la maladie cœliaque.

II.1. MATERIEL

II.1.1. Matériel biologique

Notre étude a été réalisée sur un échantillon de 24 patients cœliaques recrutés au niveau du service gastro-entérologie de l'Hôpital Central de l'Armée (HCA) de Ain Naadja. Un examen sérologique a été réalisé pour l'ensemble des sujets. Chaque patient dispose d'une fiche clinico-biologique répertoriant les paramètres nécessaires à notre étude.

Ces patients sont comparées à un groupe témoin composé de 25 sujets sains ne présentant aucune maladie chronique et sans antécédents familiaux de la maladie cœliaque ou autre entéropathie. Les caractéristiques générales des patients et des sujets témoins sont résumées dans le tableau I.

Tableau I : Caractéristiques générales des patients et sujets témoins

Caractéristiques	Patients	Témoins
Femme	15	17
Homme	9	8
Sexe ratio	1.66	2.13

II.2. METHODES

II.2.1. Typage générique HLA de classe II DR, DQ

II.2.1.1. Extraction de l'acide désoxyribonucléique génomique sur colonnes

Principe

Le kit « Quik gene » permet l'extraction de l'acide désoxyribonucléique (ADN) génomique à partir d'un échantillon de 200 µl de sang total sur acide éthylène diamine tétra acétique (EDTA). Une membrane poreuse ultrafine (80 µl) contenue dans les cartouches aux propriétés hydrophiles permet un procédé d'extraction de l'ADN génomique, sans contamination avec de hauts rendements et une grande pureté.

Etapas de la technique

L'extraction se déroule en trois étapes :

Première étape: la lyse cellulaire

Au moment de l'utilisation, Le sang total, conservé à -20 °C, dans des tubes EDTA, est décongelé a température ambiante.

Dans un tube eppendorff sont déposés 30 µl de protéine kinase auxquels sont ajoutés 200 µl de sang totale et 250 µl de solution de lyse (LDB). Le tout est agité pendant 15s et placé à la centrifugeuse. Par la suite, ce mélange est incubé pendant 2min au bain marie à 56 °C ; 250 µl d'éthanol 99 % sont ajoutés, le tout est agité pendant 15s puis placé à la centrifugeuse.

Le lysat obtenu est transféré dans une colonne Cartridges (CAS) posé sur un tube à déchets (WTS).

Deuxième étape: la précipitation de l'ADN

Le tube WTS est centrifugé à 8000 tpm /1mn à température ambiante. Le tube à déchets est remplacé (WTS) par un autre. Puis un premier lavage est effectué en ajoutant 750 µl de solution de lavage (WDB) dans la colonne et en centrifugeant à 8000 tpm /1mn. Le tube à déchets (WTS) est remplacé une deuxième fois par un autre, et un deuxième lavage est effectué en ajoutant 750 µl de solution de WDB dans la colonne et en centrifugeant à 8000 tpm /1mn.

Troisième étape: l'élution de l'ADN

Enfin le WTS est remplacé par un eppendorff et l'élution est effectué en ajoutant 200 µl de solution d'élution et en centrifugeant à 8000 tpm /1mn à température ambiante, ainsi l'ADN génomique obtenu est concentré 50ng/µl.

II.2.1.2. Quantification et contrôle de la quantité de l'acide désoxyribonucléique

Le dosage s'effectue par spectrophotométrie, elle permet de déterminer la concentration et la pureté de l'ADN extrait en déterminant l'absorbance (A) de l'ADN extrait à une longueur d'onde de 260/280 nm. Pour cette quantification nous avons utilisé un spectrophotomètre (BioPhotometer Eppendorf). Dans notre étude la concentration de l'ADN devait être comprise entre 50 ng/ μ l avec une absorbance comprise entre 1,65 –1,80.

II.2.1.3. Technique de typage par réaction de polymérisation en chaîne par amorce spécifique de séquence

Principe :

La réaction de polymérisation en chaîne utilise des amorces spécifiques d'un allèle lors de la réaction d'amplification.

Cette technique repose sur le principe selon lequel seules les amorces dont les séquences sont totalement complémentaires de la séquence cible d'un échantillon d'ADN se lient à cet ADN et donnent un produit d'amplification lors d'une réaction de PCR (résultat positif). Les amorces non complémentaires ne se lient pas à l'ADN et il ne se produit pas d'amplification (résultat négatif). L'ADN amplifié est détecté à l'aide d'une électrophorèse sur gel d'agarose incorporé de BET.

L'interprétation des résultats de la réaction de polymérisation en chaîne par amorce spécifique de séquence (PCR-SSP) est basée sur la présence ou l'absence de bandes spécifiques. En cas d'amplification réussie on obtient un fragment d'ADN de longueur définie, reconnaissable dans le gel sous forme d'une bande. En l'absence d'amplification cette bande n'apparaît pas. Un contrôle positif interne est intégré. Il permet de vérifier l'intégrité de la réaction PCR.

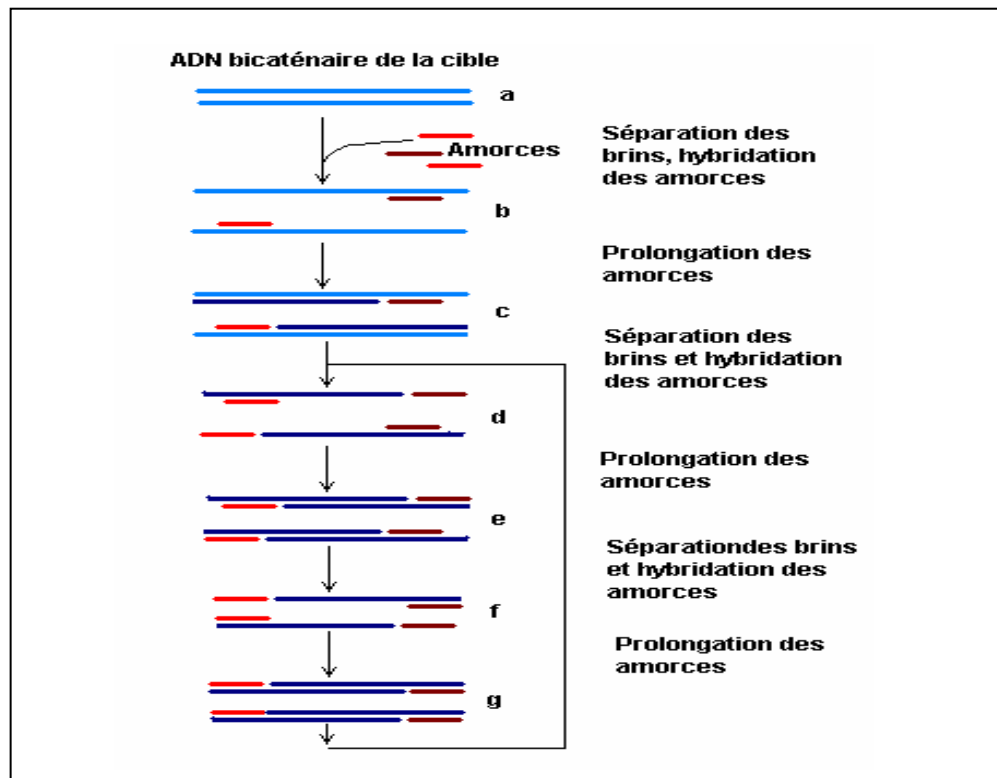


Figure 8: Mécanisme général de la réaction de polymérisation en chaîne (Newton et Graham, 1997)

Etapas de la technique

Le kit est : INNO-TRAIN/HLA-Ready Gene DRDQ Low (conservé à -20°C et retiré juste avant utilisation). Pour chaque patient, une plaque de 32 puits est préparée.

Pré amplification

Dans un tube Eppendorff 200 μl d'eau distillée stérile et 100 μl du tampon PCR (conservé à -20°C) sont ajoutés. Le tube est vortexé pendant 15 secondes. 10 μl de ce mélange sont déposés dans le premier puits de contrôle négatif.

Après cela, 60 μl d'ADN génomique (50ng/ μl) préalablement vortexé pendant 20 secondes et 04 μl de taq polymérase sont ajoutés. Le tout est vortexé pendant 20 secondes et 10 μl de ce mélange réactionnel sont déposés dans chaque puits de la plaque, à l'exception de puits de contrôle négatif. Afin d'éviter une contamination des amorces, nous avons fait

attention à ce que l'extrémité de la pipette n'entre pas en contact avec les amorces. Pour cela le mélange est déposé sur la paroi des puits.

Les tubes de réaction de la plaque sont hermétiquement fermés à l'aide d'un couvercle afin d'éviter l'évaporation.

Amplification

Une fois que les plaques sont prêtes. Elles sont placées dans le thermocycleur (Applied Biosystems 9700), préalablement préchauffé pour l'amplification. Un programme spécifique INNOTRAIN-Ready est lancé et l'amplification dure 1 heure 35 minutes.

Tableau II : Programme d'amplification SSP INNOTRAIN-Ready

Etapes	Température	Temps	Nombre du cycle
Dénaturation initiale	96°C	02mn	1 cycle
Dénaturation	96°C	15 s	} 10 cycles
Hybridation- Elongation	65°C	60 s	
Dénaturation	96°C	10 s	} 20 cycles
Hybridation	61°C	50 s	
Elongation	72°C	30 s	
Elongation terminale	4°C	07 mn. (∞)	

II.2.1.4. Révélation des amplicons par électrophorèse sur gel d'agarose

Préparation du tampon Tris Acétate EDTA

Le tampon tris acétate EDTA (TAE) est préparé en mélangeant 242 gr de tris base et 57,1 ml d'acide acétique et 100 ml d'EDTA. Ce mélange est ajouté à 1000 ml d'eau distillée.

Le PH de la préparation est ajusté à 8,5 en utilisant des pastilles de KOH ou NaOH. La solution obtenue est concentré 50X. Elle est donc diluée la solution afin d'obtenir une solution concentré 1X.

Préparation du gel d'agarose à 2% :

Le gel d'agarose à 2% est préparé en mélangeant 6gr d'agarose (Genagarose*) à 300 ml de tampon TAE dans un bécher et en mettant le tout au micro-onde pendant 5 min ou jusqu'à dissolution totale. Entre temps, le porte gel et les applicateurs sont préparés et déposés sous la hotte à flux laminaire (FLUFRANCE).

Quand le gel est prêt, il est mis sous la hotte ou 20 µl de BET lui sont ajoutés. Le gel est versé délicatement dans le porte gel pour empêcher la formation de bulles d'air et les applicateurs sont placés tout doucement pour créer des puits de 10µl.

Le gel doit reposer pendant 15min sous la hotte chimique à la température ambiante jusqu'à la polymérisation

L'électrophorèse du GEL d'agarose :

Après la polymérisation de l'agarose, le gel est placé dans la cuve d'électrophorèse contenant du TAE 1X et les applicateurs sont retirés délicatement afin de ne pas créer de brèches. Les puits du gel doivent être complètement recouverts de tampon. Dans chaque puits, 10 µl du produit de PCR sont déposés à l'aide d'une micropipette à 8 canaux. L'électrophorèse se fait à 160 volts pendant 25 min.

Les bandes d'ADN ainsi formées sont révélées et visualisées par marquage au bromure d'éthidium BET et observées sous lumière UV à l'aide d'un équipement de capture de photo (GEL DOC XR Biorad).

Interprétation des résultats :

Les résultats sont interprétés à l'aide des tableaux fournies dans le kit et du logiciel INNO TRAIN DR-DQ (HLA-READY GENE DR-DQ Low). Ce programme a permis de révéler l'allèle ou le groupe d'allèles correspondant. Sur la photographie les produits

apparaissaient sous forme de bandes. Les bandes spécifiques sont exprimées en nombre de paires de bases en référence au marqueur utilisé pour l'électrophorèse.

II.3. TESTS STATISTIQUES

II.3.1. Fréquence allélique, phénotypique et haplotypique

La transmission des allèles HLA suit un mode autosomal codominant, la fréquence allélique des gènes HLA DRB1 et HLA DQB1 est déterminée par comptage des sujets portant un phénotype donné en tenant compte des homozygote qui sont comptabilisés deux fois.

Les fréquences phénotypiques et haplotypiques sont évaluées par le même procédé sauf que l'homozygote est compté une seul fois.

II.3.2. Odds Ratio

Odds Ratio (OR) permet d'apprécier l'intensité de l'association entre un marqueur et une maladie. Son évaluation dans cette étude a été obtenue par le logiciel COMPAR 2. Ce même logiciel permet de déduire le degré de signification « p »

$$\text{OR} = \frac{\frac{R_1}{1-R_1}}{\frac{R_0}{1-R_0}}$$

R_1 : personnes exposées

R_0 : personnes non-exposées

- Si : $P < 0.05$: est significatif.
- Si : $P < 0.01$: Très significatif.
- Si : $P < 0.001$: Hautement significatif.
- Si : $P > 0.05$: Non significatif.

II.3.3. Risque relatif

Le risque relatif (RR) est calculé afin de mettre en évidence une association entre le facteur de risque et de la maladie étudiée. Il correspond au rapport des incidences de la maladie chez les personnes exposées (R_1) et chez les personnes non-exposées (R_0).

$$RR = \frac{R_1}{R_0}$$

Si le risque relatif est supérieur à 1, on suppose une association entre le facteur de risque et la maladie. Toutefois, un test de X^2 est nécessaire pour vérifier si cette association est significative.

I.1.DEFINITION DE LA MALADIE

La maladie cœliaque (MC), décrite depuis maintenant près 2000 ans par Aretaeus de Cappadoce est une entéropathie inflammatoire chronique, d'origine auto-immune induite par l'ingestion de gluten, survenant chez des sujets génétiquement prédisposés (Green, 2007 ; Moodie et Ciclitira, 2001). Elle se traduit, sur le plan histologique, par une atrophie villositaire intestinale. Régressive après exclusion alimentaire du gluten de blé et des prolamines équivalentes des autres céréales réputées toxiques telles que le seigle, l'orge et de façon incertaine, l'avoine (Tkoub, 2008).

I.2. EPIDEMIOLOGIE

La maladie cœliaque peut survenir à tout âge. Grâce à l'essor des tests sérologiques, des études épidémiologiques ont pu être menées et ont révélé que la maladie se développe dans les foyers de façon comparable. La prévalence mondiale de la maladie est estimée à 1 % (Dube *et al.*, 2005 ; Van Heel *et al.*,2006) dans la population générale et augmente jusqu'à 33 % chez les populations dites « à risque » (tableau III de l'annexe 1).

La survenue d'une maladie cœliaque est 10 à 100 fois supérieure à la population générale:

- Chez les parents au 1er degré, elle varie de 1/50 à 1/10 (Ellis, 1981).
- Chez les jumeaux homozygotes, on retrouve un taux de concordance de 70%.
- Dans la fratrie, 30% ont un haplotype HLA identique (Romino, 2000).

Dans l'Est algérien, la prévalence de la maladie cœliaque est de 1,4 % à Guelma, 1,7 % à Mila et 0,88 % à Khanchela (Benatallah, 2009). et dans la ville d'Oran, la prévalence de la maladie cœliaque chez des enfants de moins de 15 ans et de 1,09% (Boudraa *et al.*, 2008) .

I.3. HISTOPATHOLOGIE

Les aspects histologiques décrits dans la maladie cœliaque (Oberhuber, 2000) sont les suivant : (figure 2 ; figure 3).

- Atrophie villositaire correspond aux lésions les plus sévères de la maladie cœliaque. L'atrophie villositaire est une lésion de villosité apparait lors d'une réaction inflammatoire de l'intestin grêle.

Concernant l'analyse histologique, trois degrés d'atrophie villositaire sont pris en compte : l'atrophie villositaire totale (AVT), l'atrophie villositaire sub-totale (AVST) et l'atrophie villositaire partielle (AVP).

- Augmentation de la lymphocytose intra épithéliale (LIE): il s'agit du premier et du plus sensible indice d'atteinte de la muqueuse par le gluten ; un nombre supérieur à 40 lymphocytes pour 100 cellules épithéliales est un marqueur de processus immunologique, cette augmentation des LIE est beaucoup plus importante que celle observé dans les autres étiologies associées à une atrophie villositaire (Patey-Mariaud de serre et *al.*, 1998 ; Guy-Grand et *al.*, 1998).

- Infiltrat inflammatoire de la lamina propria avec prédominance de cellules plasmocytaire, situé préférentiellement à la partie supérieure de la muqueuse. Les polynucléaire éosinophiles et lymphocytes T sont également augmentés, notamment les lymphocytes T cytotoxiques et les lymphocytes T Helper. Des polynucléaire neutrophiles peuvent être observées (Matysiak-Budnik et *al.*, 2006).

- Hyperplasie cryptique (HC) : il s'agit de la première modification architecturale, induite par les facteurs de croissance tel que l'hépatocyte growth factor et le keratinocyte growth factor qui sont libérées par les cellules mésenchymateuses et par les lymphocytes intra-épithéliales à fin d'accélérer le renouvellement épithélial (Oberhuber, 2000).

- Entérocytes présentent une diminution de leur taille dans des stades avancés de la maladie cœliaque. En cas d'atrophie villositaire totale, les cellules de la surface épithéliale sont altérées, cuboïdes, dédifférenciées, basophiles avec un cytoplasme vacuolisé (Patey-Mariaud de serren et *al.*, 2000).

I.4. Immunopathologie de la maladie

La maladie cœliaque est la conséquence d'une réponse immunitaire inadaptée à la gliadine alimentaire, dans laquelle des auto-anticorps auraient un rôle pathogénique important (Mayer et Orgiazzi, 2003).

I.4.1. Antigènes

I.4.1.1. Gluten

Le blé, ou plus précisément le gluten, est le déclencheur majeur, connu et indispensable au développement de la maladie cœliaque.

Le gluten est un ensemble de protéines de stockage, qui se subdivise en 2 groupes, les prolamines (solubles dans l'éthanol) et les gluténines (solubles dans l'eau et les solutions salines). Les prolamines du blé sont les gliadines. Pour les céréales apparentées, il s'agit des hordéines et des sécalines, respectivement pour l'orge et le seigle (Vader et *al.*, 2003a).

La gliadine est la fraction la plus toxique du grain de blé, à un poids moléculaire relativement bas (16-40) KD. Sur la base de leur mobilité électrophorétique, les gliadines se subdivisent en quatre groupes (α , γ/β et ω) (Arentz-Hansen et *al.*, 2004). Les protéines de la gliadine sont hétérogènes, elle présente des différences au niveau de divers parties de la molécule, environ 35 % de la molécule est organisée sous la forme d'une hélice α , alors que 35 % sont des coudes β . Le reste de la molécule est désordonné (Koning, 2005).

Le gluten a une composition très riche en proline (15 %) et en glutamine (35 %) (figure 3). La forte proportion en proline (P) et en glutamine (Q) rend cette protéine relativement résistante à la digestion protéolytique par les enzymes gastriques, pancréatiques et de la bordure en brosse. De plus la présence répétée de ces résidus fait de la protéine le substrat préféré de la transglutaminase tissulaire (Koning, 2005). Certains composants du gluten ont été clairement incriminés : les gluténines de haute masse molaire (Dewar et *al.*, 2006) et l' α -gliadine, avec plus particulièrement le peptide immunodominant, 33-mer, p57-89 (Shan et *al.*, 2002) et le peptide nonimmunodominant, 13-mer, p31-43 (Di Sabatino et *al.*, 2006)

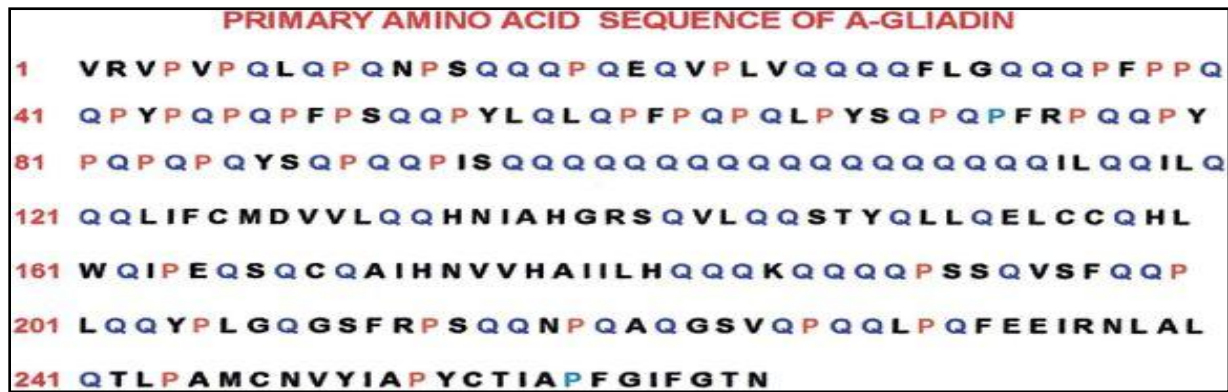


Figure 3 : Exemple d'une séquence primaire en acides aminés « peptides α -gliadine » :
 Noter l'abondance des résidus Proline (P) et Glutamine (Q) (Koning, 2005).

I.4.1.2. Transglutaminase tissulaire

La transglutaminase tissulaire (TGt) est une enzyme de poids moléculaire 85KD ubiquitaire multifonctionnelle calcium dépendante (Fesus et Piacentini, 2002), située dans l'endomysium de la muqueuse intestinale, et dont la sécrétion est augmentée lors d'une altération cellulaire ou d'un processus inflammatoire notamment dans la MC.

Cette enzyme est capable, outre sa fonction de maintenir l'intégrité tissulaire du tissu conjonctif par la formation des liaisons peptidiques « crosslinking », de déaminer la glutamine en acide glutamique chargé négativement (Henderson et *al.*, 2007 ; Kim et *al.*, 2004) (figure 4).

Le but de cette déamidation est de renforcer l'accroche à la poche peptidique des molécules HLA DQ2/DQ8 contenant des résidus chargés positivement, conduisant à la formation des complexes gliadine- TGt et leur présentation aux LT CD4+ du chorion, qui ne connaissent les peptides de la gliadine qu'après leur déamidation (Molberg et *al.*, 2001 ; Camara et *al.*, 2009) (figure 5).

Les nouveaux épitopes formés lors de tels complexes entrainerait une perte de la tolérance orale au gluten ainsi qu'à la TGt avec pour conséquence, la formation d'anticorps anti-TGt (Moustakas et *al.*, 2000 ; Arentz-Hansen et *al.*, 2000).

Le gène de la TGt est un gène communément exprimé. Au cours de la MC, aucune association avec l'éventuelle transmission d'allèles spécifiques de la TGt n'a été mise en évidence. Aucune modification du gène n'a été retrouvée dans les familles de malades

cœliaques. Le gène de la TGt peut donc être exclu comme facteur génétique associé à la pathogénèse de la MC (Van Belzen et *al.*, 2001).

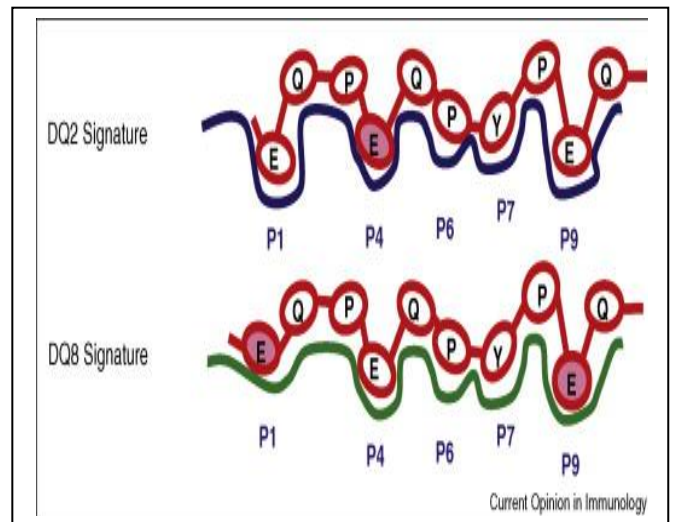
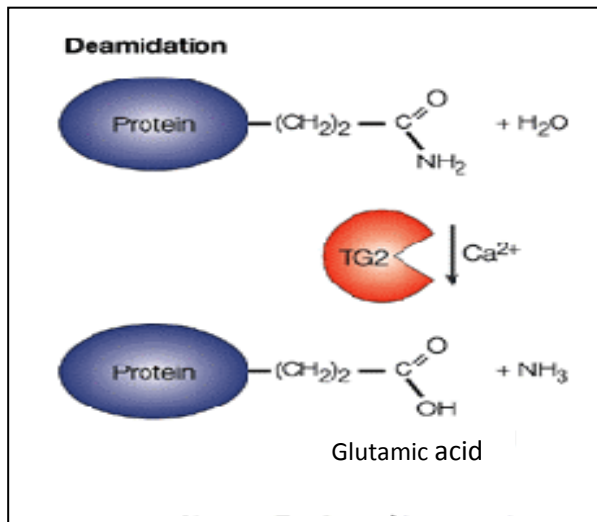


Figure 4 : Déamination par la transglutaminase tissulaire (Sollid, 2002).

Figure 5 : Complexe épitope du peptide du gluten (α -gliadine) à la poche peptidique de la molécule DQ2 (Qiao et *al.*, 2009).

I.4.2. Anticorps associés à la maladie cœliaques

Plusieurs anticorps (AC) spécifiques peuvent être mis en évidence dans le sérum des patients atteints de la maladie cœliaque.

I.4.2.1. Anticorps antigliadines d'isotypes IgA / IgG

Les anticorps antigliadines (AAG) sont dirigés contre la fractions alcool-soluble du gluten de blé, qui constitue une partie importants des protéines de cette céréales (Mascart et Ocmant, 1998 ; Farrel et *al.*, 2001 ; Vahedi et *al.*, 2001). La présence des AAG dans le sang est généralement recherchée par une technique immuno-enzymatiques (Elisa) (Walker, 1988), en utilise comme antigène de la gliadine non purifiée.

Les IgA-AGA sont plus sensibles et plus spécifiques que les IgG (Lamireau, 2008).

I.4.2.2. Auto- anticorps antiendomysium d'isotypes IgA

L'endomysium est le tissu conjonctif disposé autour des fibres musculaires lisses du tube digestif (Mascart et Ocmant, 1998). La présence auto- anticorps antiendomysium (EMA) de type IgA est parfaitement corrélée à la maladie, puisque sa spécificité est estimée à environ 99% et sa sensibilité dépasse 90%. Sa détection nécessite l'immunofluorescence indirecte utilisant comme substrat, l'œsophage du singe ou le cordon ombilical humain (Rittmeyer, 1996). De plus elle a été démontré que la cible antigénique principale (ou unique) des EMA est l'enzyme transglutaminase tissulaire (Van Heel DA et *al.*, 2006).

I.4.2.3. Auto- anticorps anti-transglutaminases d'isotypes IgA / IgG

Les transglutaminases tissulaires peuvent se lier aux glutens et former des super antigènes. Ces « complexes enzyme/peptides » sont responsables de la sécrétion des auto- anticorps antitransglutaminases tissulaires (AC anti-tTG) par les lymphocytes B (Di Sabatino *et al.*, 2009).

L'AC anti-tTG peut inhiber les effets du transforming growth factor- β (TGF- β), élément indispensable à la formation des villosités intestinales, ce qui inhibe la différenciation des cellules épithéliales cryptiques de la muqueuse intestinale (Herzog, 2000).

Le développement de tests immunoenzymatiques de type Elisa, utilisant comme antigène une TGt recombinante d'origine humaine ou animal permet de détecter et de quantifier les AC anti-tTG de type IgA avec une sensibilité et une spécificité comparable à celles des EMA (Tommasini et *al.*, 2004 ; Van Heel DA et *al.*, 2006).

I.4.2.4. Auto- anticorps anti-réticuline

L'association de ces anticorps à la maladie cœliaque a été rapportée par Seach en 1976. Ces anticorps se lient à la réticuline tissulaire de différents organes de rongeurs. Il existe différents types d'anticorps anti-réticuline, et seul le type R1 d'isotype IgA est typique de la MC. Les anticorps anti-réticuline de classe IgA sont recherchés par immunofluorescence indirecte sur coupe de tissus murins (Mascart et Ocmant, 1998).

I.4.3. Physiopathologie

La maladie cœliaque est une maladie auto-immune de physiopathologie complexe, aux manifestations cliniques variées, survenant chez un sujet génétiquement prédisposé et régressive sous régime sans gluten (RSG) (Tkoub, 2008).

Lors de la digestion du gluten (prolamine et glutinine). Le passage de la lumière de l'intestin vers la lamina propria est une étape décisive dans le développement de la maladie (Fasano, 2001).

Schumann et al (2008) ont mis en lumière le mécanisme de transcytose du peptide 33-mer de l' α -gliadine mettant en jeu l'endocytose par la voie des clathrines. Matsiak-Budnik et al (2008) ont montré le passage des peptides 13-mer et 33-mer vers la lamina propria par un mécanisme de rétrotranscytose via un récepteur à la transferrine. A la différence de la transcytose, la rétrotranscytose est un transport protégé des peptides de la gliadine. En effet, ces derniers sont couplés à des immunoglobulines A (IgA). Le transport s'effectue grâce à la reconnaissance des IgA par la transferrine. Il a aussi été montré qu'en présence de gliadine, les entérocytes sécrètent la zonuline, une protéine analogue de la toxine du choléra. Cette protéine déclenche une cascade de phosphorylations qui aboutit à une dérégulation des jonctions serrées. Par conséquent, un passage anormal des macromolécules serait aussi favorisé par voie paracellulaire (Thomas et *al.*, 2006).

La toxicité du gliadine est d'autant plus grande si celui-ci subit une réaction de désamination par les transglutaminases tissulaires de type 2 (Maiuri et *al.*, 2003 ; Shan et *al.*, 2005). Cette réaction entraîne l'apparition de charges négatives en transformant une glutamine en glutamate. L'apparition d'une charge permet une plus grande affinité avec HLA-DQ2 et l'apparition de deux charges facilite l'ancrage avec le HLA-DQ8 (Henderson et *al.*, 2007). Les complexes transglutaminase-gliadine déamidée sont captés par les macrophages et les cellules dendritiques porteurs de l'HLA-DQ2 ou HLA-DQ8.

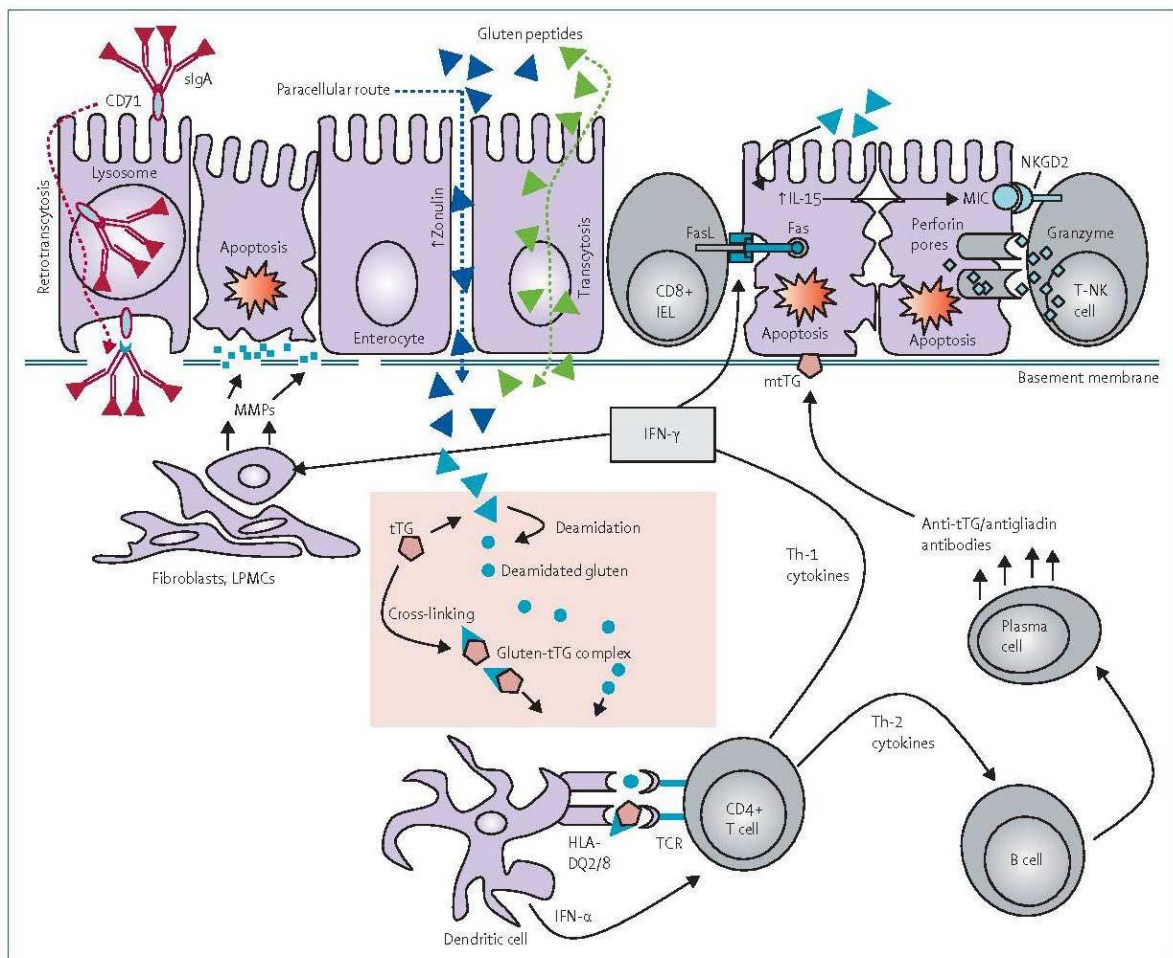


Figure 6 : Mécanisme de la maladie cœliaque (Di Sabatino et al., 2009).

Le complexe est ensuite présente aux lymphocytes T CD4 + spécifiques du chorion exprimant le récepteur T (TcR) alpha /bêta, qui vont être activé (Henderson et al., 2007). Après l'activation des clones T CD4+, il s'ensuit leur proliférations, différenciations en deux sous populations Th₁ ET Th₂ (figure 6).

Une réaction inflammatoire de type Th₁ avec production de cytokines inflammatoires dont l'interféron-γ (IFN-γ) entraînant une inflammation. L'interféron gamma induit l'activation de la voie extrinsèque de l'apoptose en induisant l'expression de FAS et du récepteur p55 du TNF sur les entérocytes, favorisant ainsi la lyse de ces cellules par des lymphocytes cytotoxiques (CD8+) porteurs du ligand Fas. L'IFN-γ stimule aussi la libération de métalloprotéases (MMP) par les fibroblastes qui détruisent la lame basale (Di Sabatino et al., 2009).

Une réaction immunitaire de type Th2 avec sécrétion d'interleukine 4, 5, 10 et 13 qui, par la stimulation des lymphocytes B puis des plasmocytes, aboutit à la production d'Anticorps anti-gliadine et anti-transglutaminase (Gianfrani *et al.*, 2005).

Il a été démontré que le peptide non-immunodominant p31-43 induit la sécrétion d'IL-15 par les entérocytes (Maiuri *et al.*, 2003). Cette cytokine entraîne l'apparition des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I, MIC I A/B, reconnues par le récepteur NKG2D (un récepteur activateur des cellules « Natural Killer » (Hue *et al.*, 2004 ; Meresse *et al.*, 2004) et est responsable du recrutement des lymphocytes au niveau de l'épithélium (CD8+ et NK (« natural killer » ou cellule tueuse) (Gianfrani *et al.*, 2003). L'activation de ces derniers entraîne une destruction de l'épithélium grâce au système perforine/granzyme (Jabri *et al.*, 2006; Craig *et al.*, 2007).

Ces phénomènes immunitaires, provoquent une cascade inflammatoire qui génère les dommages tissulaires caractéristiques de la maladie.

I.5. FACTEURS DE RISQUES ENVIRONNEMENTAUX

I.5.1. Infections virale

Le rôle favorisant d'infections intestinales est suspecté depuis longtemps : l'adénovirus de sérotype 12 (Ad 12) pourrait être à l'origine de la rupture de la tolérance chez des sujets prédisposés génétiquement.

Il existe une homologie de la séquence d'acides aminés entre une partie de la α gliadine et une protéine virale (E 1b) produite par l'Ad 12, d'où un mimétisme moléculaire (Leeor et Howard, 2009 ; Leon *et al.*, 2005).

I.5.2. L'allaitement maternel

L'absence d'allaitement lors de l'introduction du gluten dans l'alimentation est fréquemment retrouvée chez des sujets cœliaques non intolérants. L'allaitement maternel aurait donc un effet protecteur chez les enfants prédisposés, il retardait l'apparition de la maladie et diminuerait la gravité des symptômes à l'apparition (Persson *et al.*, 2002 ; De Palma *et al.*, 2012).

I.6. FACTEURS DE PREDISPOSITION GENETIQUE

Les facteurs génétiques jouent un rôle prépondérant dans la physiopathologie de la maladie cœliaque. L'importance des facteurs génétiques est démontrée par la fréquence de la maladie cœliaque chez les individus apparentés au premier degré (environ 10%) et le taux de concordance très élevé entre les jumeaux monozygotes (75%) comparé à celui entre jumeaux dizygotes (10-30%), selon que ceux-ci partagent ou non les haplotypes HLA (Romio et *al.*, 2000).

I.6.1. Définition du complexe majeur d'histocompatibilité humain

Le complexe majeur d'histocompatibilité humain (HLA) est formé d'une série de gènes étroitement liés qui codent pour des protéines membranaires (molécules HLA) qui fixent et présentent les peptides antigéniques aux récepteurs des lymphocytes T (TCR). Ainsi le système HLA a un rôle fondamental dans la réponse immunitaire physiologique (Eliaou, 2007).

La région HLA est située sur le bras court de la sixième paire chromosomique, sur la bande 6p 21-3. Elle s'étend sur une distance d'environ 4000 kilobases, ce qui correspond à 1/1000 du génome humain. Elle comporte de nombreux gènes, partagés en trois classes : système HLA de classe I, de classe II et de classe III (Louka et Sollid, 2003).

Le système HLA possède de nombreuses caractéristiques, il est multigénique, codominant, multiallélique et très polymorphe (Modie et Ciclitira, 2001).

I.6.1.1. Nomenclature du complexe majeur d'histocompatibilité humain

Le polymorphisme extrême des gènes HLA a nécessité l'élaboration d'une nomenclature qui impose une écriture stricte des différents allèles. Les allèles sont désignés par HLA suivi par le locus (A, B, C, DQ, DQ et DR), puis par une étoile (*) et par 4 chiffres.

Les deux premiers désignent la correspondance sérologique ou tissulaire et les deux derniers la variation allélique, par exemple l'allèle HLA DQB1*0201 : HLA est le complexe de gènes, DQ est le locus, B1 est le gène dans le locus DQ, 02 correspond à la spécificité DQ2 et enfin 01 désigne le variant allélique (Charron, 1997).

I.6.1.2. Le complexe majeur d'histocompatibilité humain de classe II

Le système HLA de classe II est constitué d'un ensemble de familles de gènes dont les principales sont HLA-DR, HLA-DQ et HLA-DP. Pour chacune des familles, il existe des gènes fonctionnels et des gènes non fonctionnels (pseudo-gènes).

Les principales familles de gènes HLA de classe II: HLA-DR, HLA-DQ, HLA -DP, sont constituées de plusieurs gènes. On dénombre au moins 10 gènes au niveau de la famille DR : le gène DRA invariant codant pour la chaîne DR α et neuf gènes DRB dont quatre sont fonctionnels et polymorphes (B1, B3, B4 et B5), codant pour les chaînes DR β . La molécule membranaire mature HLA-DR est formée de l'association d'une chaîne DR α et d'une chaîne DR β . Seuls les gènes DRB sont responsables du polymorphisme du composant HLA-DR. En ce qui concerne les composants HLA-DQ et HLA-DP, les gènes DQA, DQB et DPA sont polyalléliques (Eliaou, 2007).

Le système génique formé par les gènes HLA de classe II DR, DQ et DP est loin le plus polymorphe de l'espèce humaine : actuellement plus de 2800 allèles (dont 577 seulement pour le locus DRB) codent pour autant de protéines différentes car leur caractéristique « d'expression codominante » permet à chaque allèle de chaque haplotype d'être exprimé et ainsi à son produit protéique d'être détecté (Roujen et *al.*, 2011).

Les locus DR et DQ, ont un très fort déséquilibre de liaison ce qui explique leur association préférentiel dans différentes maladie auto-immunes (Moodie et Ciclitra, 2001).

I.6.1.3. Implication des gènes du complexe majeur d'histocompatibilité humain dans le l'expression de la maladie

Dés 1972, les techniques sérologiques de groupage HLA permettent de mettre en évidence une association génétique entre la molécule HLA de classe I dénommée plus tard B8 et la survenue de la MC (Falchuk et *al.*, 1972 ; Stokes et *al.*, 1972).

En 1976, un lien encore plus étroit est établi avec le sérotype HLA de classe II DW3, défini aujourd'hui par DR3 (Keuning et *al.*, 1976). Plus tard, le sérotype DR7 est à son tour

impliqué, mais ce dernier nécessite alors une association en trans (sur l'autre chromosome parental) avec DR3 ou DR5 (Solheim et *al.*, 1976 ; Tosi et *al.*, 1983).

Enfin, en 1989, c'est la molécule HLA-DQ2 qui est finalement identifiée comme facteur de risque HLA principal (Sollid et *al.*, 1989). Ces résultats qui semblent à première vue très différents, ne sont pas pour autant si incompatibles entre eux. En effet, il existe un fort déséquilibre de liaison entre les gènes codant les molécules de classe II DR et DQ, car ils sont très proches au sein de la région HLA, portée par le chromosome 6, et sont donc presque toujours transmis ensemble à la génération suivante. Le DR3 et le DR7, premièrement impliqués dans la survenue de la MC, sont le plus souvent associés au DQ2 (Roujon et *al.*, 2011) (figure 7).

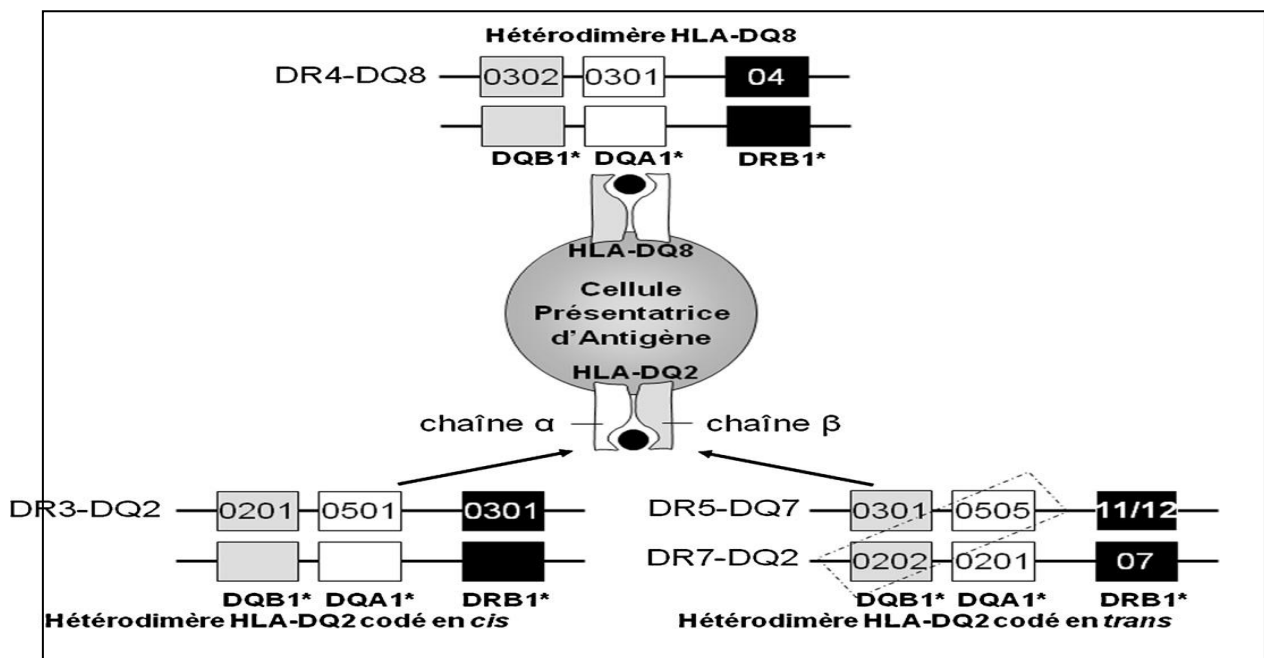


Figure 7 : Haplotypes associées aux hétérodimères HLA-DQ2 et HLA-D (Roujon et *al.*, 2011)

Le déséquilibre de liaison est plus faible entre les gènes codant pour les molécules de classe I, ces derniers étant plus éloignés que ceux codant pour la classe II. Néanmoins, les gènes HLA B8, DR3 et DQ2 appartiennent à l'haplotype ancestral étendu A1-B8-DR3-DQ2, également appelé haplotype 8.1. Ce haplotype, très conservé chez les caucasoïdes, explique la toute première relation établie avec le B8. Il est à noter que la MC est fréquemment associée au diabète de type 1 et à certaines atteintes thyroïdiennes auto-immunes, ces pathologies étant

elles aussi associées à l'haplotype 8.1 (Van Heel DA et *al.*, 2005). La molécule HLA-DQ8 est un autre facteur de risque HLA identifié, mais dans un plus petit pourcentage de MC, notamment car elle est moins fréquente dans la population.

I.6.2. Autres gènes

Hormis le complexe HLA, il existe un exemple prometteur dans l'apparition de la maladie. Il s'agit du gène CTLA-4, codant pour la protéine 4 associée au lymphocyte T cytotoxique, porte sur le chromosome 2. La protéine 4 est impliquée dans la régulation et l'activation des lymphocytes T.

Le polymorphisme des gènes codant pour l'interleukine 10 (IL 10), le TNF- α et le TGF β intervient aussi dans la maladie. Les interleukines IL-10, aux propriétés anti-inflammatoires, seraient moins produites chez un patient atteint de la maladie cœliaque que chez un individu sain. Ce facteur pourrait augmenter la gravité de la maladie (Cerf-Bensussan et Jabri, 2001).

D'autres gènes, semblent avoir aussi un rôle dans la pathogenèse comme des gènes impliqués dans les fonctions de la barrière épithéliale : gène MYO9B (myosin IXB) (Monsuur et *al.*, 2005), gène PARD3 (partitioning defective 3) , gène MAGI2 (membrane associated guanylate kinase) (Wapenaar et *al.*, 2008) ou encore des gènes, codant pour des intégrines, des cytokines et leurs récepteurs, des protéines de signalisation impliquées dans le contrôle de la réponse immunitaire innée : gène ITGA4 (intégrin α 4) (Garner et *al.*, 2009), gène IL 2 (interleukine 2), gène IL21, gène CCR3 (chemokine c-c receptor 3), gène CCR1 (chemokine c-c receptor 1) (Hunt et *al.*, 2008) ou de la réponse immunitaire acquise (gène ENS1 (endonuclease subunit 1), gène THEMIS (thymocyte-expressed molecule involved in selection) (Dubois et *al.*, 2010).

REFERENCES

1. Abu-Zekry M., Kryszak D., Diab M., Catassi C. and Fasano A. (2008). Prevalence of celiac disease in Egyptian children disputes the east-west agriculture-dependent spread of the disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 47(2): 136-40.
2. Allam Iness (2008). Etude immunologique de la maladie cœliaque chez l'adulte algérien. Faculté de médecine, université d'Alger.
3. Anser Ahmed S., Young PR. and Penhal WJ. (1986). Beneficial effect of testosterone in the treatment of chronic auto-immune thyroiditis in rats. *These. J Immunol* 136: 143.
4. Antunes H., Abreu I., Nogueiras A., Sa C., Goncalves C., Cleto P., Garcia F., Alves A. and Lemos D. (2006). First determination of the prevalence of celiac disease in a Portuguese population. *Acta Med Port* 19(2): 115-20.
5. Arentz-Hansen H., Fleckenstein B., Molberg SH., Koning F., Roepstorff P., Lundin KE. and Sollid LM. (2004). The molecular basis for oat intolerance in patients with celiac disease. *Plos Med* 1: 23-26.
6. Arentz-Hansen H., Komer R., Molberg QH., Vader W., Kooy YM., Lundin KEA., Koning F., Roepstorff P., Sollid LM. and McAdam SN. (2000). The intestinal T cell response to α -gliadin in adult celiac disease is focused on a single deamidated targeted by tissue transglutaminase. *J Exp Med* 191: 603-612.
7. Belanteur K., Amroun H., Salah SS., Guedoir A., Raache R., Messatfa M., Labied A., Tamouza R., Charron D. and Abbadi MC. (2009). Etude immunogénétique de la maladie coeliaque chez l'enfant algérien: à propos de 91 cas. *Revue Algérienne d'Immunologie et d'Immunopathologie* 21-29.
8. Benatallah LE (2009). Couscous et pain sans gluten pour malades coeliaques: aptitude technologique de formules à base de riz et de légumes secs. Thèse de Doctorat d'état science. Spécialité: Science Alimentaires. INATAA. Université Mentouri-Constantine.
9. Bhattacharya M., Dubey AP. and Mathur NB. (2009). Prevalence of Celiac disease in north Indian children. *Indian Pediatr* 46(5): 415-7.

10. Bingley PJ., Williams AJ., Norcross AJ., Unsworth DJ., Lock RJ., Ness AR. and Jones RW. (2004). Undiagnosed coeliac disease at age seven: population based prospective birth cohort study. *BMJ* 328(7435): 322-3.
11. Biserte G. (2003). Rapports de la maladie cœliaque avec l'ingestion de gliadine. *Med Sci* 19: 285–287.
12. Bodd M., Kim CY., Lundin KE., Sollid LM. (2012). Characterization of the T-cell response to gluten in patients with celiac disease expressing HLA-DQ2.2 but not any other HLA-DQ risk molecules. *Gastroenterology* 45-59.
13. Boudjemaa A (2005). Contribution de l'implication des gènes HLA de class II dans la survenue de maladies auto-immunes: la maladie cœliaque, l'association diabète de type I-maladie cœliaque dans la population de l'ouest algérien et la polyarthrite rhumatoïde dans la population française. Thèse de Biologie Moléculaire et Génétique, USTO, Oran.
14. Boudraa G., Hachelaf W., Benbouabdellah M., Belkaid M., Benmansour FZ. and Touhami M. (1996). Prevalence of coeliac disease in diabetic children and their first degree relatives in West Algeria: Screening with serological markers. *Acta paediatrica* 58-60.
15. Brahan S., Bresnahan M., Geraghty DE., Spies T. (1994). A second lineage of mammalian major histocompatibility complex Class I genes. *Proc Natl.*
16. Camarca A., Anderson RP., Mamone G., Fierro O., Facchino A., Costantini S., Zanzi D., Auricchio S., Sette A., Troncone R. and Gianfrani C. (2009). Intestinal T cell responses to gluten peptides are largely heterogeneous: implications for a peptide-based therapy in celiac disease. *J Immunol* 182: 4158-4166.
17. Cerf-Bensussan N. et Jabri B. (2001). La maladie coeliaque : une maladie auto-immune induite par un antigène alimentaire. *Médecine/Sciences* 17: 1129-1138.
18. Chatenoud L. (2007). Une étape vers la restauration de la tolérance immunitaire au soi dans les maladies auto-immunes humaines. *Medecines Sciences* 23: 167-71.
19. Craig D., Robins G. and Howdle PD. (2007). Advances in celiac disease. *Curr Opin Gastroenterol* 23(2): 142-8.

20. De Palma G., Capilla A., Nova E., Casillejo G., Varea V., Pozo T., Garrote JA., Poloanco I., López A., Ribes-Koninckx C., Marcos A., García-Novo MD., Calvo C., Ortigosa L., Peña-Quintana L., Palau F. and Sanz mail Y. (2012). Influence of Milk-Feeding Type and Genetic Risk of Developing Coeliac Disease on Intestinal Microbiota of Infants:The Proficel Study. *Plos One* 7: 1987-1989.
21. Di Sabatino A. and Corazza GR. (2009). Coeliac disease. *Lancet* 373(9673): 1480-93.
22. Dube C., Rostom A., Sy R., Cranney A., Saloojee N., Garritty C., Sampson M., Zhang L., Yazdi F., Mamaladze V., Pan I., Macneil J., Mack D., Patel D. and Moher D. (2005). The prevalence of celiac disease in average-risk and at-risk WesternEuropean populations: a systematic review. *Gastroenterology* 128(4 Suppl 1): S57-67.
23. Dubois PCA., Trynka G., Franke L., Hunt KA., Romanos J., Curtotti A., Zhernakova A., Heap GAR., Adany R., Aromaa A., Bardella MT., van den Berg LH., Bockett NA., de la Concha EG., Dema B., Fehrmann RSN. and van Heel DA. (2010). Multiple common variants for celiac disease influencing immune gene expression. *Nat Genet* 42: 295-302.
24. Du Pr MF., Kozijn AE.,Van Berkel LA. and Ter Borg MN. (2011). Tolerance to ingested deamidated gliadin in mince is maintained by splenic, type 1 regulatory T cells. *Gastroenterology* 141: 610-620.
25. Eliaou JF(2007). Immunité adaptative: structure reconnue (CMH et antigènes). Mb7 Immunologie I4, faculté de médecine Montpellier Nîmes.
26. Ellis A(1981). Coeliac disease: previous family studies. In MConnel RB,ed. The genetic of celiac disease. Lancaster,England:MTP,pp.197-200.
27. Falchuk ZM., Rogentine GN. and Strober W. (1972). Predominance of histocompatibility antigen HL-A8 in patients with gluten-sensitive enteropathy. *J Clin Invest* 51: 1602-5.
28. Farrel RJ. and Kelly CP. (2002). Celiac sprue. *Nengl J Med* 346: 180-2.
29. Fasano A., Berti I. and GerarduzziT. (2003). Prevalence of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: a large multicenter study. *Arch Intern Med* 163(3): 286-92.
30. Fasano A. (2001). Intestinal zonulin: open sesame. *Gut* 49(2): 159-62.

31. Fesus L. and Piacentini M. (2002). Transglutaminase 2: an enigmatic enzyme with diverse functions. *Trends in biochemical sciences* 29: 27-10.
32. Garner CP., Murray J., Ding YC., Van Heel DA. and Neuhausen SL. (2009). Replication of celiac disease UK genome-wide association study results in US population. *Hum Mol Gen* 18(20): 4219-4225.
33. Gjertsen HA., Sollid LM., Thorsy E. and Lundin KEA. (1994). T cells from the peripheral blood of celiac disease patients recognise gluten antigens when presented by HLA-DR,-DQ,or-DP molecules. *Scand J Immunol* 39: 567-574.
34. Gianfrani C., Troncone R., Mugione P., Cosentini E., De Pascale M., Faruolo C., Senger S., Terrazzano G., Southwood S., Auricchio S. and Sette A. (2003). Celiac disease association with CD8+ T cell responses: identification of a novel gliadin-derived HLA-A2-restricted epitope. *J Immunol* 170(5): 2719-26.
35. Gomez JC., Selvaggio GS., Viola M., Pizarro B., la Motta G., de Barrio S., Castelletto R., Echeverria R., Sugai E., Vazquez H., Maurino E. and Bai JC. (2001). Prevalence of celiac disease in Argentina: screening of an adult population in the La Plata area. *Am J Gastroenterol* 96(9): 2700-4.
36. Green PH. and Cellier C. (2007). Celiac disease. *New England Journal of Medicine* 357: 1731-43.
37. Guy-Grand D., Disanto JP., Henchoz P., Malassis-Seris M. and Vassalli P. (1998). Small bowel enteropathy: role of intraepithelial lymphocytes and of cytokines (IL-12, IFN-gamma, TNF) in the induction of epithelial cell death and renewal . *Eur J Immunol* 28(2): 730-44.
38. Henderson KN., Tye-Din JA., Reid HH., Chen Z., Borg NA., Beissbarth T., Tatham A., Mannering S I., Purcell AW., Dudek NL., van Heel DA., McCluskey J., Rossjohn J. and Anderson RP. (2007). A structural and immunological basis for the role of human leukocyte antigen DQ8 in celiac disease. *Immunity* 27(1): 23-34.
39. Herzog D. (2000). La maladie coeliaque et son nouveau marqueur diagnostic, l'anticorps antitransglutaminase tissulaire. *Paediatrica Erschieenen* 11: 39.

40. Hue S., Mention JJ., Monteiro RC., Zhang S., Cellier C., Schmitz J., Verkarre V., Fodil N., Bahram S., Cerf-Bensussan N. and Caillat-Zucman S. (2004). A direct role for NKG2D/MICA interaction in villous atrophy during celiac disease. *Immunity* 21(3): 367-77.
41. Hunt KA., Zhernakova A., Turner G., Heap GA., Franke L., Bruinenberg M., Romanos J., Dinesen LC., Ryan AW., Panesar D., Gwilliam R., Takeuchi F., McLaren WM., Holmes GK., Howdle PD., Walters JR., Sanders DS., Playford RJ., Trynka G., Mulder CJ., Mearin ML., Verbeek WH., Trimble V., Stevens FM., O'Morain C., Kennedy NP., Kelleher D., Pennington DJ., Strachan DP., McArdle WL., Mein CA., Wapenaar MC., Deloukas P., McGinnis R., McManus R., Wijmenga C. and van Heel DA. (2008). Newly identified genetic risk variants for celiac disease related to the immune response. *Nat Genet* 40(4): 395-402.
42. Jabri B. and Sollid LM. (2006). Mechanisms of disease: immunopathogenesis of celiac disease. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 3(9): 516-25.
43. Johannsson GF., Kristjansson G., Cariglia N. and Thorsteinsson V. (2009). The prevalence of celiac disease in blood donors in Iceland. *Dig Dis Sci* 54(2): 348-50.
44. Karell K., Louka AS., Moodie SJ., Ascher H., Clot F., Greco L., Ciclitira PJ., Sollid LM. and Partanen J. (2003). HLA Types in Celiac Disease Patients not carrying the DQ1*05-DQB1*02 (DQ2) heterodimer. Results from the European Genetics Cluster on Celiac Disease. *Hum Immunol* 64: 469-77.
45. Keuning JJ., Pena AS., Van Leeuwen A., Van Hooff JP. and Va Rood JJ. (1976). HLADW3 associated with coeliac disease. *Lancet* 1: 506-8.
46. Kim CY., Quarsten H., Bergseng E., Khosla C. and Sollid LM. (2004). Structural basis for HLA-DQ2-mediated presentation of gluten epitopes in celiac disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 4175-4179.
47. Koning F. (2005). Celiac disease: Caught between a rock and hard place. *Gastroenterology* 129: 1294-1301.
48. Laadhar L., Toumi A., Kallel-Sellami M., Zitouni M., Bouraoui S., Maherzi A., Makni S. and Ben Hariz M. (2009). HLA class II polymorphism in children with celiac disease in Tunisia: is there any influence on clinical manifestation. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 11: 1286-90.

49. Lamireau T. et Clouzeau H. (2008). Comment confirmer le diagnostic de la maladie cœliaque . Arch pediatri 15: 504-5.
50. Lammers KM., Lu R., Brownley J., Lu B., Gerard C., Thomas K., Rallabhandi P., Shea-Donohue T., Tamiz A., Alkan S., Netzel-Arnett S., Antalis T., Vogel SN. et Fasano A.(2008).Gliadin induces an increase in intestinal permeability and zonulin release by binding to the chemokine receptor CXCR3. Gastroenterology 135 (1): 194-204.
51. Leor P. and Howard A. (2009). Infectious associations of Celiac disease. Review Article Autoimmunity Reviews 8: 316-319.
52. Lie BA., Sollid LM., Ascher H., EK J., Akselsen HE., Ronningen KS., Thorsby E. and Undlin DE. (1999). A gene telomeric of the HLA class I region is involved in predisposition to both type I diabetes and celiac disease. Tissue Antigens 54: 162-168.
53. Loen F., Sanchez L. and Camarero G. (2005). Tumor necrosis factor production in intraepithelial lymphocyte subsets in celiac disease. Dig Dis Sci 50: 593-600.
54. Louka AS. and Sollid LM. (2003). HLA in celiac disease: unraveling the complex genetics disorder. Tissue Antigens 61: 105-117.
55. Ludvig M., Sollid LM., Qiao SW., Robert P., Anderson., Gianfrani C. and Koning F. (2002). Nomenclature and listing of celiac disease relevant gluten T-cell epitopes restricted by HLA-DQ molecules. Immunogenetics 64: 455-460.
56. Maiuri L., Ciacci C., Ricciardelli I., Vacca L., Raia V., Auricchio S., Picard J., Osman M., Quarantino S. and Londei M. (2003). Association between innate response to gliadin and activation of pathogenic T cells in celiac disease. Lancet 362 (9377): 30-7.
57. Maki M., Mustalahti K., Kokkonen J., Kulmala P., Haapalahti M., Karttunen T., Ilonen J., Laurila K., Dahlbom I., Hansson T., Hopfl P. and Knip M. (2003). Prevalence of celiac disease among children in Finland. N Engl J Med 348(25): 2517-24.
58. Mascart F. et Ocmant A. (1998). Anticorps circulants au cours de la maladie cœliaque: intérêt pratique. La Lettre de l'Hépatogastro-entérologue 270-272.
59. Matysiak-Budnik T., Cerf-Bensussan N. et Cellier C. (2006). Maladie cœliaque: prise en charge initiale et suivi. Hpatogastro (Montrouge) 13: 369-377.

60. Matysiak-Budnik T., Moura IC., Arcos-Fajardo M., Lebreton C., Menard S., Candalh C., Ben-Khalifa K., Dugave C., Tamouza H., van Niel G., Bouhnik Y., Lamarque D., Chaussade S., Malamut G., Cellier C., Cerf-Bensussan N., Monteiro RC. and Heyman M. (2008). Secretory IgA mediates retrotranscytosis of intact gliadin peptides via the transferrin receptor in celiac disease. *J Exp Med* 205(1): 143-154.
61. Mayer A. et Orgiazzi TF. (2003). Bases physiopathologies auto-immunité thyroïdienne humaine, *La thyroïdite scientifique et médicale*. Eds Elsevier 244-232.
62. Meresse B., Chen Z., Ciszewski C., Tretiakova M., Bhagat G., Krausz TN., Raulet DH., Lanier LL., Groh V., Spies T., Ebert EC., Green PH. and Jabri B. (2004). Coordinated induction by IL15 of a TCR-independent NKG2D signaling pathway converts CTL into lymphokine-activated killer cells in celiac disease. *Immunity* 21(3): 357-66.
63. Monsuur AJ., de Bakker PI., Alizadeh BZ., Zhernakova A., Bevova MR., Strengman E., Franke L., Van't Slot R., Van Belzen MJ., Lavrijsen IC., Diosdado B., Daly MJ., Mulder CJ., Mearin ML., Meijer JW., Meijer GA., van Oort E., Wapenaar MC., Koeleman BP. and Wijmenga C. (2005). Myosin IXB variant increases the risk of celiac disease and points toward a primary intestinal barrier defect. *Nat Genet* 37(12): 1341-4.
64. Molberg MC., Adam S., Lundin KE., Kristian C., Arentz-Hansen H., Kitt K. and Sollid LM. (2001). T cell from celiac disease lesions recognize gliadin epitopes deamidated in situ by endogenous tissue transglutaminase. *Eur J Immunol* 31(5): 1317-23.
65. Moodie S. and Ciclitira P. (2001). Celiac disease: genetic factors and antigen presentation. *Acute Endoscopy* (31): 255-259.
66. Moustaks AK., van de Wal Y., Routsias J., Kooy YM., Van Veelen P., Drijfhout JW., Koning F. and Papadopoulos GK. (2000). Structure of celiac disease-associated HLA-DQ8 and non-associated HLADQ9 alleles in complex with two disease-specific epitopes. *Int Immunol* 12: 1157-1166.
67. Newton CR. and Graham A (1997). PCR, 2nd ed. Oxford: BIOS scientific publishers LTD.
68. Oberhuber G. (2000). Histopathology of celiac disease. *Biomed Pharmacother* 54: 368-372.

69. Patey-Mariaud De Serre N., Verkarre V., Cellier C., Cerf Bensussan N., Schmitz J. et Brousse N. (2000). Diagnostic étiologique d'une atrophie villositaire. *Gastroenterol Clin Biol* 24: 436-446.
70. Patey-Mariaud De Serre N., Verkarre V., Roche B. et Brousse N. (1998). Diagnostic histologique. *Lettre de l'Hépatogastroentérologie* 263-265.
71. Persson LA., Ivarsson A. and Hernell O. (2002). Breast-feeding protects against celiac disease in childhood-epidemiological evidence. *Adv Exp Med Biol* 503: 115-123.
72. Qiao Sw., Sollid LM. and Blumberg RS. (2009). Antigen presentation in celiac disease. *Current Opinion in Immunology* 21: 111-117.
73. Qiao SW., Bergseng E., Molberg O., Jung G., Fleckenstein B. and Sollid LM. (2005). Refining the rules of gliadin T cell epitope binding to the disease-associated DQ2 molecule in celiac disease: importance of proline spacing and glutamine deamidation. *J Immunol* 175: 245-261.
74. Oliveira RP., Sdepanian VL., Barreto JA., Cortez AJ., Carvalho FO., Bordin JO., de Camargo Soares MA., da Silva Patricio FR., Kawakami E., de Moraes MB. and Fagundes-Neto U. (2007). High prevalence of celiac disease in Brazilian blood donor volunteers based on screening by IgA antitissue transglutaminase antibody. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 19(1): 43-9.
75. Powell DW (2008). Approach to the patient with diarrhea. In: *Principales of clinical gastroenterology*. Yamada T., Alpers DH., Kalloo AN., Kaplowitz N., Owyang C. and Powell DW. Wely-Blackwell Edition, UK, 662p.
76. Rittmeyer C. and Rhoads M. (1996). IgA deficiency causes false-negative endomysial antibody results in celiac disease. *Pediatr Gastroenterol Nutr* 23: 504-6.
77. Romino R. (2000). First population-based twin study in celiac disease. *Gut: sous presse* 6: 156-170.
78. Rouquette M (2000). *Auto anticorps: marqueurs des maladies auto-immunes*. Paris. Ed Biomedicales Diagnostic.

79. Roujon P., Guidicelli G., Moreau JF. and Taupin JL. (2011). Immunogenetics of celiac disease. *Pathologie Biologie* 7.
80. Schumann M., Richter JF., Wedell I., Moos V., Zimmermann-Kordmann M., Schneider T., Daum S., Zeitz M., Fromm M. and Schulzke JD. (2008). Mechanisms of epithelial translocation of the alpha (2)-gliadin-33mer in celiac sprue. *Gut* 57(6): 747-54.
81. Schuppan D. (2000). Current concepts of celiac disease pathogenesis. *Gastroenterology* 119: 234-42.
82. Shahbazkhani B., Malekzadeh R., Sotoudeh M., Moghadam KF., Farhadi M., Ansari R., Elahyfar A. and Rostami K. (2003). High prevalence of coeliac disease in apparently healthy Iranian blood donors. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 15(5): 475-478.
83. Shan L., Mathews II. and Khosla C. (2005). Structural and mechanistic analysis of two prolyl endopeptidases: role of interdomain dynamics in catalysis and specificity. *Proc Natl Acad Sci USA* 102(10): 3599-604.
84. Solheim BG., Ek J., Thune PO., Baklien K., Bratlie A., Rankin B., Thoresen AB. and Thorsby E. (1976). HLA antigens in dermatitis herpetiformis and coeliac disease. *Tissue Antigens* 7: 57-9.
85. Sollid LM. (2002). Celiac disease: dissecting a complex inflammatory disorder. *Nat Rev Immunol* 2: 647-655.
86. Sollid LM., Markussen G., Ek J., Gjerde H., Vartdal F. and Thorsby E. (1989). Evidence for a primary association of celiac disease to particular HLA-DQ alpha/beta heterodimer. *J Exp Med* 169: 345-50.
87. Steinele A., Li P., Morris DL., Groh V., Lanier LL., Strong RK. and Spies T. (2001). Interaction of human NKG2D with its ligands MICA, MICB, and homologs of the mouse RAE-1 protein family. *Immunogenetics* 53: 279-278.
88. Stokes PL., Asquith P., Holmes GK., Mackintosh P. and Cooke WT. (1972). Histocompatibility antigens associated with adult coeliac disease. *Lancet* 2: 162-4.

89. Terrazzano G., Sica M., Gianfrani C., Mazzarella FZ., De Giulio B., Sait-Mezard S., Zanzi D., Maiuri L., Londei M., Jabri B., Troncone R., Auricchio S., Zapacosta S. and Carbone E. (2007). Gliadin regulates the NK-dendritic Cell cross-Talk by HLA-E surface stabilization. *J Immunol* 179: 372-381.
90. Thomas KE., Sapone A., Fasano A. and Vogel SN. (2006). Gliadin stimulation of murine macrophage inflammatory gene expression and intestinal permeability are MyD88-dependent: role of the innate immune response in celiac disease. *J Immunol* 176(4): 2512-21.
91. Tkouba EM. (2008). Maladie cœliaque de l'adulte. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique* 48.
92. Tommasini A., Not T., Kiren V., Baldas V., Santon D., trivisiol C., Berti I., Neri E., Gerarduzzi T., Bruno I., Lenhardt A., Zamuner E., Spanò A., Crovella S., Martellosi S., Torre G., Sblattero D., Marzari R., Bradbury A., Tamburlini G. and Ventura A. (2004). Mass screening for celiac disease using antihuman transglutaminase antibody assay. *Arch Dis child* 89: 512-5.
93. Tosi R., Vismara D., Tanigaki N., Ferrara GB., Cicimarra F., Buffolano W., Fallo D. and Auricchio S. (1983). Evidence that celiac disease is primarily associated with a DC locus allelic specificity. *Clin Immunol Immunopathol* 28: 395-404.
94. Trynka G., Hunt KA., Bockett NA., Romanos J., Mistry V., Szperl A., Bakker SF., Bardella MT., Bhaw-Rosum L., Castillejo G., Concha EG., de Almeida RC., Dias KR., van Diemen CC., Dubois PC., Duerr RH., Edkins S., Franke L., Fransen K., Gutierrez J., Heap GA., Hrdlickova B., Hunt S., Plaza Izurieta L., Izzo V., Joosten LA., Langford C., Mazzilli MC., Mein CA., Midah V., Mitrovic M., Mora B., Morelli M., Nutland S., Núñez C., Onengut-Gumuscu S., Pearce K., Platteel M., Polanco I., Potter S., Ribes-Koninckx C., Ricaño-Ponce I., Rich SS., Rybak A., Santiago JL., Senapati S., Sood A., Szajewska H., Troncone R., Varadé J., Wallace C., Wolters VM. and Zhernakova A. (2011). Dense genotyping identifies and localizes multiple common and rare variant association signals in celiac disease. *Nat Genet* 43: 1193-1201.
95. Vader W., Stepniak D., Kooy Y., Mearin L., Thompson A., van Rood JJ., Spaenij L. and Koning F. (2003). The HLA-DQ2 gene dose effect in celiac disease is directly related to the

magnitude and breadth of gluten-specific T cell responses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100: 12390-12395.

96. Vahedi K., Bouhniky. and Matuchonsky C. (2001). Maladie cœliaque de l'adulte. *Gastroenterol Clin Biol* 25: 485-94.

97. Van Belzen MF., Mulder CF., Pearson PL., Houmen RH. and Wifinen C. (2007).The tissue transglutaminase genes is not primary factor predisposing to celiac disease. *Am Gastroenterol* 96(12): 3337-40.

98. Van Heel DA. and West J. (2006). Recent advances in celiac disease. *Gut* 55(7): 1037-1046.

99. Van Heel DA., Hunt K., Greco L. et and Wijmenga C. (2005). Genetics in celiac disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 19: 323–39.

100. Verkarre V. et Brousse N. (2013). Le diagnostic histologique de la maladie cœliaqueHistopathology of coeliac disease. *Pathologie Biologie* 61 :13-19.

101. Zubillaga P., Vidales MC., Zubillaga I., Ormaechea V., García-Urkía N. and Vitoria JC. (2002). HAL DQA1 and HAL DQB1 genetic markers and clinical presentation in celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 34: 548-554.

102. Walker-SMITH J (1998).Techniques of investigation. In: diseases of the small intestine in childhould. J.A.WALKER-SMITH ed. Butterworths and co. pp: 31-87.

103. Wapenaar MC., Monsuur AJ., Van Bodegraven AA., Weersma RK., Bevova MR.,Linskens RK., Howdle P., Holmes G., Mulder CJ., Dijkstra G., Van Heel DA. and Wijmenga C. (2008). Associations with tight junction genes PARD3 and MAGI2 in Dutch patients point to a common barrier defect for coeliac disease andulcerative colitis. *Gut* 57(4): 463-7.

104. West J., Logan RF., Hill PG., Lloyd A., Lewis S., Hubbard R., Reader R., Holmes GK. and Khaw KT. (2003). Seroprevalence, correlates, and characteristics of undetected coeliac disease in England. *Gut* 52(7): 960-5.

br de cycles	Température	Etape	Temps	
1	95°C	Dénaturation	5	
30	94°C	Dénaturation	1 min	
	HPA-1	55°C	Hybridation	1 min
	HPA-2	56°C		
	HPA-3	55°C		
	HPA-4	63°C		
	HPA-5	56°C		
	72°C	Elongation	1 min	
1	72°C	Elongation finale	7 min	
+8	4 °C	Arrêt	+8	

III.1. RESULTATS

Notre étude a été réalisée sur un échantillon de 24 patients cœliaques, en comparaison à une population de 25 sujets sains, sont tout d'origine algérien. Dans le but d'étudier, par techniques de typage générique par la réaction de polymérisation en chaîne par amorces spécifiques de séquences (PCR-SSP), le polymorphisme génétique des molécules HLA de classe II DRB1, DQB1. Et d'établir les fréquences phénotypique, génotypique et haplotypique des gènes des locus DRB1 et DQB1 du complexe HLA de classe II dans la maladie cœliaque. Les résultats obtenus sont les suivants :

III.1.1. Caractéristiques de la cohorte

III.1.1.1. Répartition des patients selon le sexe

La population des patients atteint de la maladie cœliaque (n=24) est composé de : 62,5 % de femmes et 37,5% d'hommes (figure 9).

Le sexe ratio dans cette population est de 1,66 (F/H). L'âge moyen est de 30.95 avec une distribution comprise entre [3-50 ans].

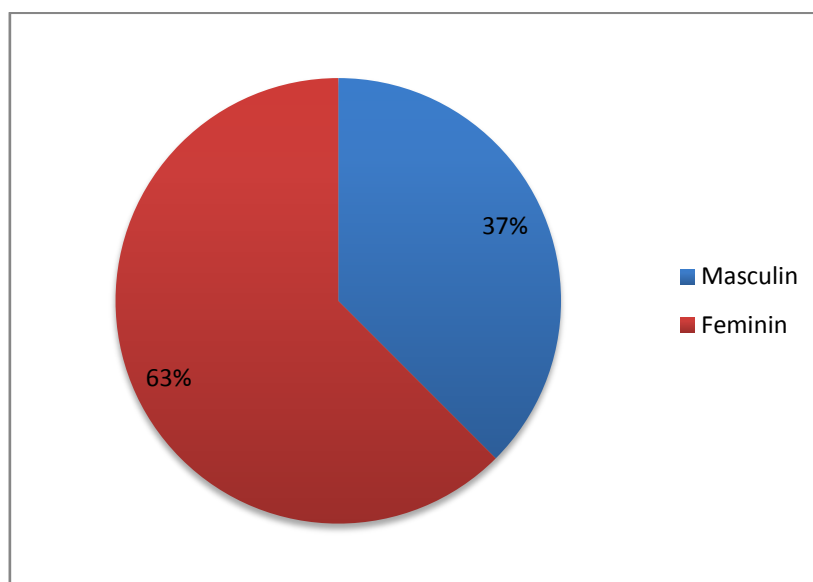


Figure 9 : Répartition des patients selon le sexe

III.1.1.1. Répartition des témoins selon le sexe

La population des témoins atteint de la maladie cœliaque (n=25) est composé de : 68% de femmes et 32% d'hommes (figure 10).

Le sexe ratio dans cette population est de 2,13 (F/H). L'âge moyen est de 30.95 avec une distribution comprise entre [25-48ans].

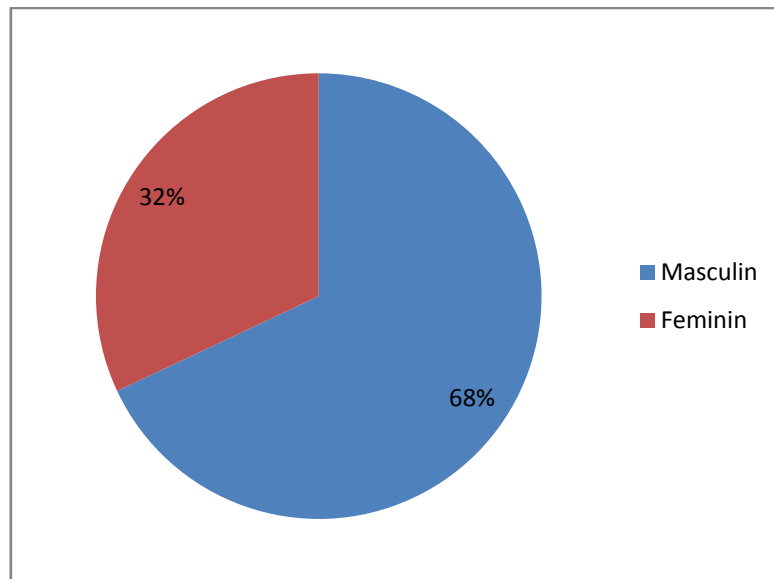


Figure 10: Répartition des témoins selon le sexe

III.1.1.2. Répartition des patients diagnostiqués cœliaques suivant le signe clinique

Dans notre série les signes cliniques les plus fréquents sont l'anémie 45% (associés ou non aux signes digestifs) et les signes digestifs types diarrhée chroniques 45%, étant donné que ce sont les premières conséquences de la malabsorption intestinale.

Nous notons aussi l'augmentation de la fréquence des signes non classiques type diabète insuline dépendant et thyroïdite auto-immune (figure 11).

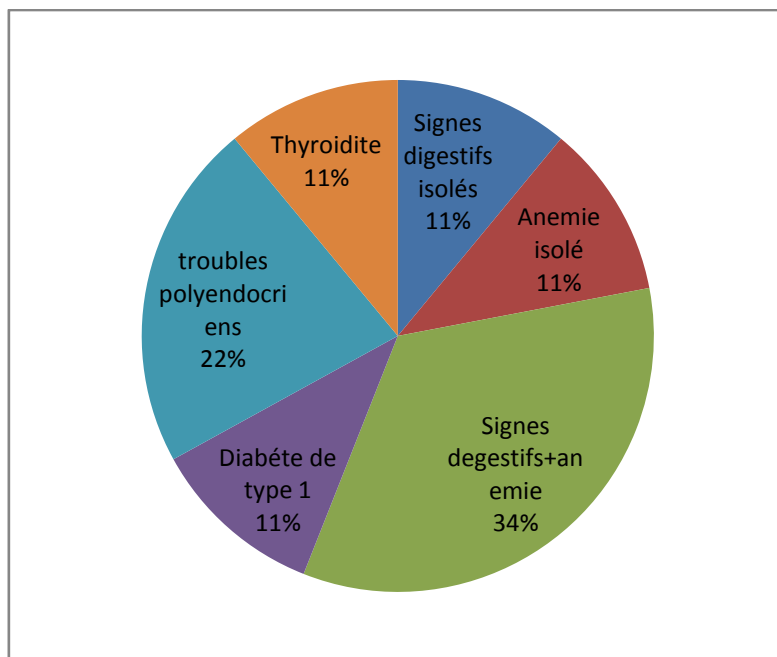


Figure 11 : Répartition des patients diagnostiqués cœliaques suivant les signes cliniques

III.1.1.3. Répartition des patients selon la présence ou non d'antécédents

Parmi les 24 patients cœliaques, 25 % (N=6) présentent des antécédents de la maladie cœliaque, tandis que le reste des patients 75% (N=18) n'ont pas signalé d'antécédents de la maladie cœliaque (figure 12).

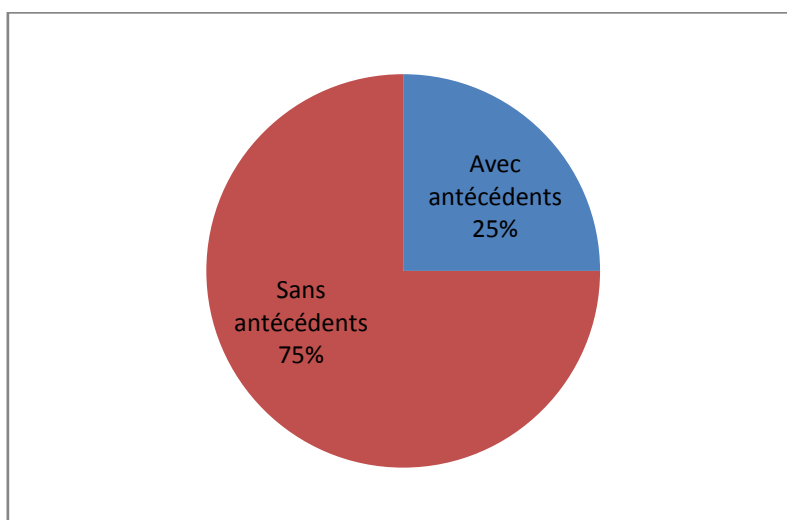


Figure 12 : Répartition des patients selon la présence ou non d'antécédents

III.1.2. Etude du génotype HLA DRB1 DQB1 par typage générique

III.1.2.1. Typage HLA de classe II DQ B1 générique

Les résultats de cette étude montrent que 83,33% des patients cœliaques portent un phénotype DQ2 et/ou DQ8 dont 66,67 % présentent le phénotype HLA DQ2 et 33,33 % présentent le phénotype HLA DQ8. Ces fréquences sont significativement plus élevées chez les malades cœliaques par rapport aux témoins. Le phénotype HLA DQ2 est retrouvé chez 41,1 % des témoins et le phénotype HLA DQ8 est retrouvé chez 13,17 % des témoins, ce qui montre une différence significative de la fréquence des ces 2 phénotypes (OR=3,00 Pc= 0,033 et OR= 3,67 Pc= 0,041) (figure 12 ; tableau VI de l'annexe 3).

Le reste des patients 16,67% (N=4) se sont révélés être de phénotype DQ2/DQ8 négatif.

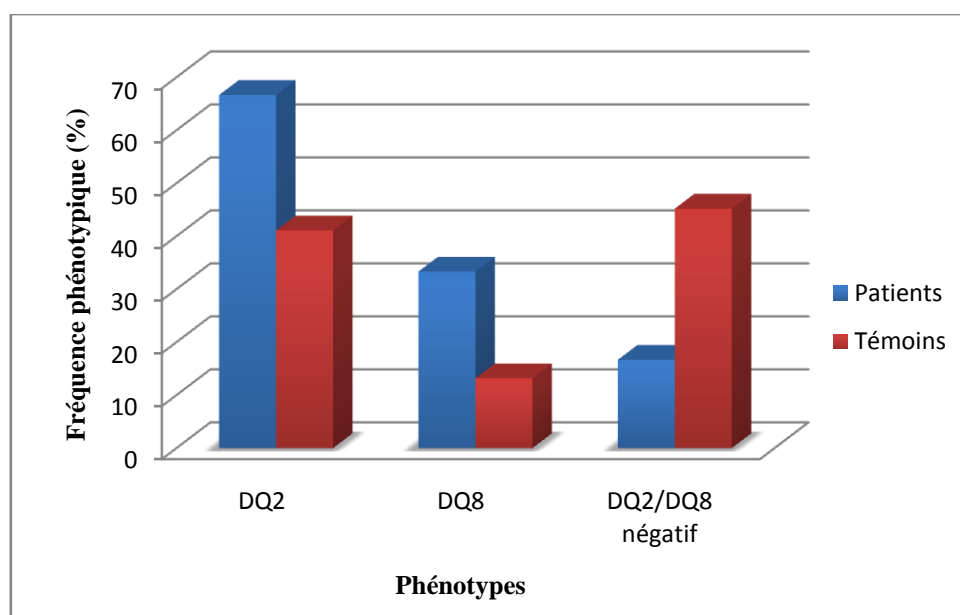


Figure 13 : Fréquence phénotypique des allèles HLA DQ B1 chez les patients cœliaque et les témoins

III.1.2.2. Polymorphisme HLA DQB1

L'exploration du polymorphisme HLA DQB1 montre une différence significative de la fréquence des allèles HLA DQ B1*2 (DQ2) et HLA DQ B1*0302 (DQ8) qui sont plus retrouvés chez les patients cœliaques par rapport aux témoins avec des fréquences respectives (41,67%) vs (12%) (OR=5,24, $P_c=4,4.10^{-4}$) et de (18,75%) vs (6%) (OR=3,62, $P_c= 0,030$) (figure 13 ; tableau VII de l'annexe 3).

L'allèle HLA DQB1*06 (DQ6) est significativement moins fréquent chez les malades cœliaques que chez les témoins avec des fréquences respectives (12,50%) vs (26%), (OR=0,41, $P_c= 0,048$).

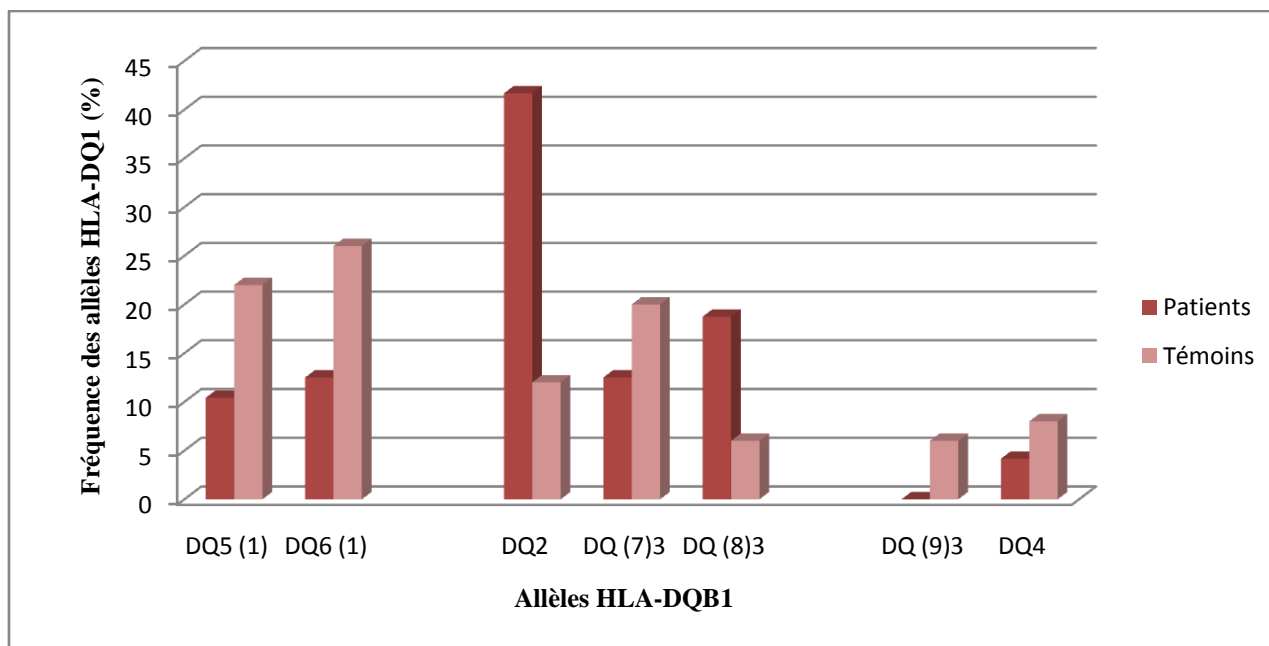


Figure 14 : Fréquences des allèles HLA DBQ1 chez les patients cœliaques et les témoins

III.1.2.3. Polymorphisme HLA DR B1

L'exploration du polymorphisme HLA DRB1 montre une différence significative de la fréquence de l'allèle HLA DR B1* 03 (DR 17) qui est plus fréquent chez les patients cœliaque (37,50%) par rapport aux témoins (7,4%), (OR=6,90, $P_c=2,2.10^{-4}$) (figure 14 ; tableau VIII de l'annexe 3).

L'allèle DR B1* 13 (DR13) est significativement plus important chez les témoins (15,75%) que chez les patients cœliaques (2,083 %), (OR=0,11, Pc=0,009).

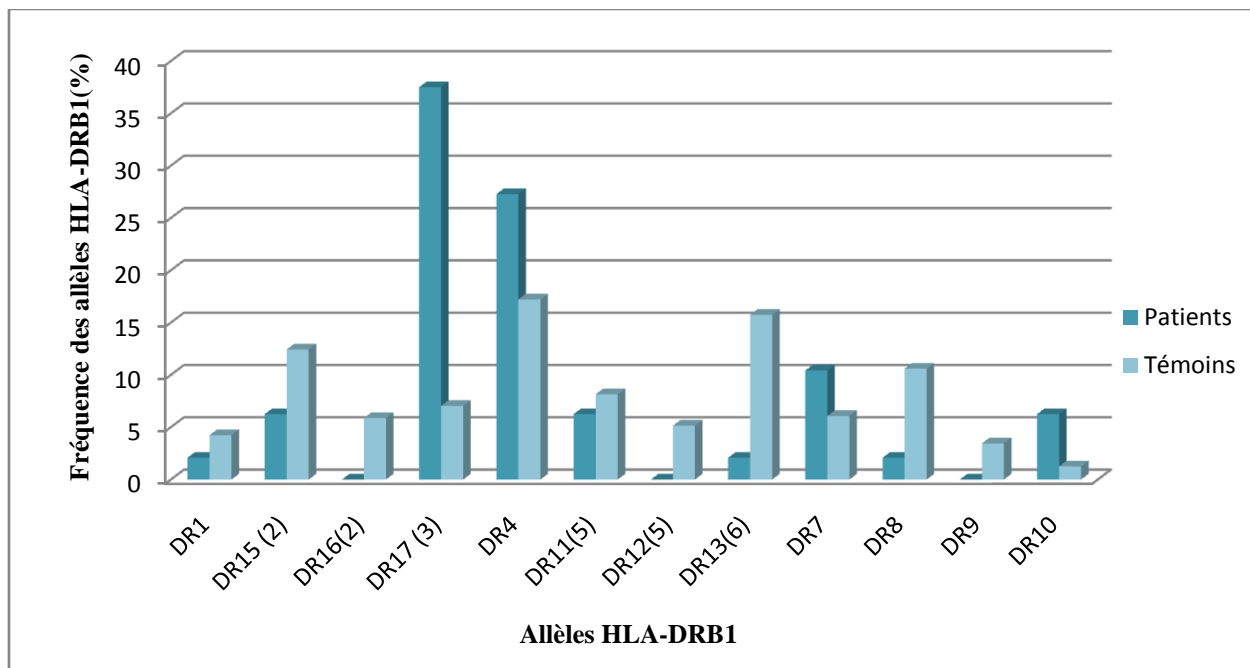


Figure 15 : Fréquences des allèles DRB1 chez les patients cœliaques et les témoins

III.1.2.4. Fréquence de l’homozygotie et de l’hétérozgotie des allèles HLA DQB1

La fréquence de l’allèle HLA DQ2 a l’état homozygote est plus augmenté chez les patients cœliaque (20,83%) que chez les témoins (3,33%), (OR=6,32, Pc=0,04). Cependant, la fréquence l’allèle HLA DQ8 à l’état homozygote n’est pas significativement plus élevée chez les patients cœliaque (4,17%) par apport aux témoins (3,33%) (figure 15; tableau IX de l’annexe 3).

Par ailleurs, la présence de l’allèle HLA DQ2 /HLA DQ8 à l’état hétérozgote n’est pas significativement plus élevée chez les patients cœliaques (16,67%) par apport aux témoins (3,33%), (OR=4.80, Pc= 0,09).

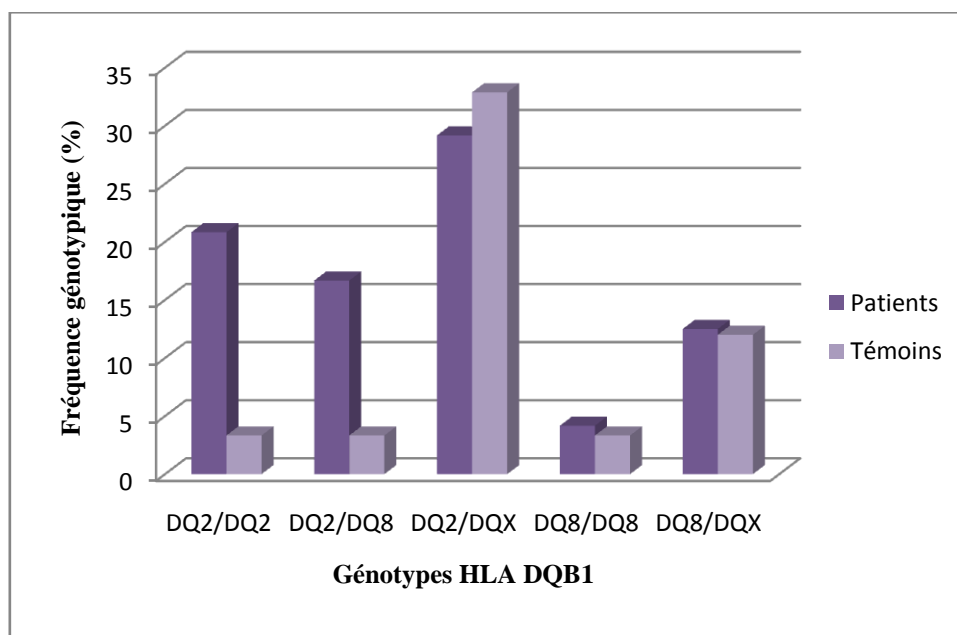


Figure 16 : Fréquence de l'homozygotie et de l'hétérozygotie des allèles HLA DQB1 chez les patients et les témoins (X étant n'importe quel allèle autre que DQ2 et DQ8)

III.1.2.5. Fréquence des haplotypes HLA DRB1*-BQB1*

L'analyse des haplotypes HLA DRB1*-BQB1* a montré une fréquence significativement plus élevée de l'haplotype HLA DR17 DQ2 (HLA DQ 2.5) chez les patients cœliaque (58,33%) par rapport aux témoins (13,70%), (OR=10,27, $P_c=3,3 \cdot 10^{-4}$).

Cependant, les haplotypes HLA DR4 DQ8 (HLA DQ 8) et HLA DR7 DQ2 (HLA DQ 2.2) ne sont pas significativement plus augmentés chez les patients par rapport aux témoins avec des fréquences respectives (5,48%) vs (16,67%), (OR=4,80, $P_c=0,087$) pour l'haplotype HLA DQ 2.2 et (6,85%) vs (25,00%), (OR=3.83, $P_c=0,061$) pour l'haplotype HLA DQ 8 (Figure 16 ; tableau X de l'annexe 3).

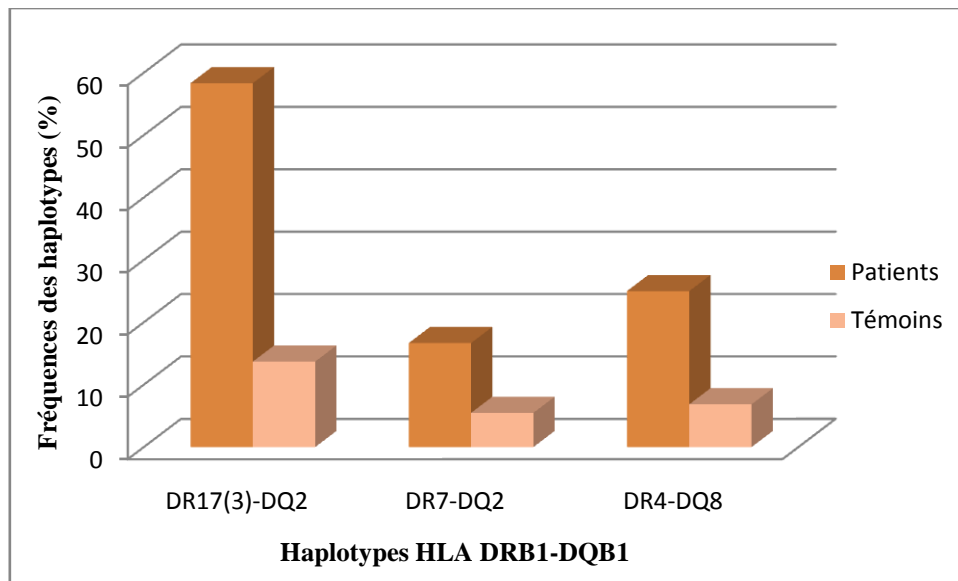


Figure 17 : Fréquence des haplotypes HLA DRB1-DQB1 chez les patients cœliaques et chez les témoins

III.2. DISCUSSION

L'association des gènes HLA avec la maladie cœliaque est connue depuis les travaux de Falchuk en 1972 et confirmée par la suite dans plusieurs travaux.

III.2.1. Phénotype de la population pour la molécule HLA classe II DQ

Lors de l'analyse des résultats du typage générique, nous avons noté que 83.33% des patients (20) présentent le phénotype DQ2 et/ou DQ8 ce qui met en évidence l'importance de ces deux molécules et leur implication dans la pathologie (Gjertsen et *al.*, 1994), et leur importance dans la présentation des peptides de la gliadine aux LTCD4.

L'hétérogénéité dans la prédisposition à la maladie cœliaque peut être due à l'existence des différents peptides antigéniques dérivants du gluten. En effet, il a été montré que les molécules DQ2 captent et présentent des peptides de la fraction γ -gliadine. En revanche, la molécule DQ8 capte et présente des peptides de la fraction α -gliadine et également la gluténine (Allam, 2008).

L'allèle HLA DQ2 est le facteur génétique de susceptibilité le plus fréquent chez nos patients, il est trouvé chez 66,67%. Ces résultats rejoignent de ceux retrouvés par Belanteur (2009) dans une précédente étude chez les enfants cœliaques dans une population algéroise (85,5%). Et à ceux rapportés par Boudjema (2005) dans la population de malades cœliaques de l'ouest algérien (73,71%). Alors que dans les populations Italienne et Norvégienne (Zubillaga et *al.*, 2002; Braham et *al.*, 1994) et du Sahara occidentale (Charron, 1997). Ce phénotype est retrouvé à des fréquences supérieures à 90%. Ainsi, une prédisposition génétique semble confirmer l'hypothèse de l'association de l'allèle HLA DQ2 à la MC dans notre population.

Dans notre étude, le phénotype DQ8 est retrouvé à une fréquence de 33,33%. Ce résultat est similaire à celui retrouvé dans la population d'Alger (29,6%) et significativement plus élevé comparé à celui de l'ouest algérien (13,2%) et à ceux des populations européennes (5 à 10%) (Boudjema, 2005 ; Braham et *al.*, 1994).

Karell (2003) a montré que les patients HLA DQ2/DQ8 négatifs sont rare. Ainsi, dans notre étude, nous avons retrouvé 16,67% (n=4) des patients qui ne sont ni DQ2 ni DQ8. Un patient présente le génotype DQ7(3)/DQ5(1) et trois présentent le génotype DQ6(1)/DQ6(1).

Le génotype DQ7(3)/DQ5(1) a été retrouvé dans une étude faite sur la population européenne.

Ces sujets DQ2 et DQ8 négatifs présenteraient un déterminisme génétique différent, qui incriminerait d'autres gènes situés sur d'autres loci en dehors de la région HLA (Trynka *et al.*, 2011). En effet les gènes HLA de classe II ne suffisent pas à eux seuls à expliquer la maladie, puisque environ de 30% des européens caucasiens possèdent d'allèle DQ2 ou DQ8, et que la maladie touche environ de 1% de la population, même en incluant les formes non diagnostiquées (De Kauwe *et al.*, 2009 ; Roujon *et al.*, 2011 ; Du Pre *et al.*, 2011).

III.2.2. Allèles HLA DQB1

Lors de l'analyse du polymorphisme HLA DQB1, les allèles HLA DQB1*02 (DQ2) et DQB1*0302 (DQ8) sont retrouvés à des fréquences respectives de (41,67%) vs (12,43%). Ces résultats sont similaires à ceux retrouvés dans la population d'Alger pour les allèles DQ2 (51,64%) et DQ8 (18,68%) (Belanteur *et al.*, 2009) et ceux des populations Italienne et Norvégienne (Zubillaga *et al.*, 2002 ; Braham *et al.*, 1994). Ce résultat concorde avec les données de la littérature qui décrivent l'allèle HLA DQ2 comme étant le facteur de susceptibilité le plus fréquent suivi par l'allèle DQ8 (Sollid *et al.*, 1989).

La fréquence de l'allèle HLA DQB1*06 (DQ6) est négativement associée à la maladie cœliaque. Ces résultats sont similaires à ceux retrouvés dans la population algéroises (Belanteur *et al.*, 2009), et ce retrouvés dans la population tunisienne ou l'effet protecteur de cet allèle a été confirmé (Laadhar *et al.*, 2009).

III.2.3. Allèles HLA DRB1

Lors de l'analyse du polymorphisme HLA DRB1, l'allèle HLA DRB1 *03 (DR 17(3)) est retrouvé à une fréquence de (37,50%). Ces résultats sont similaires à ceux retrouvés dans la population de l'ouest algérien (Boudjemaa, 2005), dans ceux d'Alger (36%) (Belanteur *et al.*, 2009) ainsi que dans la plupart des études d'association HLA et maladie cœliaque (Catassi *et al.*, 2009). Ceci confirme donc l'importance de l'allèle DR17(3) dans la survenue de la maladie cœliaque.

Quand à l'allèle DRBI*13 (DR13), il est négativement associé à la MC. Ce résultat est aussi retrouvé dans la population d'Alger (Belanteur et *al.*, 2009) et dans la population tunisienne (Laadhar et *al.*, 2009). Bien que l'effet protecteur de ce gène ait été confirmé dans la population tunisienne (Laadhar et *al.*, 2009), il ne l'est pas encore dans la population algérienne (Belanteur et *al.*, 2009).

III.2.4. Génotype HLA DQ1 / DQB1

Lors de l'analyse des génotypes obtenus chez des patients cœliaques, nous avons noté que l'allèle HLA DQ2 à l'état homozygote (DQ2/DQ2) est plus présent chez les patients. Ces patients présentent un risque important de développer la maladie cœliaque. En effet, les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) homozygotes pour HLA DQ2 provoquant des réponses cellulaires T spécifiques du gluten quatre fois plus fortes que CPA hétérozygotes HLA DQ2, ceci peut être expliqué par la forte concentration des molécules HLA DQ2 capables de présenter les peptides du gluten (Clerget et *al.*, 1994 ; Qiao et *al.*, 2005). Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés dans les populations Tunisienne, Italienne, Britanniques, Tchèque et Norvégienne (Clerget et *al.*, 1994; Bertrand et *al.*, 2006).

Cependant, l'allèle HLA DQ8 à l'état homozygote (DQ8/DQ8) présente aussi une sérologie fortement positive. Ceci peut être expliqué par un effet gène-dose au niveau du gène HLA DQ8 (Sollid et *al.*, 1989).

III.2.4. Haplotypes HLA DRB1 - DQB1

Lors de l'analyse des haplotypes HLA DRB1* - DQB1* dans notre population de patients cœliaques, nous avons enregistré une fréquence significativement plus élevée de l'haplotype HLA DR17 DQ2 (HLA DQ2.5). Ceci montre que la susceptibilité à la maladie cœliaque est plus conférée par l'haplotype HLA DQ 2.5, car celui-ci lie un plus large répertoire de peptides de gluten, comparé aux haplotypes HLA DR4 DQ8 (HLA DQ8) et DR7 DQ2 (HLA DQ2.2) (Vader et *al.*, 2003b; Ludving et *al.*, 2012; Bobb et *al.*, 2012). En effet l'allèle DR 17(3) est aussi bien fréquent indépendamment qu'associé à l'allèle DQ2. Contrairement aux allèles DR4 et DR7 qui pris indépendamment, ne présentent pas de différences significatives entre les patients et les témoins, alors qu'associés respectivement aux allèles DQ2 et DQ8, forment les haplotypes HLA DQ8 et HLA DQ2.2 et deviennent 3 fois plus fréquent chez les patients que chez les témoins (RR=3,04 ; RR 3,65) (Belanteur et

al., 2009). Ces trois haplotypes conférant la susceptibilité à la MC existent grâce au fort déséquilibre de liaison entre les allèles DR et DQ : DR17 DQ2, DR4-DQ3 et DR7 DQ2 (Bobb et *al.*, 2012).

CONCLUSION

Au terme de notre travail sur le polymorphisme génétique des molécules HLA de classe II, nous avons confirmé que la susceptibilité à cette maladie par les gènes HLA de classe II est apportée en premier lieu par l'allèle HLA DQ2 puis par l'allèle HLA DQ8.

L'association de la maladie avec l'allèle DR17(3) n'est que le fait du déséquilibre de liaison avec l'allèle DQ2. En effet l'haplotype HLA DQ 2.5 est l'haplotype le plus fréquent dans notre population de cœliaque.

Il serait plus intéressant de compléter l'étude avec un échantillonnage plus important effectué sur tout le territoire national afin d'avoir plus de données concernant le polymorphisme génétique de la maladie cœliaque en Algérie pour pouvoir établir de façon significative les fréquences génétiques de ces allèles déjà incriminés.

L'implication des allèles HLA de susceptibilité dans l'étiopathogénie de la maladie cœliaque est très bien élucidée. Cependant malgré les avancées considérables de ces dernières décennies dans la compréhension des facteurs génétiques de prédisposition et des mécanismes immuno-pathologiques qui participent à la maladie cœliaque, une grande part d'inconnu persiste, sans doute à cause de la complexité de la réponse immunitaire. Il serait intéressant :

- D'étudier l'incidence des allèles DR13 (6) et DQ6 (1) afin de confirmer ou de discréditer l'hypothèse qu'ils soient des facteurs protecteurs contre la maladie cœliaque.
- D'utiliser les nouvelles technologies de l'ADN (et de l'ARN avec le transcriptome) afin d'identifier de nouveaux gènes et allèles de susceptibilité à la maladie cœliaque toujours pas connus.

(ANNEXE 1)

Tableau III : Prévalence de la maladie cœliaque chez la population générale

Pays	Échantillon	Prévalence	Année	Référence
Amérique	Population générale	1:133	2003	(Fasano et <i>al.</i> , 2003)
Argentine	Population générale	1:167	2001	(Gomez et <i>al.</i> , 2001)
Brésil	Population générale	1:214	2007	(Oliveira et <i>al.</i> , 2007)
Égypte	Enfants	1:187	2008	(Abu-Zekry et <i>al.</i> , 2008)
Finlande	Enfants scolarisés	1:99	2003	(Maki et <i>al.</i> , 2003)
Inde du Nord	Enfants	1:100	2009	(Bhattacharya et <i>al.</i> , 2009)
Iran	Population générale	1:166	2003	(Shahbazkhani et <i>al.</i> , 2003)
Islande	Population générale	1:136	2009	(Johannsson et <i>al.</i> , 2009)
Portugal	Adolescents	1:134	2006	(Antunes et <i>al.</i> , 2006)
Royaume -uni	Enfants scolarisés Adultes	1:100 1:100	2004 2003	(Bingley et <i>al.</i> , 2004) (West et <i>al.</i> , 2003)
Suisse	Adolescents	1:132	2002	(Rutz et <i>al.</i> , 2002)
Syrie	Population générale	1:150	2004	(Challar et <i>al.</i> , 2004)
Tunisie	enfants scolarisés	1:157	2007	(Ben Hariz et <i>al.</i> , 2007)
Turquie	Enfants scolarisés	1:115	2005	(Ertekin et <i>al.</i> , 2005)

Tableau IV : Manifestation cliniques de la MC (Powell, 2008)

Symptômes digestifs		Symptômes extra-digestifs
Enfants	<ul style="list-style-type: none"> -Diarrhée -Vomissement -Douleur et distension abdominal Récente -Manque d'appétit -Intestin irritable -Retard staturo-pondéral -Retard pubertaire -irritabilité et mal-être 	<ul style="list-style-type: none"> -Anémie par carence martiale, acide folique et vitamine B12 -Hypo-protidémie - Déficit en calcuim, magnésium et zinc -Déficit en certains facteurs de la coagulation -Hypoplasie de l'émail dentaire -Aphthose buccale récidivante -Fonte musculaire -Réduction de la densité osseuse
Adultes	<ul style="list-style-type: none"> -Diarrhée chronique -Constipation (30% des cas) -Douleur et ballonnement abdominale - Amaigrissement -Asthénie, lassitude et malaise 	<ul style="list-style-type: none"> -Ostéomalacie et ostéoporose -Stérilité inexplicquée -Fausses couches à répétition -Dermatite herpétiforme

Tableau V : Maladies associés à la maladie cœliaque (Powell, 2008)

Maladies gastro-intestinales	<p>Maladies du foie : Cirrhose biliaire primaire ; Hépatite auto-immune ; Cholangite auto-immune ; Aminotransférases élevées .</p> <p>Autres : Syndrome de l'intestin irritable ; Colite microscopiques ; Gastrite ; Maladie de Crohn ; Colite ulcéraive</p>
Désordres endocrines	Diabète de type I ; Thyroïde auto-immune ; Maladie d'Addison
Désordres neurologiques	Neuropathie ; Ataxie cérébelleuse ; Epilepsie (avec des calcifications occipitales)
Maladies de la peau	Dermatite herpétiforme ; Alopécie
Troubles musculo-squelettiques	Syndrome de Sjörgen ; Arthrite ; Ostéoporose ; hypoplasie dentaire d'émail ; Syndrome chronique de fatigue
Maladie cardiaque	Cardiomyopathie dilatée idiopathique ; Myocardite auto-immune
Désordres hématologiques	Insuffisance de fer
Désordres génétiques	Syndrome de Down ; Syndrome de Turner

Photos de l'appareillage



Flash pin down



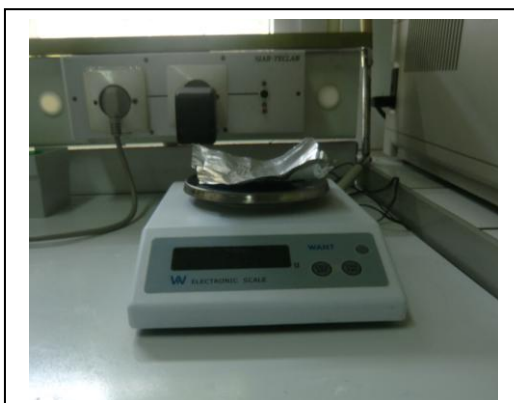
Vortex



Bain marie



Thermocycleur



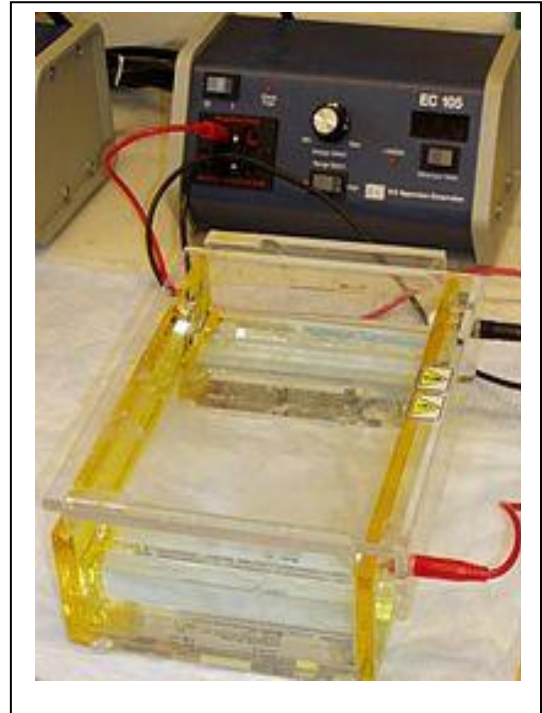
Balance de précision



Micro-onde



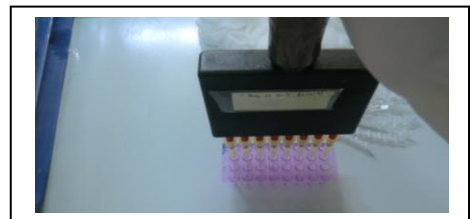
Capture de photos



Electrophorèse



Hotte à flux laminaire



Micropipette à 8 canaux



Spectrophotomètre

(ANNEXE 2)

Liste des solutions et réactifs

- Acide acétique
- Acide éthylène diamine tétra acétique
- Agarose (Genagarose*)
- Bromure d'éthidium
- Eau distillée
- Ethanol
- Protéinase K (EDB)
- Solution de lyse (LDB)
- Solution de lavage (WDB)
- Solution d'éluion (CDB)
- Tris Acétate EDTA (TAE)
- Tompon PCR
- Taq-polymérase
- Tris base

Appareillage

- Vortex
- Bain marie
- Balance de précision
- Capture de photo (GEL DOC XR Biorad)
- Centrifugeuse
- Congélateur à - 20 °C
- Electrophorèse
- Hotte à flux laminaire (FLUFRANCE).
- Micro -onde
- Micropipette à 8 canaux
- Spectrophotomètre (BioPhotometer Eppendorf)
- Thermocycleur (Applied Biosystems 9700)

Verrerie et consommable

- Appicateurs
- Bécher : 500 ml
- Colonne CAS
- Couvercle
- Pastilles de KOH ou NaOH
- Plaque PCR à 32 puits
- Porte gel
- Tube à déchets (WTS)
- Tube eppendorff
- Tube type EDTA.

(ANNEXE 3)

Tableau VI: Fréquence phénotypique des allèles HLA DR B1 chez les patients cœliaque et les témoins

Phénotype	" Patients "		" Témoins "		Pc	X ₂	Odds Ratio et IC à 95%
	N=24		N=25				
	n	(%)	n	(%)			
DQ2	16	66,67	10	41,1	0,033	2,507	3,00 [0,812-11,356]
DQ8	8	33,33	3	13,17	0,041	2,093	3,67 [0,713 -24,192]
DQ2/DQ8 négatif	4	16,67	11	45,21	0,021	3,116	0,25 [0,050 -1,117]

Tableau VII : Fréquence des allèles HLA DQ B1 chez les patients cœliaques et les témoins

HLA DQB1* générique	" Patients "		" Témoins "		Pc	X ₂	Odds Ratio et IC à 95%
	2N=48		2N=50				
	n	(%)	n	(%)			
DQ5 (1)	5	10,42	11	21,29	0,065	1,632	0,41 [0,104 -1,441]
DQ6 (1)	6	12,50	13	26,00	0,048	2,057	0,41 [0,116 -1,300]
DQ2	20	41,67	6	12,43	4,4.10 ⁻⁴	9,588	5,24 [1,887 -15,577]
DQ (7)3	6	12,50	10	20,00	0,165	0,534	0,57 [0,156 -1,938]
DQ (8)3	9	18,75	3	6,07	0,030	2,613	3,62 [0,817-21,907]
DQ (9)3	0	0	3	6,07	0,064	1,293	0,00 [0,00- 2,492]
DQ4	2	4,16	4	8,15	0,235	0,137	0,50 [0,44 -3,711]

Tableau VIII : Fréquence des allèles HLA DQRB1 chez les patients cœliaques et les témoins

HLA DQB1* générique	" Patients "		" Témoins "		Pc	X ₂	Odds Ratio et IC à 95%
	2N=48		2N=50				
	n	(%)	n	(%)			
DR1	1	2,08	2	4,24	0,324	0,000	0,51 [0,008 -10,184]
DR15 (2)	3	6,250	6	12,43	0,176	0,404	0,49 [0,075 -2,478]
DR16 (2)	0	0,00	3	5,88	0,064	1,293	0,00 [0,000 -2,492]
DR17 (3)	18	37,50	4	7,04	2,2.10 ⁻⁴	10,606	6,90 [1,970 -30,191]
DR4	13	27,08	9	17,22	0,145	0,698	1,69 [0,584 -5,044]
DR11 (5)	3	6,25	4	8,15	0,380	0,000	0,77 [0,107 -4,824]
DR12 (5)	0	0,00	3	5,15	0,064	1,293	0,00 [0,000 -2,492]
DR13 (6)	1	2,08	8	15,75	0,009	4,141	0,11 [0,002 -0,907]
DR 7	5	10,42	3	6,07	0,224	0,184	1,82 [0,330 -12,358]
DR8	1	2,08	5	10,60	0,062	1,471	0,19 [0,004-1,833]
DR 9	0	0,00	2	3,45	0,129	0,470	0,00 [0,000 -5,531]

DR 10	3	6,25	1	1,25	0,169	0,305	3,27 [0,249 -174,923]
--------------	---	------	---	------	-------	-------	-----------------------

Tableau IX : Fréquence de l'homozygotie et de l'hétérozygotie des allèles HLA DQB1 chez les patients et les témoins (X étant n'importe quel allèle autre que DQ2 et DQ8)

Génotype	" Patients "		" Témoins "		Pc	X ₂	Odds Ratio et IC à 95%
	N=24		N=25				
	n	(%)	n	(%)			
DQ2/DQ2	5	20,83	1	3,33	0,044	1,852	6,32 [0,609 -310,880]
DQ2/DQ8	4	16,67	1	3,33	0,087	0,985	4,80 [0,417 -246,024]
DQ2/DQX	7	29,17	8	32,88	0,418	0,000	0,88 [0,216 -3,494]
DQ8/DQ8	1	4,17	1	3,33	0,485	0,000	1,04 [0,013 -85,280]
DQ8/DQX	3	12,50	3	12,00	0,477	0,000	1,05 [0,126 - 8,720]

Tableau X : Fréquence des haplotypes HLA DRB1*-BQB1* chez les patients et les témoins

Haplotype	" Patients "		" Témoins "		Pc	X ₂	Odds Ratio et IC à 95%
	N=24		N=25				
	n	(%)	n	(%)			
DR17(3)-DQ2	14	58,33	3	13,70	3,3.10 ⁻⁴	9,647	10,27 [2,081 -64,737]
DR7-DQ2	4	16,67	1	5,48	0,087	0,985	4,80 [0,417 -246,024]
DR4-DQ8	6	25,00	2	6,85	0,061	1,495	3,83 [0,577 -42,107]

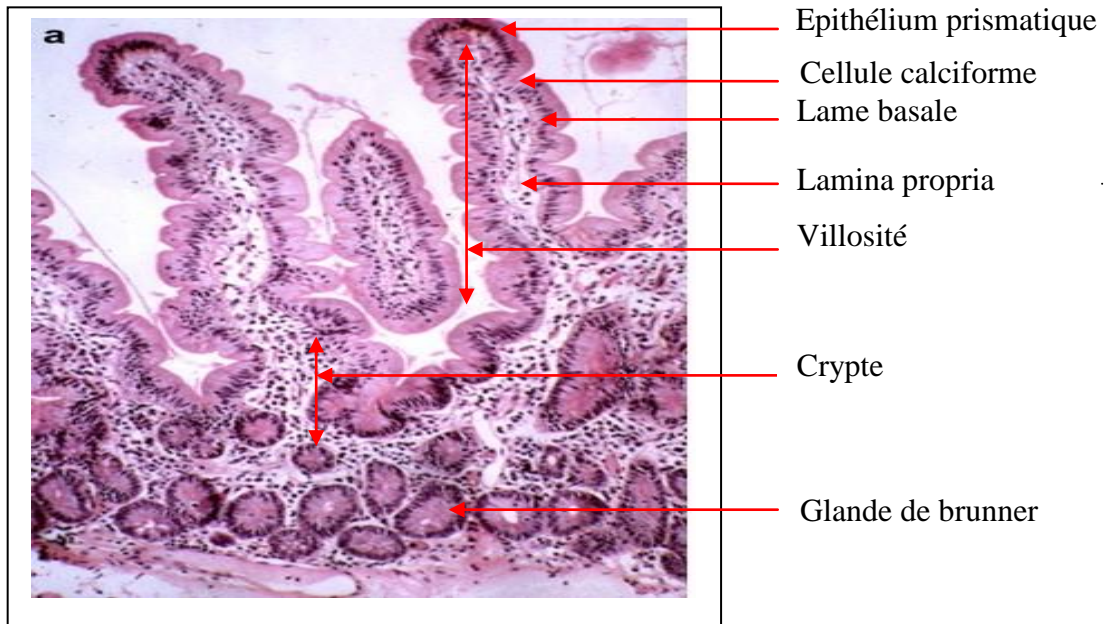


Figure 1 : Coupe histologique d'une muqueuse normale au niveau de duodénum (Verkarre et Brousse, 2013 ; Modifié)

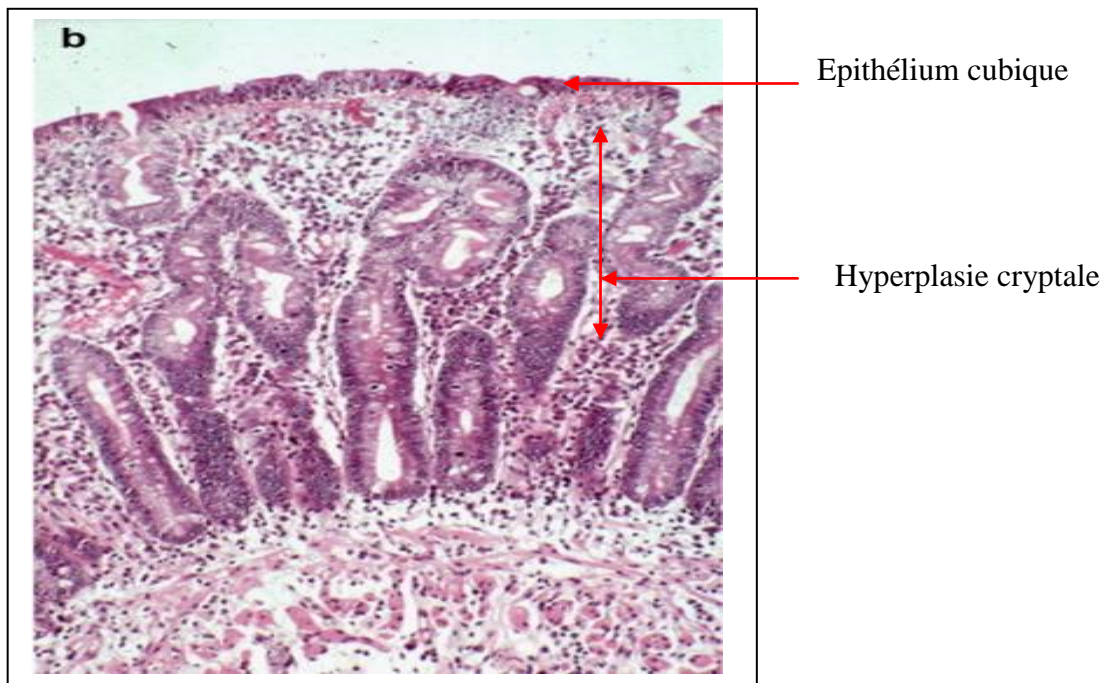


Figure 2 : Coupe histologique d'une atrophie villositaire totale au niveau de duodénum (Verkarre et Brousse, 2013 ; Modifié).

