N° d'ordre…

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
Département Biologie

THESE DE DOCTORAT

Présentée par :

Mme/Melle/Mr EL MEHADJI Douniazad

Domaine : *Sciences de la Nature et de la Vie*
Filière : *Sciences Biologiques*
Spécialité : *Biochimie Immunologie*

Intitulé

Étude physiopathologique et immunogénétique de la maladie cœliaque dans l'Ouest Algérien.

Soutenue le : …/…/……

Devant l'honorable jury composé de :

Président de jury	Pr ZAHZEH Touria	**(Professeur, Université de SBA)**
Examinateur	Pr ALLAM Rachida	**(Professeur, Université de Chlef)**
	Dr REMIL Asma	**(MCA, Université de SBA)**
	Dr BACHIR BOUAIDJRA Chahrazed	**(MCA, Université de SBA)**
Promoteur	Pr YEKROU Djamila	**(Professeur, Université de SBA)**
Co-Promoteur	Pr HARIR Noria	**(Professeur, Université de SBA)**
Invité d'honneur :	Dr DRICI Amine El-Mokhtar	**(MCB, Université de SBA)**

Année universitaire 2022 - 2023


بسم الله الرحمن الرحيم



REMERCIEMENTS

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Nos sincères remerciements sont adressés aussi, à notre directrice de thèse : ***Professeur YEKROU Djamila****, et notre Co -directrice de thèse* ***Professeur HARIR Noria****, qui sont toujours à l'écoute et elles étaient très disponibles tout au long de la réalisation de ce travail, les conseils qu'elles nous ont prodiguées et leurs encouragements furent très précieux pour l'accomplissement de ce projet de thèse.*

Mes professeurs, nous saisissons cette occasion pour vous exprimer notre profonde gratitude et notre reconnaissance la plus grande. Merci.

Ainsi, nous tenons à adresser un immense Merci au responsable de laboratoire de recherche et de développement « Gene life sciences » ***Docteur Drici Amine El-Mokhtar*** *qui nous a vraiment aidés dans notre recherche par la mise à notre disposition de son laboratoire avec tous ses équipements sans oublier ses orientations, son aide et ses conseils qui nous ont poussés à avancer dans notre travail.*

Nous ne pouvons jamais négliger la contribution efficace de l'équipe de service de pédiatrie C, clinique A CHU d'Oran dans la réalisation de ces travaux, et bien sûr nous tenons à remercier chaleureusement le Professeur ***Karim -Nedjadi Bouziane*** *et le* ***Docteur Latroch Charef,*** *nous tenons à leurs remercier d'avoir participer à mener à bien notre travail qui sans leurs aides, n'aurait pas pu être accompli.*

Nos vifs et sincères remerciements vont à tous ceux qui nous ont aidés et soutenus afin de concrétiser ce travail. Veuillez trouver dans ce travail le témoignage de nos sentiments les plus sincères et les plus affectueux.

Nous sommes très honorées que ***Professeur Zahzeh Touria*** *ait accepté de présider ce jury. Nous tenons à lui exprimer nos reconnaissances et notre profonde gratitude.*

Nous tenons à exprimer, également, nos remerciements et notre profonde gratitude au ***Professeur Allam Rachida*** *et aux* ***Docteur Remil Asma*** *et* ***Docteur Bachir Bouaidjra Chahrazed*** *qui ont accepté d'examiner notre travail. Leurs participations à ce jury constituent pour nous un honneur.*

Nous tenons à remercier nos chers parents, ils ont consenti beaucoup de sacrifice pour nous assurer ce modeste travail.

Enfin, nous tenons à remercier toute la famille « ***ELMEHADJI*** *» pour leurs précieuses aides*

Leurs soutiens, leurs encouragements et leurs compréhensions.

Merci !...



DEDICACES

A Mes très chers parents

- *Source de vie, d'amour et d'affection*

Eternelle reconnaissance et gratitude à ma mère et mon père pour leurs assistances, quasi présence dans ma vie, sacrifices déployés. Merci pour le soutien, les précieux conseils. Je vous aime énormément. Je prie le bon Dieu de veiller sur eux et les garder en bonne santé, en espérant qu'ils soient toujours très fiers de moi.

A Ma chère grand-mère

Immense merci pour tes prières et tes encouragements m'ont aidé à avancer et à persévérer, que le bon Dieu te garde et te procure santé et bonheur.

A la mémoire de mon cher grand-père

Merci de m'avoir toujours encouragé dans mon parcours scolaire. J'aurais bien voulu que tu sois parmi nous en ce jour mémorable. Paix à son âme.

A Mes chères adorables sœurs, et cher frère

- *Source de joie et de bonheur*

Merci pour le soutien tout au long de la réalisation de ce travail, que Dieu vous protège et consolide les liens sacrés qui nous unissent, je vous souhaite beaucoup de succès, chacun d'entre vous dans votre vie personnelle et professionnelle

A Toute ma famille

- *Source d'espoir et de motivation*

Je vous remercie énormément pour votre soutien, encouragements, votre présence lors des moments difficiles tout au long de mes études et au cours de la réalisation de ce travail. Je vous dédie ce travail en témoignage de l'amour et du respect que j'ai pour vous. Mes vœux de santé et bonheur.

A tous qui m'ont aidée à réaliser ce travail.

A Tous mes amis et collègues.

A vous chers lecteurs.

Douniazad El Mehadji

RESUME

La maladie cœliaque (MC) appelée également "entéropathie sensible au gluten", est une affection inflammatoire chronique systémique d'origine auto-immune, déclenchée chez des sujets génétiquement prédisposés qui pose un problème de santé publique majeur clinique et séro-immunologique. Cette pathologie se développe à tout âge de la vie mais se manifeste différemment chez les enfants et les adultes.

L'objectif de ce travail, dans un premier temps, était de déterminer le profil épidémiologique, clinique, immuno--sérologique de la maladie cœliaque infantile et de la comparer avec celle diagnostiquée chez l'adulte dans une population de l'Ouest Algérien. Nous avons également étudié l'impact de l'adhérence au régime sans gluten à long terme sur la prise en charge de cette maladie. Dans un deuxième temps, nous avons évaluer l'impact de la diversité génétique où le polymorphisme du gène codant pour l'interleukine 6, principalement les deux variants : IL6 (IL6-AS1) (rs1800795) (-174G/C), IL 6 (rs 1800796) (-572 G/C) sur le développement ainsi que la sévérité de la maladie cœliaque et son évolution.

A la lumière de ce travail rétrospectif observationnel, on a constaté une prédominance féminine. La symptomatologie clinique se définissait par des formes typiques (73.2%) et atypiques (26.8%) : troubles digestifs (47.2%), extra digestives (14.4%) ainsi que des troubles digestifs associées à des manifestations extra digestives (38.4%). Une prévalence d'anémie de (73.6%). De plus, qu'une association avec des maladies auto-immunes (14.8%). La séropositivité était notée chez (77.6%), l'histologie a objectivé une atrophie villositaire de grade partielle (54%). Nous avons noté, l'existence des liens de corrélations significatives ($P<0.05$) entre l'âge d'apparition de la maladie et l'âge de diversification alimentaire, aussi avec l'âge d'allaitement maternel, entre les anticorps anti-transglutaminase et anti-endomysium.

Pour l'étude de l'adhérence au régime alimentaire nous avons sélectionné deux groupes : le groupe A pour le régime non conforme (39.6 %) et le groupe B pour le régime conforme (60.4 %). Nous avons noté une différence significative entre l'âge actuel des deux groupes d'adhésion ($P=0.008$) et l'indice de masse corporelle (IMC) ($P<10^{-3}$). Cependant, nous avons remarqué une différence significative entre la sérologie sous régime et les deux groupes ($P=0.001$) et également avec le grade d'histologie ($P<10^{-3}$). De plus, une réduction significative des IgA et IgG anti-t-TG dans le groupe B ($P=0.001$).

Nous avons à la suite comparée, selon l'âge, trois groupes : nourrissons, enfants et adultes atteints de la maladie cœliaque et nous avons noté une fréquence plus élevée des maladies auto-immunes associées chez les adultes : Thyroïdie (8.1%), maladie de Crohn (5.4%) et lupus (0.9%) ($P < 0.001$). La sérologie était fortement positive dans les trois groupes d'âge ; il y avait une différence significative avec le dosage des anti-transglutaminases d'IgG ($P < 10^{-3}$). La bonne adhérence au régime alimentaire sans gluten était plus marquée chez les enfants que chez les adultes (P=0.001).

L'analyse du profil immunogénétique n'a pas montré de différence significative dans la distribution des fréquences alléliques et génotypiques des deux SNP IL6 (ASI) : (rs 1800795) et (rs1800796) respectivement entre les patients atteints de la maladie cœliaque et les témoins ($P > 0.05$).

En ce qui concerne les corrélations génotypiques, aucune association significative n'a été notée entre les SNP : (rs1800795) et (rs1800796) et l'âge, l'âge d'apparition de la maladie, la symptomatologie clinique, la sérologie, l'histologie et le régime sans gluten soit : (rs1800795) :(P=0.468), (P=0.260), (P=0.573), (P=0.502), (P=0.492), (P=0.117) respectivement et (rs1800796) : (P=1.281), (P=5.062), (P=0.612), (P=0.748), (P=0.293), (P=0.753) respectivement.

Données de notre étude ont globalement été en parfaite corrélation avec les données théorique.

Mots Clés : Maladie cœliaque, symptomatologie clinique, adhérence au régime, polymorphisme IL6(rs1800795) (-174G/C), IL6 (rs 1800796) (-572 G/C),gluten.

ABSTRACT

Celiac disease (CD), also called "gluten-sensitive enteropathy", is a chronic systemic inflammatory disease of autoimmune origin, triggered in genetically predisposed subjects, which poses a major clinical and sero-immunological public health problem.

CD is very common due to its prevalence of 1 to 3% of the general population, all races and countries combined, with a homogeneous distribution throughout the world. Although in Algeria it increases significantly in the eastern region and is exceptional in the Sahara. This pathology develops at any age of life but manifests itself differently in children and adults.

The objective of this work was to determine the epidemiological, clinical, immune-serological profile of childhood celiac disease and to compare it with that diagnosed in adults in a population of Western Algeria.

We also studied the impact of long-term adherence to the gluten-free diet on the management of this disease. In a second step, we evaluated the impact of genetic diversity or polymorphism of the gene coding for interleukin 6, mainly the two variants: IL6 (IL6-AS1) (rs1800795) (-174G/C), IL 6 (rs 1800796) (-572 G/C) on the development as well as the severity of celiac disease and its evolution.

The epidemiological approach of celiac disease in the Western Algerian region included all age and gender groups.

This retrospective observational study revealed a predominance of women. Clinical symptoms were defined by typical (73.2%) and atypical (26.8%) forms: digestive disorders (47.2%), extra digestive disorders (14.4%) and digestive disorders associated with extra digestive manifestations (38.4%). A prevalence of anemia (73.6%). In addition, an association with autoimmune diseases (14.8%).

Seropositivity was noted in (77.6%), histology showed partial grade villous atrophy (54%). We noted the existence of significant correlations ($P<0.05$) between the age of onset of the disease and the age of dietary diversification, as well as with the age of breast-feeding, and between anti-transglutaminase and anti-endomysium antibodies.

For the study of diet adherence, we selected two groups: group A for the non-compliant diet (39.6%) and group B for the compliant diet (60.4%). We noted a significant

difference between the current age of the two membership groups (P=0.008) and with body mass index (BMI) ($P<10^{-3}$).

However, we noted a significant difference between serology on the diet and both groups (P=0.001), and also with histology grade ($P<10^{-3}$). There was also a significant reduction in anti-TG IgA and IgG in group B (P=0.001).

We then compared three age groups: infants, children and adults with celiac disease, and noted a higher frequency of associated autoimmune diseases in adults: Thyroidism (8.1%), Crohn's disease (5.4%) and lupus (0.9%) ($P < 0.001$). Serology was strongly positive in all three age groups; there was a significant difference with IgG anti-transglutaminase assay ($P < 10^{-3}$). Good adherence to the gluten-free diet was more marked in children than in adults (P=0.001).

Analysis of the immunogenetic profile showed no significant difference in the distribution of allelic and genotypic frequencies of the two IL6 (ASI) SNPs: (rs 1800795) and (rs1800796) respectively between celiac disease patients and controls ($P > 0.05$).

As regards genotypic correlations, no significant association was noted between SNPs: (rs1800795) and (rs1800796) and age, age of onset of disease, clinical symptomatology, serology, histology and gluten-free diet, i.e.: (rs1800795): (P=0. 468), (P=0.260), (P=0.573), (P=0.502), (P=0.492), (P=0.117) respectively and (rs1800796): (P=1.281), (P=5.062), (P=0.612), (P=0.748), (P=0.293), (P=0.753) respectively.

Overall, the data from our study correlated perfectly with the theoretical data.

Keywords: Celiac disease, clinical symptomatology, diet adherence, IL6(rs1800795) (-174G/C) polymorphism, IL6 (rs 1800796) (-572 G/C).

الملخص

مرض الاضطرابات الهضمية (CD)، المعروف أيضا باسم اعتلال الأمعاء الحساس للجلوتين، هو مرض التهابي جهازي مزمن من أصل مناعي ذاتي، يتم إثارته في الأشخاص المهيئين وراثيا والذي يشكل مشكلة صحية عامة سريرية ومناعية مصلية كبيرة. يتطور هذا المرض في أي سن من العمر ولكنه يتجلى بشكل مختلف عند الأطفال والبالغين

كان الهدف من هذا العمل، في البداية، هو تحديد الصورة الوبائية والسريرية والمناعية المصلية لمرض الاضطرابات الهضمية في مرحلة الطفولة ومقارنتها بتلك التي تم تشخيصها لدى البالغين في سكان غرب الجزائر. قمنا أيضا بالتحقيق في تأثير الالتزام بالنظام الغذائي الخالي من الغلوتين على المدى الطويل على إدارة هذا المرض. في الخطوة الثانية، قمنا بتقييم تأثير التنوع الجيني حيث تعدد الأشكال للجين المشفر للانترلوكين 6، وخاصة المتغيرين-1800795للوضعية-174و1800796للوضعية - 572على تطور وشدة مرض الاضطرابات الهضمية وتطوره.

في ضوء هذا العمل القائم على الملاحظة، لوحظت النتائج ان الاغلبية للإناث من حيث الجنس. تم تعريف الأعراض السريرية من خلال أشكال نموذجية (73.2٪) وغير نمطية (26.8٪): اضطرابات الجهاز الهضمي (47.2٪)، اضطرابات الجهاز الهضمي الإضافية (14.4٪) وكذلك اضطرابات الجهاز الهضمي المرتبطة بالمظاهر خارج الجهاز الهضمي (38.4٪). انتشار فقر الدم بنسبة (73.6٪). بالإضافة إلى ذلك، ارتباط مع أمراض المناعة الذاتية (14.8 ٪). لوحظت الإيجابية المصلية في (77.6٪)، وعلم الأنسجة جسمت ضمور الزغب الجزئي (54٪). لاحظنا وجود ارتباطات كبيرة ($P<0.05$) بين عمر ظهور المرض وعمر التنويع الغذائي، وكذلك مع عمر الرضاعة الطبيعية، بين الأجسام المضادة المضادة للجلوتاميناز والأجسام المضادة المضادة لبطانة الزغابة المعوية.

لدراسة الالتزام بالنظام الغذائي، اخترنا مجموعتين: المجموعة أ للنظام الغذائي غير المتوافق (39.6٪) والمجموعة ب للنظام الغذائي المتوافق (60.4٪). لاحظنا وجود فرق كبير بين العمر الحالي لمجموعتي الالتصاق P = 0.008 ومع مؤشر كتلة الجسم $P<10^{-3}$. ومع ذلك، لاحظنا فرقا كبيرا بين الأمصال الغذائية وكلا المجموعتين (0.001) وأيضا مع درجة الأنسجة ($P<10^{-3}$). بالإضافة إلى ذلك، انخفاض كبير في مضاد t-TG IgA و IgGفي المجموعة ب ($P = 0.001$).

ثم قارنا، حسب العمر، ثلاث مجموعات: الرضع والأطفال والبالغين المصابين بمرض الاضطرابات الهضمية ولاحظنا ارتفاع وتيرة أمراض المناعة الذاتية المرتبطة لدى البالغين: الغدة الدرقية (8.1٪) ومرض كرون (5.4٪) والذئبة (0.9٪) ($P < 0.001$). كان الأمصال إيجابيا قويا في جميع الفئات العمرية الثلاث؛ كان هناك فرق كبير مع جرعة IgG المضادة للجلوتامينازات ($P < 10^{-3}$). كان الالتزام الجيد بالنظام الغذائي الخالي من الغلوتين أكثر وضوحا عند الأطفال منه عند البالغين ($P = 0.001$).

لم يُظهر تحليل المظهر الجانبي المناعي أي فرق كبير في توزيع تردد الأليل والنمط الجيني لاثنين من rs 1800795 و1800796 على التوالي بين المرضى الذين يعانون من مرض الاضطرابات الهضمية والضوابطP> 0.05.

فيما يتعلق بالارتباطات الوراثية، لم يلاحظ أي ارتباط كبير بين تعدد الأشكال: rs1800795وrs1800796، وعمر ظهور المرض، والأعراض السريرية، وعلم الأمصال ، وعلم الأنسجة والنظام الغذائي الخالي من، وعمر ظهور المرض ، والأعراض السريرية ، وعلم الأمصال ، وعلم الأنسجة والنظام الغذائي الخالي من الغلوتين إما:

(rs1800795):فيما يخص (P = 0.468) ، (P =0.260) ، (P = 0.573) ، (P = 0.502) ، (P = 0.492) ، (P = 0.117) على التوالي و :(1800796)فيما يخص (P = 1.281) ، (P = 5.062)، (P = 0.612)، (P = 0.748) (P = 0.293)، (P = 0.753) على التوالي.

الكلمات المفتاحية: مرض الاضطرابات الهضمية، الأعراض السريرية، الالتزام بالنظام الغذائي، تعدد الأشكال للانترلوكين 6 1800795للوضعية -174و1800796للوضعية -572

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS ..... **II**
DEDICACES ..... **IV**
RESUME ..... **V**
ABSTRACT ..... **VII**
الملخص ..... **IX**
TABLE DES MATIÈRES ..... **XI**
Liste des abréviations ..... **XV**
LISTE DES FIGURES ..... **XVII**
LISTE DES TABLEAUX ..... **XIX**
INTRODUCTION **1**
Chapitre I : Généralité de la maladie cœliaque **4**
I.2.1 Mondial 5
I.2.2 En Algérie 6
I.3.1 Rappels Anatomiques 7
I.3.2 Rappels histologiques 7
I.3.2.1 Histologie normale de l'intestin grêle 7
I.3.2.2 Histologie de la maladie cœliaque 9
I.3.2.3 Autres lésions histologiques 11
I.4.1 Epidémiologie descriptive 12
I.4.1.1 Incidence 12
I.4.1.2 Prévalence 12
I.4.1.3 Mortalité 13
I.4.2 Epidémiologie analytique 14
I.4.2.1 Facteurs de risque personnels 14
I.4.2.2 Facteurs exogènes 14
I.4.2.3 Facteurs génétiques 15
I.4.2.4 Facteurs Environnementaux 17
Chapitre II : Immunologie et physiopathologie de la maladie coeliaque **27**
II.1.1 Les principaux composants de la réponse immunitaire intestinale 28
II.1.1.1 Le Complexe majeur d'histocompatibilité CMH / HLA (Humans Leucocyte Antigen) 28
II.1.1.2 Les cellules dendritiques intestinales 31
II.1.1.3 Les tissus lymphoïdes associés à l'intestin (GALT) 35
II.1.2 Réponse immunitaire intestinale 37

II.1.2.1 Les barrières naturelles 39
II.1.2.2 L'immunité intestinale innée 39
II.1.2.3 L'immunité intestinale adaptative 40
II.1.3 La tolérance immunitaire 41
II.2.1 Réaction immunitaire au cours de la maladie cœliaque 44
II.2.1.1 Réponse humorale au cours de la maladie cœliaque 44
II.2.1.2 Réponse immunitaire innée au cours de la MC 45
II.2.1.3 Réponse immunitaire adaptative au cours de la maladie cœliaque 46
II.2.2 La susceptibilité génétique de la maladie cœliaque 47
II.2.2.1 Immunogénétique de la MC 47
II.3.1 Polymorphisme 48
II.3.1.1 Polymorphismes de système HLA dans la MC 49
II.3.2 Polymorphisme de l'interleukine 6 52
II.3.2.1 L'interleukine 6 52
II.3.2.2 Polymorphisme de l'IL6 (-174 G/C) (rs 1800795), IL6 (-572G/C) (rs1800796) 55
Chapitre III : Approches diagnostic et thérapeutiques de la maladie coeliaque 56
III.1.1 Critères de diagnostic 57
III.1.1.1 Diagnostic sérologique 57
III.1.1.2 Diagnostic histologique 60
III.1.1.3 Le test salivaire 60
III.1.1.4 Le test rapide : BIOCARD Celiac 61
III.1.1.5 Diagnostic génétique 61
III.1.1.6 L'endoscopie digestive 61
III.1.1.7 Bilan biologique 61
III.4.1 Qui dépister et comment dépister ? 63
III.4.2 Recommandations 63
III.6.1 Instauration du traitement 65
III.6.1.1 Définition d'un produit sans gluten 65
III.6.1.2 Aliments autorisés et aliments interdits dans le régime sans gluten 66
III.6.1.3 Perspectives diététiques liées au RSG 66
III.6.2 Suivi 67
III.6.3 Traitement médical 67
III.6.4 Autres approches thérapeutiques 67
Partie Pratique 70
IV.2.1 Type de l'étude 71

IV.2.2 Population et recrutement 71
IV.2.2.1 Population pédiatrique et adulte 71
IV.2.3 Déroulement de l'étude 72
IV.2.3.1 Questionnaire de base 72
IV.2.3.2 Considérations éthiques 72
IV.3.1 Type de l'étude 73
IV.3.2 Population et recrutement 73
IV.3.2.1 Groupe des cas (Malades cœliaques) 73
IV.3.2.2 Groupe des témoins 74
IV.3.2.3 Considération éthiques 74
IV.3.3.1 Questionnaire de base 74
IV.3.4 Techniques expérimentales 75
IV.3.4.1 Mode opératoire 75
IV.3.5 Les polymorphismes étudiés chez les patients cœliaques et les témoins 79
IV.3.5.1 IL -6 (IL6-AS1) (rs1800795) (-174 G/C) 79
IV.3.6 Analyse statistique du génotypage des polymorphismes (rs1800795) (-174G/C) et (rs1800796) (-572G/C). 81
CHAPITRE V : RESULTATS 82
Résultats 82
V.1.1 Présentation de l'article 1 83
V.1.1.1 Résumé des résultats 83
V.1.2 Présentation de l'article 2 91
V.1.2.1 Résumé des résultats 91
V.1.3 Présentation de l'article 3 100
V.1.3.1 Résumé des résultats 101
V.2.1 Résultats épidémiologiques 117
V.2.1.1 Répartition des échantillons selon le sexe et l'âge 117
V.2.1.2 Répartition des patients cœliaques selon les caractéristiques cliniques 118
V.2.2 Résultats Moléculaires 118
V.2.2.1 Corrélations génétiques 118
V.2.3 Résultats de la détermination du génotype des patients cœliaques et des individus sains 120
V.2.4 Corrélations entre les génotypes d'IL-6(ASI) et les caractéristiques cliniques (enfants cœliaques et témoins sains) 123
V.2.4.1 L'âge, l'âge d'apparition de la maladie et le sexe 123
V.2.4.2 Symptomatologie clinique, sérologie, grade de l'atrophie villositaire et la prise en charge diététique 124

CHAPITRE VI : DISCUSSION 126
DISCUSSION 126
CONCLUSIONS 137
PERSPECTIVES 139
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 141
ANNEXES 170
Liste des Annexes **171**

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Ac	Anticorps
ADN	Acide Désoxyribonucléique
Ag	Antigène
AGA	Anticorps anti-Gliadine
AGCC	Acide Gras à Chaine Courte
ARN	Acide Ribonucléique
ARNm	Acide Ribonucléique messager
CCR	Chemokine C-C motif Receptor
CD	Cluster de Différentiation
CEI	Cellules Epithéliales de l'intestin
CM	Cellule M
CMH	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CPA	Cellule Présentatrice d'Antigènes
CTL	Lymphocyte T cytotoxique
CTLA-4	Cytotoxic T Lymphocyte Associated protein 4
dNTPs	Désoxyribonucléotides-Tri-Phosphates
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EMA	Anticorps anti-Endomysium
ESPGHAN	Société Européenne de Gastro-Entérologie, Hépatologie et Nutrition Pédiatrique
FAE	Follicule Associated Epithélium
FLI	Follicules Lymphoïdes Isolés
FoxP3	Facteur de transcription for head box P3
GALT	Gut Associated Lymphoid Tissue
GATA	GATA binding protein 3
GTP	Guanosine Triphosphatase
GWAS	Genome Wild Association Studies
HLA	Human Leucocyte Antigen
ICOS	Inducible T-cell Costimulator
IEC	Intestinal Epithélial Cell
IFI	Immunofluorescence indirecte
IFN	Interferon
IFR	Régions Inter folliculaires
Ig	Immunoglobuline
ILC	Cellules Lymphoïdes inées
IL	Interleukine
Kb	Kilobases
KDa	Kilo Dalton
LB	Lymphocyte B
LIE	Lymphocyte Intra-Epithélial
LP	Lamina Propria
LPP	Lipoma Preferred Partner
LT	Lymphocyte T
LTh	Lymphocyte T helper
LTreg	Lymphocyte T régulateur
MAIs	Maladies Auto Immunes
MC	Maladie Cœliaque
MgCl2	Chlorure de magnésium
MIC	MHC Classe I Chain-related genes
MLN	Mesenteric Lymph Nodes
µL	microlitre
min	minute
ml	millilitre
ND	Non déterminé
NIH	National Institute of Health
NK	Natural Killer
NKT	Natural Killer T
NOD	Nuclear Oligomerisation Domain
PAMPs	Pathogen-Associated Molecular Patterns
PCR	Polymerase Chain Reaction

PM	Poids Moléculaire
PNN	Polynucléaires Neutrophiles
PP	Plaque de Payer
PR	Polyarthrite Rhumatoïde
PRR	Pattern Recognition Receptor
RA	Retinoic Acid
RGS	Regulator of G-protein Signaling 1
RFLP	Réaction de polymorphisme de longueur de fragment
RSG	Régime Sans Gluten
SH2B3	Src Homology 2-B protein 3
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
UTR	Untranslated Region
UV	Ultraviolet

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : Structure anatomique gastro-intestinale de l'homme …… **7**

Figure 02 : Les différentes couches de l'intestin grêle ……. **8**

Figure 03 : Schéma représentatif de l'histologie générale de la paroi intestinale … **8**

Figure 04 : Comparaison entre une muqueuse normale et une atrophie villositaire totale (Gx160) ……..……... **9**

Figure 05 : Classification simplifiée des prolamines des céréales. Les gliadines et gluténines du blé, de l'avoine, de l'orge et du seigle constituant le gluten sont encadrées ……..…… **18**

Figure 06 : Structure du gluten ……..…… **19**

Figure 07 : La liaison entre le peptide du gluten et la molécule HLA DQ2/DQ8 … **19**

Figure 08 : Le rôle du microbiote intestinal dans la pathogénèse de la MC …… **21**

Figure 09 : Interaction entre le microbiote commensal et la couche de mucus (TLR) ……..…….... **22**

Figure 10 : Interaction entre le microbiote commensal, la barrière épithéliale et les cellules immunitaires innées pour le maintien de l'homéostasie dans la muqueuse ……..…….. **23**

Figure 11 : La relation entre la dysbiose et la MC ……... **24**

Figure 12 : Localisation et organisation du complexe HLA au niveau du chromosome 6 ……..……... **29**

Figure 13 : La structure des molécules HLA-DQ2/HLA-DQ8 …… **30**

Figure 14 : La présentation antigénique via les haplotypes HLA-DQ DQ …….. **31**

Figure 15 : La distribution des DC dans les PP …… **33**

Figure 16 : Distribution et fonction des cellules dendritiques dans la Lamina propria ……..……... **34**

Figure 17 : La composition de follicule de PP et du GALT humain …… **36**

Figure 18 : Les principaux composants du système immunitaire intestinal ……. **38**

Figure 19 : Schéma représentatif des principaux composants de la réponse immunitaire intestinale ……..…….. **38**

Figure 20 : L'immunité innée dans l'intestin grêle …….. **40**

Figure 21 : Réponse immunitaire adaptative et le microbiote intestinal face aux infections ……..……... **41**

Figure 22 : Mécanisme global de l'immunopathologie de la MC …… **43**

Figure 23 : Processus de l'immunité innée au cours de la maladie cœliaque …….. **46**

Figure 24 : Processus de la réponse immunitaire adaptative de la MC …… **47**

Figure 25 : La structure de l'interleukine-6 …….. **53**

Figure 26 : Les différentes voies de signalisation activées par IL-6 …… **54**

Figure 27 : Algorithme de la recherche d'anticorps lors du diagnostic d'une maladie cœliaque selon les recommandations de la NASPGHAN (mise a` jour de l'HAS juin 2008) …… **58**

Figure 28 : Schéma simplifié du protocole d'extraction de l'ADN …… **77**

Figure 29 : Principe d'un cycle PCR ……..……... **78**

Figure 30 : Le profil électrophorétique des produits de la PCR des cas cœliaques d'IL-6 (rs1800795) (-174G/C) et (rs1800796) (-572 G/C) …… **119**

Figure 31 : Le profil généré des fragments par la RFLP d'IL 6 (-174 G/C) (rs1800795) ……..……... **120**

Figure 32 : Le profil généré des fragments par la RFLP d'IL 6 (-572 G/C) (rs1800796) ……..……... **120**

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I :	Historique de la maladie cœliaque ……...	**6**
Tableau II :	Classification selon Marsh pour grader les lésions ou atrophie villositaire de la maladie cœliaque ……...	**10**
Tableau III :	La prévalence de la maladie cœliaque dans le monde …….	**13**
Tableau IV :	La prévalence de la maladie cœliaque en Algérie ……...	**13**
Tableau V :	Les différentes peptides immunotoxiques du gluten reconnus par les groupes HLA-DQ2 et HLA-DQ8 ……...	**20**
Tableau VI :	Les formes cliniques de la maladie cœliaque ……..	**25**
Tableau VII :	Les principaux signes cliniques en fonction de leurs formes chez les enfants et les adultes …….....	**25**
Tableau VIII :	Les principales manifestations cliniques et paracliniques de la maladie cœliaque …….....	**26**
Tableau IX :	les principaux marqueurs sérologiques vu spécificité et sensibilité ……..……....	**58**
Tableau X :	Recommandations NICE pour pratiquer un dépistage de la MC pour des patients présentant des signes cliniques ……..	**64**
Tableau XI :	Recommandations ACG pour lesquels un dépistage doit être envisagé ……..……...	**65**
Tableau XII :	Aliments autorisés et aliments interdits dans le régime sans gluten ……..…….....	**66**
Tableau XIII :	Les différentes avancées thérapeutiques de la maladie cœliaque …..	**68**
Tableau XIV :	Répartition de l'échantillon selon le sexe …….	**75**
Tableau XV :	Processus de la PCR à partir des amorces et température …….....	**79**
Tableau XVI :	Les régions de polymorphismes d'IL 6 (-174) identifiée par RFLP et l'enzyme NLa III …….....	**81**
Tableau XVII :	Les régions polymorphiques d'IL6 (rs 1800796) (-572) identifiée par RFLP et l'enzyme BsrBI …….....	**81**
Tableau XVIII :	Répartition des cas-témoins selon les caractéristiques de base (sexe et Age) …….....	**117**
Tableau XIX :	Répartition des patients cœliaques selon les caractéristiques cliniques ……..……..	**118**
Tableau XX :	Distribution alléliques et génotypiques du SNP rs1800795 (-174G/C) chez les patients atteints de MC et les témoins sains ……	**121**
Tableau XXI :	Distribution alléliques et génotypiques du SNP rs1800796 (-572G/C) chez les patients atteints de MC et les témoins sains ……	**122**

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La maladie cœliaque (MC) est une entéropathie inflammatoire chronique et systémique auto-immune déclenchée par l'ingestion du gluten chez des personnes génétiquement sensibles **(Guandalini & Assiri, 2014)**.

Histologiquement, on définit la maladie par la présence des lésions intestinales ; ces lésions sont caractérisées par une atrophie villositaire (AV), une augmentation du nombre des lymphocytes intraépithéliaux (LIE), une hyperplasie des cryptes et une augmentation de la densité cellulaire du chorion **(Sulkanen *et al.*, 1998; Trier, 1998)**.

Les marqueurs immuno-sérologiques de sensibilités et de spécificités élevées telle que : les anticorps anti gliadine (AGA) ou anti-réticuline et anti endomysium (EMA) et anti transglutaminase tissulaire (Ttg2) ont permis de confirmer le diagnostic de la maladie cœliaque **(Roujon, Sarrat, *et al.*, 2013a)**.

L'immunogénétique a été impliquée dans la survenue de la maladie mettant en jeu l'expression d'allèles spécifiques de susceptibilité qui implique 40 % des gènes d'histocompatibilité HLA de classe II codant la molécule HLA-DQ2, et ceux codant la molécule HLA- DQ8. La prévalence plus élevée de HLA DQ2 est notée chez les enfants, alors que le HLA DQ8 est plus fréquent chez l'adulte **(Roujon, Guidicelli, *et al.*, 2013)**.

La fréquence de la maladie est mondiale même si son hétérogénéité de présentation clinique explique que la majorité des cas restent non diagnostiqués.

Dans le monde la maladie cœliaque constitue un problème majeur de santé publique, due à une incidence augmentée lors des dernières décennies et une prévalence de 1%-3% de la population générale.

En Algérie la prévalence est exceptionnelle chez les enfants sahraouis, elle est de 56/1000 **(Catassi *et al.*, 1999).**

Le diagnostic de la MC est établi sur la combinaison des critères cliniques, des tests sérologiques et histologiques et de la réponse à un régime sans gluten **(Verkarre & Brousse, 2013)**.

La MC est une maladie multifactorielle, sa pathogénie apparait par l'association des facteurs génétiques, immunologiques et environnementaux. L'ingestion du gluten demeure

le facteur environnemental principal. Toutefois, les associations décrites à ce jour avec les gènes situés en dehors de la région HLA n'expliqueraient d'une faible portion de l'héritabilité dans la MC (3% à 4 %) **(Roujon, Sarrat, *et al.*, 2013a)**.

La relation entre la MC et les polymorphismes génétiques des paramètres immunologiques tels que l'interleukine 6 (IL6) a montré que les polymorphismes de la région (AS I) promotrice d'IL6 avec les deux variants :(-174G/C) (rs 1800795) et de (-572G/C) (rs 1800796) peuvent affecter la production et la sécrétion de l'interleukine **(Barartabar *et al.*, 2018)**, qui pourrait jouer un rôle dans l'inflammation et la pathogenèse de la maladie cœliaque **(Amr *et al.*, 2016; Garrote *et al.*, 2005)**.

Il n'existe pas de traitement médical ou chirurgical spécifique de la maladie cœliaque. Le seul traitement est l'exclusion complète du gluten et sa poursuite est une nécessité permanente pour les personnes cœliaques **(Makovicky *et al.*, 2020)**.

Le pronostic de la maladie cœliaque est excellent lorsque le traitement (RSG) est institué précocement. Et la bonne compliance du RSG interrompra les symptômes cliniques et permettra la guérison des lésions intestinales.

A travers ce projet de thèse nous nous somme intéressé, dans un premier temps, à déterminer le profil épidémiologique, clinique, immunologique de la maladie cœliaque ainsi que l'évaluation de la compliance au régime sans gluten des patients MC. Dans un second temps nous nous somme intéressé à l'étude de l'impact de la diversité génétique ou le polymorphisme du gène codant pour l'interleukine 6 (variants : rs1800795 et rs1800796) sur le développement, l'évolution et la sévérité de la maladie cœliaque dans la population de l'Ouest Algérien.

PARTIE I

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

CHAPITRE I

Généralité de la maladie cœliaque

I Généralité de la maladie cœliaque

I.1 Définition

La maladie cœliaque (MC) dénommait la cœliaque ; intolérance au gluten ; sprue non tropicale **(Farrell & Kelly, 2002a)** est plutôt appelée hypersensibilité permanente au gluten. Cliniquement décrite par Arrêtée de Cappadoce, médecin grec de l'Antiquité comme une entéropathie à médiation auto immune complexe liée à des facteurs environnementaux « le gluten » et génétiques « susceptibilité au HLA DQ2 et / ou HLA DQ8 » **(Falchuk *et al.*, 1972a)**.

Elle est caractérisée par la présence des signes classiques typiques liées à un syndrome de malabsorption digestif : diarrhée avec stéatorrhée, douleurs abdominales … et des anomalies biologiques classiquement retrouvées : Anémie ferriprive et carence vitaminique **(Cosnes & Nion-Larmurier, 2013)**. Également cette forme classique est actuellement minoritaire et les formes atypiques pauci-symptomatiques ou silencieuses représentent des atteintes extra digestives : perturbation du bilan hépatique, aphtose buccale récidivante… **(Malamut, 2012a)** ainsi que par la présence d'une signature immunologique (présence d'anticorps anti endomysium et anti transglutaminase) **(Nion-Larmurier et Cosnes, 2009)**.

La maladie cœliaque est progressivement passée du statut de maladie digestive rare pédiatrique à celui de maladie systémique fréquente diagnostiquée à toute âge **(Rampertab *et al.*, 2006)**.

I.2 Aperçu historique

I.2.1 Mondial

La maladie cœliaque apparait souvent comme une nouvelle maladie voir pour certains comme une invention et un phénomène de mode touchant la population pédiatrique. C'est en fait une maladie connue chez l'humanité depuis les époques antique (environ depuis 2000 ans) **(Tableau I) ;** elle était mentionnée dans presque chaque période de l'histoire.

Tableau I : Historique de la maladie cœliaque.

Depuis 10.000 ans	**ND**	Découverte de la culture des végétaux et les premières céréales cultivées étaient de forme d'orge **(Losowsky, 2008)**.
Depuis 2000 ans	**Arataeus de Cappadocia**	Utilisation du mot « cœliaque » venant du grec « Koliakos » ou « Koilos » signifie souffrance abdominale **(Gasbarrini *et al.*, 2010)**.
1856	**Francis Adams**	Traduction d'un dialecte grec sur les caractéristiques cliniques de la maladie cœliaque avec des nouvelles recommandations pour le traitement **(Gasbarrini *et al.*, 2010)**.
1887	Le médecin Pédiatre **Mathew Bailli.**	Description de la cœliaque et suggestion d'une diète uniquement composée de riz **(Gasbarrini *et al.*, 2010)**.
1888	Le médecin Pédiatre Anglais **Samuel Gee.**	Identification de la symptomatologie clinique moderne de la maladie chez les enfants notant les manifestations gastro-intestinales **(Losowsky, 2008)**.
1918	**Federic Still**	Observe l'effet particulièrement néfaste du pain chez les malades cœliaques **(Losowsky, 2008)**.
1924	Le médecin Pédiatre Américain **Haas.**	Nouvelle approche thérapeutique basée sur un régime de bananes **(Haas, 1924)**.
1950	Le médecin Pédiatre Hollandais **Willem Karrel Dicke**	Découverte de lien entre les céréales et l'apparition de la maladie ainsi proposition de régime sans gluten comme un traitement **(Dicke *et al.*, 1953)**.
	Anderson	Identification du caractère toxique du gluten chez les patients cœliaques **(L. W. Vader et al., 2003)**.
1954	**Paulley**	La mise en évidence des lésions histologiques de l'intestin grêle chez les cœliaques **(Losowsky, 2008)**.
1957	**Royer et Margot**	La mise en évidence des altérations histologiques liées à la maladie à l'aide de la capsule de Crosby **(Royer *et al.*, 1955; Shiner, 1956)**.
1969	La société Européenne de Gastro-Entérologie, Hépatologie et Nutrition Pédiatrique **(ESPGHAN)**	La mise en place des critères diagnostiques et thérapeutiques (**Smarrazzo *et al.*, 2017)**.
1970	**ND**	Identification du caractère auto-immun de la maladie **(Shan *et al.*, 2002).**
1977	**ND**	La mise en évidence du premier marqueur sérologique de la maladie notamment anticorps anti gliadine (AGA) **(Weitz *et al.*, 2003)**.
1983	**ND**	La découverte de l'anticorps anti endomysium (EMA) comme un marqueur sérologique **(Chorzelski *et al.*, 1983)**.
1990	**Ludvig Sollid**	La découverte de la prédisposition génétique liée au HLA –DQ2 **(Brett *et al.*, 1999)**.
1992	**Marsh**	Identification des cinq stades d'atteinte de la muqueuse intestinale **(M. N. Marsh, 1992)**. Le développement de l'endoscopie digestive et les tests immunologiques.
1994	**Ludvig Sollid**	Le lien entre la prédisposition génétique et l'activation des LT intestinaux **(Sollid *et al.*, 1989)**.
1997	**ND**	Identification de la transglutaminase tissulaire (tTG) **(Dieterich *et al.*, 1998)**.
2002-2010	**ND**	Révélation des nouveaux facteurs de susceptibilité génétique liés à la maladie **(Dubois *et al.*, 2010)**.

I.2.2 En Algérie

La connaissance de la MC en Algérie a évolué en plusieurs étapes :

- ✓ **1962** : La maladie cœliaque été méconnu de diagnostic.
- ✓ **Entre 1962 et 1973** : Les critères du diagnostic de la maladie cœliaque étaient basés sur la clinique et la réponse au régime d'exclusion au gluten.
- ✓ **1973-1975** : L'introduction de la biopsie duodéno-jéjunale comme épreuve histologique de la maladie au niveau national.

- ✓ **A partir de 2019 :** La prévalence de la MC est déterminée par la spécificité des tests immuno-sérologiques qui permet un dépistage de cette maladie en Algérie. **(Belanteur & Attal, 2019).**

I.3 Rappels

I.3.1 Rappels Anatomiques

Le tractus gastro-intestinal plus particulièrement l'intestin grêle ; est relié au sphincter pylorique dans la région épigastrique à l'une de ses extrémités et à la valvule iléo-caecale du gros intestin à l'autre. Son diamètre est de 2,5 à 4 cm et sa longueur de 6 à 7 m lorsqu'il comprend trois segments : segment fixe : le duodénum (0.25m), et deux segments mobiles intrapéritonéaux : Jéjunum (2.5m) et l'iléum ou iléon (3.5m). L'absorption des produits de la digestion se fait au niveau de cet organe dont la maladie cœliaque se manifeste **(Figure 01)**.

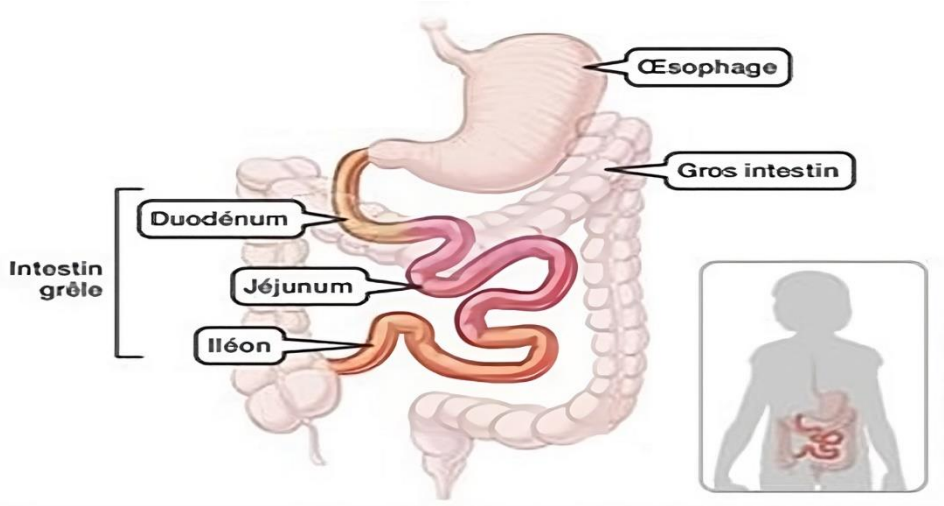


Figure 01: Structure anatomique gastro-intestinale de l'homme **(AboutKidsHealth, 2020)**.

I.3.2 Rappels histologiques

I.3.2.1 Histologie normale de l'intestin grêle

L'intestin grêle est composé de 4 couches : la muqueuse, la sous-muqueuse, la musculeuse (muscularis propria), et la séreuse (l'adventice) **(Volk & Lacy, 2017) (Figure 02)**.

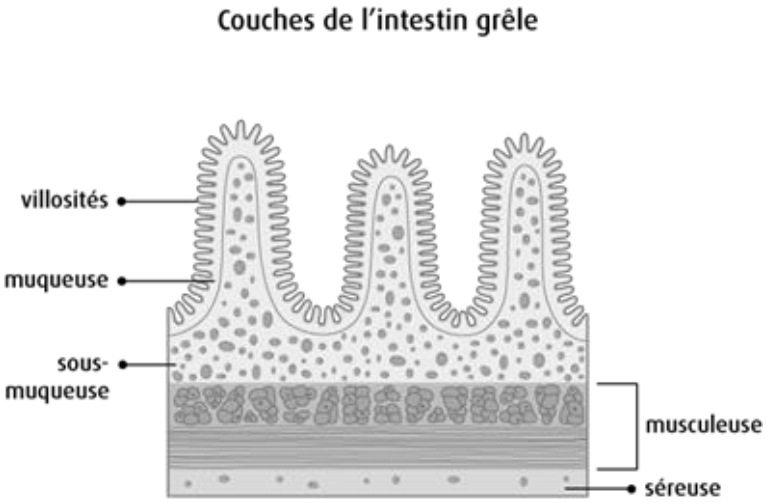


Figure 02 : Les différentes couches de l'intestin grêle **(Lee, 2010)**.

- **La muqueuse** : une fine couche de muscles lisses qui joue un rôle mineur dans le péristaltisme intestinal.
- **La sous muqueuse :** est constituée d'un tissu conjonctif lâche. Elle forme l'axe des valvules conniventes et contient des réseaux vasculaires ainsi que le plexus nerveux de MEISSNER **(Zehhaf, 2021)**.
- **La musculeuse :** a une disposition en deux couches de tissu musculaire lisse : une circulaire interne et une longitudinale externe et entre ces deux couches se situe le plexus nerveux d'Auerbach.
- **La séreuse (l'adventice) :** comporte un tissu conjonctif tapissé sur son versant externe par un épithélium simple « le mésothélium », constituant le feuillet viscéral de la séreuse péritonéale. **(Figure 03)** montre un schéma de l'histologie générale de la paroi intestinale.

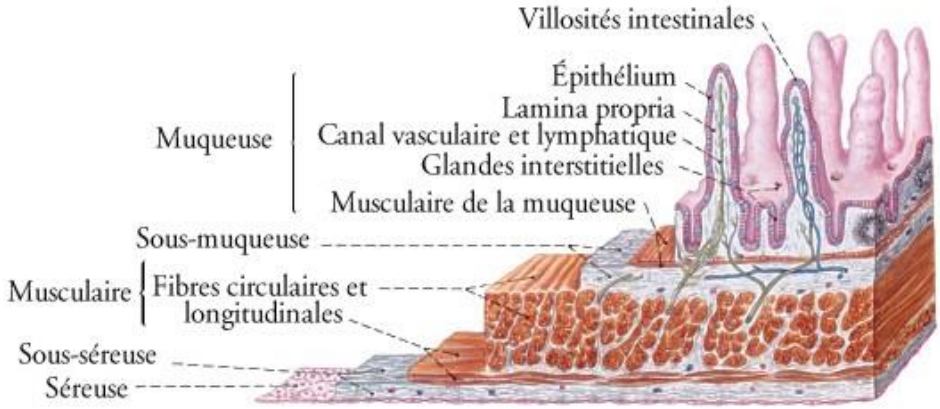


Figure 03 : Schéma représentatif de l'histologie générale de la paroi intestinale **(St-Jacques, 2017)**.

I.3.2.2 Histologie de la maladie cœliaque

Sur le plan histologique, la maladie cœliaque est caractérisée par l'identification des lésions histologiques notamment la présence d'une atrophie villositaire (AV), l'augmentation du nombre des lymphocytes intra-épithéliaux (LIE), hyperplasie des cryptes, augmentation de la densité cellulaire du chorion et d'autres lésions épithéliales peuvent être également observées **(Verkarre & Brousse, 2013)**. Ces critères sont fondamentaux et permettent d'affirmer l'atteinte dans le cadre d'une enquête diagnostic.

A. L'atrophie villositaire

Les lésions histologiques associées à la maladie cœliaque se sont des lésions non spécifiques et peuvent être hétérogènes (Patchy), elles sont définies par une appréciation de l'architecture villositaire, cette dernière nécessite une orientation parfaite des biopsies à partir des coupes perpendiculaires à la surface d'axe cryptes-villosités. Sachant qu'une hauteur villositaire normale est évaluée à trois à cinq fois la hauteur de la crypte, correspond à un rapport villosités / cryptes de deux à trois **(Patey-Mariaud De Serre *et al.*, 2000)**. L'atrophie villositaire est caractérisée par une diminution du nombre de valvules conniventes, avec un aspect en mosaïque, un aspect en écaille et une visibilité anormale importante des vaisseaux sanguins **(Frexinos & Buscail, 2004) (Figure 04)**.

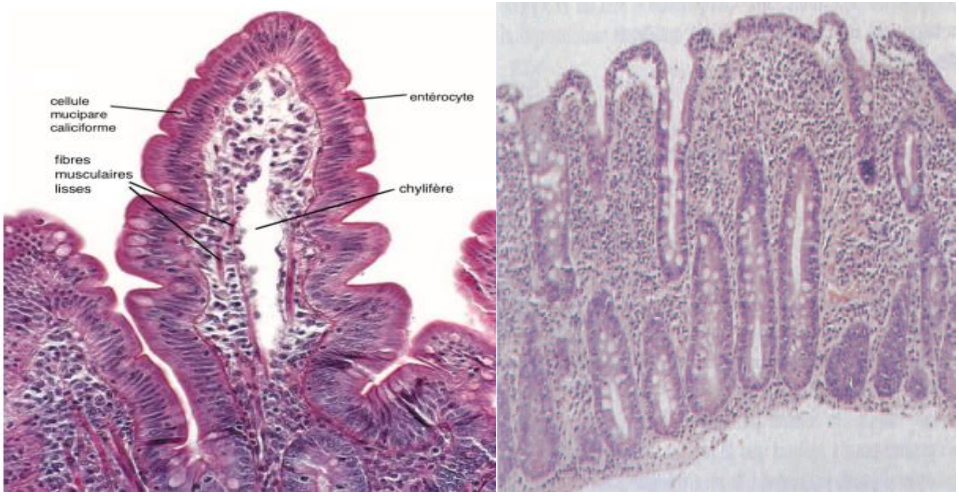


Figure 04 : Comparaison entre une muqueuse normale et une atrophie villositaire totale (Gx160) **(Verkarre & Brousse, 2013)**.

Ces lésions (atrophie villositaire) reposent sur l'évaluation fondée sur la mesure de la hauteur des villosités (V) et des cryptes (C) respectivement **(Verkarre & Brousse, 2013)**

et leurs classifications ont été décrites Par Marsh. Elles comportent cinq types **(Tableau II) (M. N. Marsh, 1992).**

Tableau II : Classification selon Marsh pour grader les lésions ou atrophie villositaire de la maladie cœliaque **(Verkarre & Brousse, 2013)**.

Classification de Marsh	Classification simplifiée [a]
Marsh 0 : Muqueuse normale. **Marsh I** : Augmentation isolée des LIE[b]. **Marsh II** : Augmentation des LIE + hyperplasie des cryptes sans atrophie. **Marsh IIIa** : Atrophie villositaire partielle. **Marsh IIIb** : Atrophie villositaire subtotale. **Marsh IIIc** : Atrophie villositaire totale.	Muqueuse normale : rapport V/C > 2 a` 3 AV partielle : 2 < rapport V/C > 1 AV sub-totale : le rapport V/C < 1 AV totale : disparition totale des villosités. Aspect de muqueuse plate.

[a] : La classification simplifiée ne tient compte que des lésions d'atrophie.
[b] : (> 30 lymphocytes/100 cellules épithéliales).

B. L'augmentation des lymphocytes intra-épithéliaux

A l'état normal : la lymphocytose intraépithéliale normale est peu abondante, elle est supérieure au pôle apical de la villosité, caractérisée par une répartition d'une population des lymphocytes intra épithéliaux hétérogène dont, ils représentent un nombre varié de 25 lymphocytes pour 100 cellules épithéliales selon **(Hayat *et al.*, 2002)** et à 30 % selon **(Cellier *et al.*, 1998)**. 80 % de ces cellules sont de phénotype $CD103^+$ $CD3^+$ $CD8^+$ $CD4^-$ exprimant TCR de sous population Tαβ (TCRαβ). Dans les sous-types minoritaire sont de phénotype $CD3^+$ $CD4^-$ $CD8^-$ (< 10%), $CD7^+$ $sCD3\varepsilon^-$, exprimant le récepteur $TCR\gamma\delta^+$ **(Bruneau *et al.*, 2018)**.

La maladie cœliaque : est caractérisée par des lésions épithéliales sous forme d'atrophie villositaire de degré variable, une hyperplasie des cryptes (stade 1 infiltratif de la classification de Marsh) avec des lésions du compartiment lymphoïde associé à la muqueuse intestinale et une augmentation du nombre des lymphocytes intra-épithéliaux (LIE) (> 30%), cette augmentation est d'un phénotype classique exprimant le récepteur TCRαβ et dans certains cas TCRγδ **(Bruneau *et al.*, 2018)**.

C. Rapport villosités/cryptes

Il s'agit d'un rapport entre la hauteur des villosités et celle des cryptes ; selon la classification de Marsh en 1992 on distingue : dans le cas où la muqueuse est normale le rapport V /C est supérieur ou égale 2 à 3, une atrophie villositaire partielle ; le rapport est 2 <V/C > 1, si V/C est inférieur à 1 il s'agit d'une atrophie villositaire subtotale ainsi totale s'il y'a un aspect d'une muqueuse plate.

D. Inflammation du chorion

L'inflammation du chorion dans le cas de la MC est caractérisée par une variation des aspects histologiques allant d'une moyenne normale des LIE sans atrophie villositaire dans le cas où la MC est d'une forme asymptomatique, l'atrophie villositaire est plus ou moins totale, associant la lymphocytose intra-épithéliale, l'hyperplasie compensatrice des cryptes et l'hypercellularité du chorion, correspondant à une densité accrue des cellules inflammatoires par rapport à la normale **(Bruneau *et al.*, 2018)**. Dans cette inflammation on distingue une augmentation notamment des plasmocytes (essentiellement aux immunoglobulines A) sont situés préférentiellement à la partie supérieure de la muqueuse et les lymphocytes $CD4^+$ TCRαβ et des polynucléaires éosinophiles, avec une présence des polynucléaires neutrophiles **(Verkarre & Brousse, 2013)**.

I.3.2.3 Autres lésions histologiques

L'augmentation du nombre des LIE associés à la MC entrainant des lésions au niveau du tractus digestif, ces lésions peuvent se manifester par une gastrite lymphocytaire définie par une augmentation des LIE en surface et au niveau de l'épithélium fovéolaire (LIE≥25%), une colite lymphocytaire : s'agit d'une augmentation des LIE (25%) de l'épithélium de surface, une gastrite à Helicobacter pylori été décrite **(Verkarre & Brousse, 2013)** et une sprue collagène caractérisée par un épaississement de la membrane basale sous épithéliale, ainsi qu'une atrophie villositaire sévère correspondant à l'apparition d'une MC réfractaire de type I **(Verkarre *et al.*, 2003)**.

I.4 Epidémiologie

La maladie cœliaque a changé sa vision épidémiologique vu qu'elle est passée du statut de maladie pédiatrique rare à celle de pathologie fréquente diagnostiquée à tout âge.

I.4.1 Epidémiologie descriptive

I.4.1.1 Incidence

A. Dans le monde

L'identification des facteurs atypiques et silencieuses de cette maladie a changé le taux de son incidence **(Lohi *et al.*, 2007),** voire 13 nouveaux cas pour 100000 habitants par an **(Lamireau & Clouzeau, 2013)**. En Europe, Etats-Unis, Afrique du Nord, Moyen-Orient et l'Inde l'incidence est presque identique. En revanche, en Asie, Sud Est et en Afrique noire l'incidence est presque inconnue **(Vahedi *et al.*, 2001).** L'incidence cumulée selon les études séro-épidémiologiques varie de 1/104 de la population générale à l'âge de cinq ans.

B. En Algérie

L'incidence est de 2,37±1,3 pour 1000 naissances vivantes **(Belanteur & Attal, 2019)**, dans les formes symptomatiques depuis la dernière décade dans la région de l'Ouest Algérien dont les facteurs environnementaux restent à préciser **(Bessahraoui *et al.*, 2008)**.

I.4.1.2 Prévalence

A. Dans le monde

La maladie cœliaque est déterminée à partir d'une combinaison des résultats sérologiques et d'antécédents cliniques (maladies auto-immunes, diabète, trisomie 21 ou déficit en IgA) où elle dépasse 2 % après l'âge de 50 ans **(Francavilla *et al.*, 2014)**, prévalence élevée dans le bassin méditerranéen **(Tableau III)**. **(Leonard *et al.*, 2017).** Elle est de 1%-3% dans toutes ces formes cliniques dans la population générale **(Lamireau & Clouzeau, 2013)**. La fréquence de la MC variant selon l'origine ethnique a longtemps été sous-estimée.

Tableau III : La prévalence de la maladie cœliaque dans le monde **(Abadie *et al.*, 2011)**.

Prévalence (pays)	Pourcentage (%)
Allemagne	0.2
Algérie	**5.6**
Argentine	0.6
Australie	0.4
Brésil	0.5
Burkina Fasu	0
Espagne	0.3-1.4
Égypte	0.5
États-Unis	0.3-0.9
Finlande	1.0-2.4
Inde	0.3-1.0
Iran	0.5-1.0
Irlande	0.8
Italie	0.9-1.0
Libye	0.8
Les Pays-Bas	0.5
Nouvelle-Zélande	1.2
Portugal	0.7
Royaume-Uni	0.9-1.5
Russie	0.2
Suède	0.5-2.9
Tunisie	0.6
Turquie	0.6-1.0

B. En Algérie

Tableau IV: La prévalence de la maladie cœliaque en Algérie.

Prévalence (région)	Pourcentage
Est Algérien	(3‰) **(Boukezoula *et al.*, 2015).**
Centre Algérien	(0.59 %) **(Belanteur & Attal, 2019).**
Ouest Algérien	(0.10 %) **(Bessahraoui *et al.*, 2008)**.
Sahara	(0.056) **(Catassi *et al.*, 1999).**

I.4.1.3 Mortalité

Le taux de mortalité augmente avec l'âge du diagnostic de la maladie, les patients diagnostiqués à l'âge pédiatrique (1-4 ans) sont secondaires à une étiologie externe. Le risque de mortalité augmente et persiste avec la durée de la maladie (> 20 ans) **(Gkt & A, 2018)**.

I.4.2 Epidémiologie analytique

I.4.2.1 Facteurs de risque personnels

A. Age

La maladie cœliaque débute chez un nourrisson de plus de 6 mois, quelques semaines après l'introduction du gluten dans l'alimentation **(Cerf-Bensussan & Jabri, 2001)**, chez l'adulte elle est diagnostiquée à tout âge (20-40 ans) **(Mäki *et al.*, 2003)**, un pic bimodal de fréquence : ($4^{ème}$ - $5^{ème}$) décennie chez la femme, ($5^{ème}$- $6^{ème}$) décennie chez l'homme selon les études de **(Corazza & Gasbarrini, 1995)**. Il existe aussi quelques formes à révélation tardive après 65 ans dont 20 % diagnostiqués après 60 ans **(Bruneau *et al.*, 2018)**.

B. Sexe

La maladie cœliaque est caractérisée par une prédominance féminine avec un sex-ratio de 2. **(Dixit *et al.*, 2014)**.

I.4.2.2 Facteurs exogènes

- **Mode d'accouchement** par césarienne car il existe une relation entre la flore bactérienne et le nouveau-né par césarienne. **(Mårild *et al.*, 2012)**.
- **Le faible poids de naissance** reste un risque d'issue néonatal lorsque le nourrisson souffrait d'une maladie cœliaque connue **(Ludvigsson & Ludvigsson, 2001)**.
- **Introduction précoce du gluten** : Le développement de la maladie cœliaque est lié à l'introduction précoce du gluten **(Mårild *et al.*, 2012)**. En revanche l'âge de l'introduction du gluten dans le régime alimentaire du nourrisson, qu'il soit précoce ou tardif, n'influe pas sur le risque de maladie cœliaque pendant l'enfance. Où la prévention primaire n'a pas de place à l'heure actuelle **(Lionetti & Catassi, 2015)**.
- **Niveau socio-économique :** dans le monde l'incidence augmente chez des patients ayant un niveau socio-économique élevé **(Whyte *et al.*, 2014),** En Algérie, cette incidence augmente chez les patients ayant un statu socio-économique moyen à bas suite au prix des aliments sans gluten très élevé voir même non disponible **(Boukezoula *et al.*, 2018).**

I.4.2.3 Facteurs génétiques

La pathogénèse de la MC est mieux comprise vue ses lésions inflammatoires, en effet, le bagage génétique HLA est nécessaire pour développer la maladie.

A. Liés à la région HLA

L'étiopathogénie de la MC fait intervenir les molécules HLA des deux classes confondues (classe I et II respectivement) :

- Susceptibilité génétique à la MC liée à la famille des gènes MIC, caractérisée au sein de la région HLA de classe I se compose de 2 gènes fonctionnels : MICA et MICB ainsi que de 5 pseudo-gènes : MICC, MICD, MICE, MICF et MICG **(Bahram *et al.*, 1994)**. Également la molécule HLA-E son expression est restreinte aux cellules endothéliales, LT, LB, les cellules NK, monocytes et macrophages. Elle présente des peptides provenant des séquences signal des molécules HLA I et HLA-G **(Braud *et al.*, 1997)**.
- Le gradient de risque génétique de la MC est bien défini par une expression allélique spécifiques de susceptibilité, qui sont certains variants des gènes d'histocompatibilité CMH (gènes Human Leucocyte Antigen (HLA)) de classe II codant la molécule HLA-DQ2, et ceux codant la molécule HLA-DQ8 **(Roujon, Guidicelli *et al.*, 2013)**. Ces variants alléliques du locus HLA-DQ spécifiques (à savoir, DQA1*0501-DQB1*02 et DQA1*0301-DQB1*0302), codant les hétéromères du HLA- DQ2 et DQ8, respectivement **(Poddighe *et al.*, 2020)**. De même une association génétique de la maladie d'haplotypes HLA-DQA1-DQB1 et DRB1 a été démontrée chez les populations Marocaines, Nord-Africaine et caucasiennes Méditerranéennes et Européennes **(Piancatelli *et al.*, 2017)**.

Cette association génétique est d'ailleurs confirmée par une forte prévalence de la MC parmi les apparentés du premier degré d'un sujet atteint (10-20%) **(Stokes *et al.*, 1976)**, ainsi que par le taux de concordance entre jumeaux monozygotes (70-75%) **(Hervonen *et al.*, 2000)**.

B. Non liés à la région HLA

- Allèles de susceptibilité non Human Leucocyte Antigen (HLA) situés dans la région HLA telle que les gènes de la cytokine inflammatoire TNF **(McManus *et al.*, 1996)** et des protéines de stress cellulaire MICA, font partie des gènes candidats souvent évoqués **(Bolognesi *et al.*, 2003)**.
- Allèles de susceptibilité situés en dehors de la région HLA : environ 60 % du risque génétique est attribuable à des gènes situés en dehors de la région HLA **(Louka & Sollid, 2003)**.
- Il est intéressant de noter une association avec la région chromosomique 19 p13.1, malgré qu'elle soit incriminée dans l'association à la maladie de Crohn.
- Association avec la région chromosomique 5q31-33 a été décrite dans quatre populations, et cette région jouerait également un rôle dans l'asthme et la maladie de Crohn.
- Une association plus puissante avec la région 2q33 contenant des gènes impliqués dans le contrôle de l'activation du lymphocyte T : CD 28, CTLA -4 et ICOS **(Holopainen *et al.*, 1999)**.
- En dehors de HLA, on distingue des études de liaisons génétiques pangénomiques (GWAS) qui font appel à des milliers de polymorphismes portant sur une seule paire de bases (SNP) ainsi que :
- Le SNP rs6822844 qui fait partie d'un groupe de huit SNPs spécifiquement dans la région chromosomique 4q27 qui contient les gènes IL2 et IL21, ces dernières codent pour deux cytokines d'importance centrale dans la réponse immunitaire pro-inflammatoire T et qui ont montré la plus forte association avec la MC. Cependant cette association a été indiquée juste dans le voisinage de celui et / ou de ceux responsables de la susceptibilité à la MC en raison du fort déséquilibre de liaison des gènes des interleukines (IL 2 et IL 21) situés au sein de cette région **(van Heel *et al.*, 2007)**.

C. Autres gènes de susceptibilité à la MC

Une large étude de cohorte a identifié sept nouvelles régions d'intérêts dont six jouant un rôle dans l'immunité on cite :

- La région 1q31 code pour le régulateur de la transduction des signaux (RGS1).
- La région chromosomique 3p21 contienne le récepteur de chimiokines (CCR3).
- La région 3q25 code pour la chaine α de la cytokine IL 12 (IL 12A).
- La région chromosomique 2q12 code pour la chaine β du récepteur à IL-18 (IL 18 RAP). De plus ce variant IL18 RAP a été identifié comme associé à la MC diminue l'expression de l'ARN messager de l'interleukine 18.
- La région 6q25 contient le facteur d'activité GTPase du lymphocyte T (TAGAP).
- La région 12q24 pour le facteur d'activation du lymphocyte T (SH2B3) **(Trynka *et al.*, 2009)**.
- La région 19p13.1 code pour la Myosine IXB.
- La région 15q11-q13 code pour la Guanosine triphosphatase (GTP)
- La région 3q28 code pour le LPP (Lipoma Prefrred Partner) **(Schuppan *et al.*, 2009)**.

I.4.2.4 Facteurs Environnementaux

Les facteurs de risques environnementaux jouent clairement un rôle important dans la pathogenèse de la maladie cœliaque.

A. Le gluten

▪ Structure

C'est des protéines particulières : les prolamines qui est une protéine structurelle complexe de stockage du grain de blé quotidiennement consommée (10 à 20 g par personne/jour) **(Bascuñán *et al.*, 2017),** Classées en gluténines et gliadines pour le blé (*Triticum aestivum* (et l'épeautre *Triticum spelta*)) dont le premier est soluble dans les acides dilués, tandis que le second est une protéine soluble dans l'alcool **(Ul Haq, 2020)**, hordéines

pour l'orge (Hordeum vulgare), sécalines pour le seigle (Secale cereale) et avénines pour l'avoine (Avenasativa) **(Figure 05) (Balakireva & Zamyatnin, 2016)**.

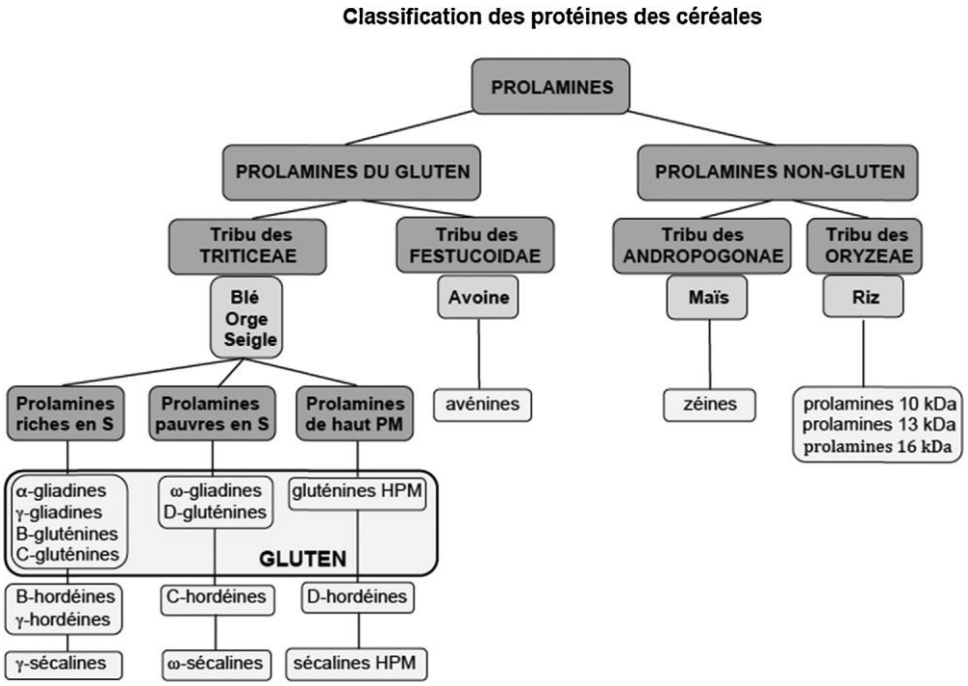


Figure 05: Classification simplifiée des prolamines des céréales. Les gliadines et gluténines du blé, de l'avoine, de l'orge et du seigle constituant le gluten sont encadrées **(Balakireva & Zamyatnin, 2016)**.

Le gluten présente une composition unique en acides aminés. Il est très riche en résidus P (20%) et en résidus G (40%) **(Skovbjerg *et al.*, 2004)**. Il s'agit des gliadines, solubles dans l'alcool, particulièrement riches en proline et en glutamine et font partie des protéines de réserve spécifiques des graminées. Elles forment une famille d'une cinquantaine de polypeptides de poids moléculaire variant de 30 à 80 KDa. **Figure 06** représente la structure du gluten **(Espinoza-Herrera *et al.*, 2021)**.

Le gluten est composé de deux fractions que nous pouvons distinguer par leur caractère soluble ou non dans l'alcool, on distingue :

Une première fraction : représentée par les gliadines, fraction la plus toxique du gluten, solubles dans l'alcool.

Une seconde fraction : représentée par les gluténines, fraction moins toxique solubles uniquement dans les solutés basiques spécifiquement pour les gluténines du blé. **(Lamacchia *et al.*, 2014)**.

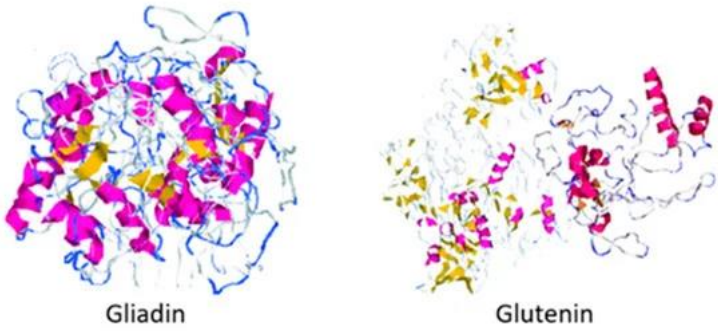


Figure 06: Structure du gluten **(Espinoza-Herrera *et al.*, 2021)**.

- **Toxicité**

Le mécanisme moléculaire de la maladie cœliaque est assez bien connu. Il correspond globalement à présenter par les cellules dendritiques ou les macrophages des peptides immunotoxiques (liés au site présentoir du CMH-II de deux groupes HLA principaux, HLA DQ2 (exprimé par 95 % des patients) et HLA DQ8 (exprimés par 10 % des patients)), aux lymphocytes T $CD4^+$ **(Arentz-Hansen *et al.*, 2000)**.

En fait, il existe une quarantaine d'autres groupes HLA mineurs impliqués dans la maladie cœliaque, ce qui explique l'absence de maladie chez des sujets possédant les génotypes DQ2 et DQ8 dans leur répertoire HLA. L'ancrage des peptides immunotoxiques dans le site présentoir du CMH-II des groupes HLA-DQ2 et HLA-DQ8, correspond à l'établissement d'un réseau de liaisons hydrogènes, d'interactions hydrophiles et d'interactions hydrophobes entre les acides aminés des peptides et ceux constituant les sous-sites du site présentoir du CMH-II. **Figure 07** : représente la liaison entre le peptide de gluten et la molécule HLA DQ2/DQ8 **(Hovhannisyan *et al.*, 2008)**.

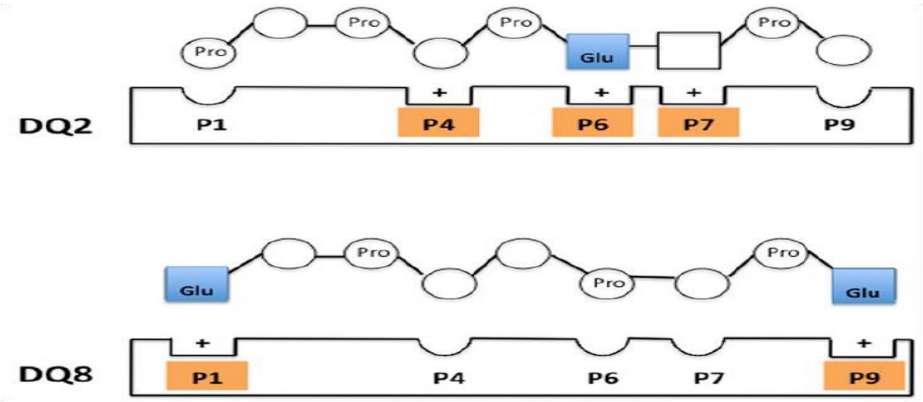


Figure 07: La liaison entre le peptide du gluten et la molécule HLA DQ2/DQ8 **(Hovhannisyan *et al.*, 2008)**.

Cet ancrage ne peut être réalisé que par quelques peptides provenant de l'hydrolyse des prolamines, protéines de réserve de l'endosperme des grains de céréales à gluten **(Tollefsen *et al.*, 2006)**. Le **tableau V** représente les différentes peptides immunotoxiques du gluten reconnus par les groupes HLA-DQ2 et HLA-DQ8 **(Barre *et al.*, 2017)**.

Tableau V : Les différentes peptides immunotoxiques du gluten reconnus par les groupes HLA-DQ2 et HLA-DQ8.

Nomenclature	Séquences	Références bibliographiques
Blé		
DQ2.5-glia- _1a	PFPQPQLPY	(Arentz-Hansen *et al.*, 2000)
DQ2.5-glia- _1b	PYPQPQLPY	(Arentz–Hansen *et al.*, 2002)
DQ2.5-glia- _2	PQPQLPYPQ	(Arentz-Hansen *et al.*, 2000)
DQ2.5-glia- _3	FRPQQPYPQ	(W. Vader *et al.*, 2002)
DQ2.5-glia- _1	PQQSFPEQQ	
DQ2.5-glia- _2	IQPQQPAQL	(Qiao *et al.*, 2005; W. Vader *et al.*, 2002)
DQ2.5-glia- _3	QQPQQPYPQ	(Arentz–Hansen *et al.*, 2002)
DQ2.5-glia- _4a	SQPEQQFPQ	(Arentz–Hansen *et al.*, 2002)
DQ2.5-glia- _4b	PQPEQQFPQ	(Qiao *et al.*, 2005)
DQ2.5-glia- _4c	QQPQQPFPQ	(Arentz–Hansen *et al.*, 2002)
DQ2.5-glia- _4d	PQPQQPFCQ	
DQ2.5-glia- _5	QQPFPQQPQ	(Arentz–Hansen *et al.*, 2002)
DQ2.5-glia- _1	PFPQPQQPF	(Tye-Din *et al.*, 2010)
DQ2.5-glia- _2	PQPQQPFPW	(Tye-Din *et al.*, 2010)
DQ2.2-glut-L1	PFSEQEQPV	(W. Vader *et al.*, 2002)
DQ2.5-glut-L2	FSQQQQSPF	(Stepniak *et al.*, 2005; W. Vader *et al.*, 2002)
Orge		(Tye-Din *et al.*, 2010; L. W. Vader *et al.*, 2003)
DQ2.5-hor-1	PFPQPQQPF	
DQ2.5-hor-2	PQPQQPFPQ	(L. W. Vader *et al.*, 2003)
Seigle		(Tye-Din *et al.*, 2010; L. W. Vader *et al.*, 2003)
DQ2.5-sec-1	PFPQPQQPF	
DQ2.5-sec-2	PQPQQPFPQ	(L. W. Vader *et al.*, 2003)
Avoine		
DQ2.5-ave-1	PYPEQEEPF	(Arentz-Hansen *et al.*, 2004; L. W. Vader *et al.*, 2003)
DQ2.5-ave-1b	PYPEQQQPF	
Blé		(Arentz-Hansen *et al.*, 2004; L. W. Vader *et al.*, 2003)
DQ8-glia- _1	QGSFQPSQQ	(van de Wal *et al.*, 1998)
DQ8-glia- _1a	QQPQQPFPQ	(Tollefsen *et al.*, 2006)
DQ8-glia- _1b	QQPQQPYPQ	(Tollefsen *et al.*, 2006)
DQ8-glut-H1	QGGYPTSPQ	(Morón *et al.*, 2008)

B. Le microbiote

L'intestin humain contient un microbiote diversifié comprenant environ 40 billions de micro-organismes **(Sender *et al.*, 2016)**. Ce microbiote intestinal est une communauté écologique complexe qui influence la physiologie, le métabolisme et l'immunité de l'hôte par conséquent, les mécanismes physiopathologiques de la maladie cœliaque. Ces mécanismes font appel à des facteurs génétiques ainsi qu'environnementaux ce qui suggère que d'autres facteurs génétiques, outre les interactions gène-gène et gène-environnement qui pourraient être impliqués dans le développement de cette maladie **(Caminero *et al.*, 2019; Lozupone *et al.*, 2012)**. L'étude des relations entre le microbiote intestinal et l'immunité intestinale constitue une grande avancée dans la recherche en gastroentérologie. L'homéostasie

intestinale est maintenue grâce à la reconnaissance des bactéries commensales par les cellules du système inné et les cellules de l'épithélium intestinal, soit par un contact direct, soit via la synthèse de métabolites issus du microbiote. Cependant la rupture de l'homéostasie (dysbiose intestinale, infections …) entraine une stimulation des réponses innées et une activation du système adaptatif. **Figure 08** représente le rôle du microbiote intestinal dans la pathogénèse de la MC **(Czerucka, 2021)**.

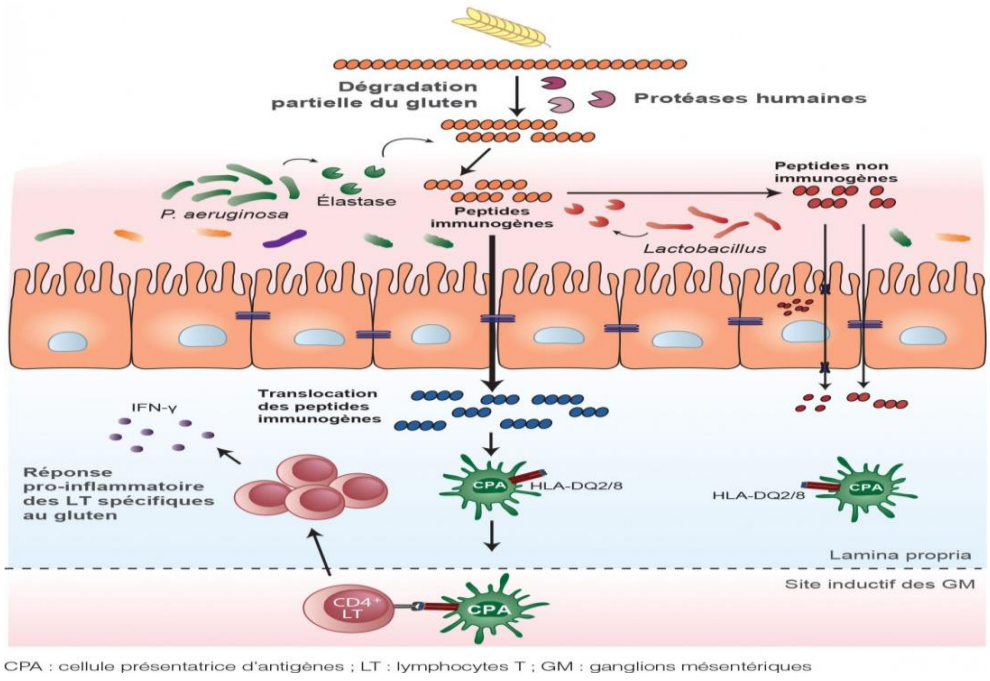


Figure 08: Le rôle du microbiote intestinal dans la pathogénèse de la MC **(Verdu, 2019).**

Cependant il est intéressant de constater que la plupart de ces régions chromosomiques associées à la prédisposition à la MC contiennent des gènes ayant des fonctions liées à l'immunité et certains gènes de prédisposition à la MC et/ou leur expression modifiée joue un rôle dans la colonisation et la détection bactériennes. Des études ont également révélé une altération de l'expression de gènes de risque non spécifiques de la MC impliqués dans les interactions hôte-microbiote dans la muqueuse intestinale des patients atteints de la MC, tels que ceux des récepteurs Toll-like (TLR) et leurs régulateurs **(Kalliomäki *et al.*, 2012)**. **Figure 09** représente l'interaction entre le microbiote commensal et la couche de mucus.

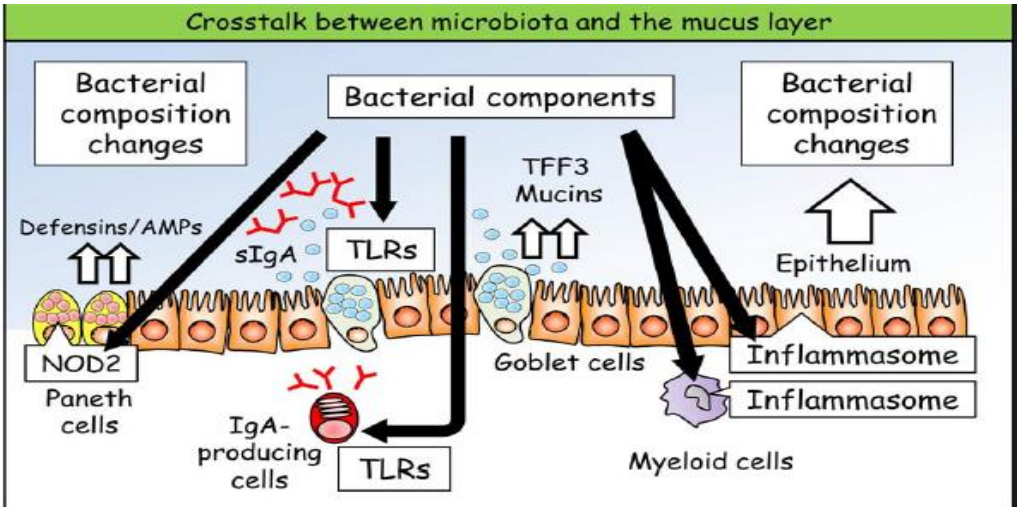


Figure 09: Interaction entre le microbiote commensal et la couche de mucus (TLR) **(Goto & Kiyono, 2012)**.

En outre, des souches bactériennes spécifiques isolées chez des patients atteints de MC actives et non actives présentent des caractéristiques de virulence accrues. Ces résultats suggèrent que les altérations du microbiote ne sont pas seulement une simple conséquence de l'état inflammatoire mais des caractéristiques de la phase active de la maladie **(Cenit *et al.*, 2015)**.

- **Le microbiote et système immunitaire**

Le système immunitaire humain et le microbiote intestinal interagissent clairement l'un avec l'autre de telle sorte que l'un façonne l'autre dans une large mesure. Le système immunitaire joue un rôle crucial dans la protection des êtres humains contre les agents pathogènes envahissants et dans le maintien de l'auto-tolérance. Cependant, dans le cas de l'auto-immunité, la rupture des mécanismes physiologiques responsables du maintien de la tolérance aux auto-antigènes conduit le système immunitaire à attaquer ses propres tissus. A cet égard, le microbiote augmente la fonction de barrière épithéliale par la production de différents métabolites tels que les acides gras à chaîne courte (AGCC) et le mucus. Le microbiote favorise également la production de molécules antimicrobiennes telles que la protéine régénératrice dérivée des îlots III (REGIII)-γ et REGIII-β par les cellules épithéliales de l'intestin (CEI) **(Kamada *et al.*, 2013)**. Cependant les récepteurs de reconnaissance des formes (PRR), y compris les TLR, situés sur les CEI et sur les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) à l'interface entre l'hôte et le microbiote, reconnaissent et intègrent les signaux provenant des motifs associés aux microbes et régulent la fonction de

la barrière intestinale et les réponses du système immunitaire **(Morgan *et al.*, 2012)**. Le site inflammatoire déclenché par la signalisation TLR peut être contrôlée par des régulateurs intracellulaires qui peuvent inhiber les voies de signalisation TLR, ou par la production des cytokines anti-inflammatoires qui sont également modulées par le microbiote. Également des différentes fonctions des macrophages, des cellules dendritiques et des neutrophiles, qui sont un élément essentiel du système immunitaire inné, sont modulées par le microbiote ainsi ce dernier semble jouer un rôle essentiel dans la différenciation d'un second type de cellules Natural Killer (NK) (IL-22^{+} NKp46^{+}) qui appartient au groupe des cellules lymphoïdes innées (ILC) et qui jouent un rôle important dans la régulation de l'homéostasie et l'inflammation **(Kamada *et al.*, 2013; Kurashima *et al.*, 2013)**. **Figure 10** : Résume les différentes interactions entre le microbiote commensal, la barrière épithéliale et les cellules immunitaires innées pour le maintien de l'homéostasie dans la muqueuse.

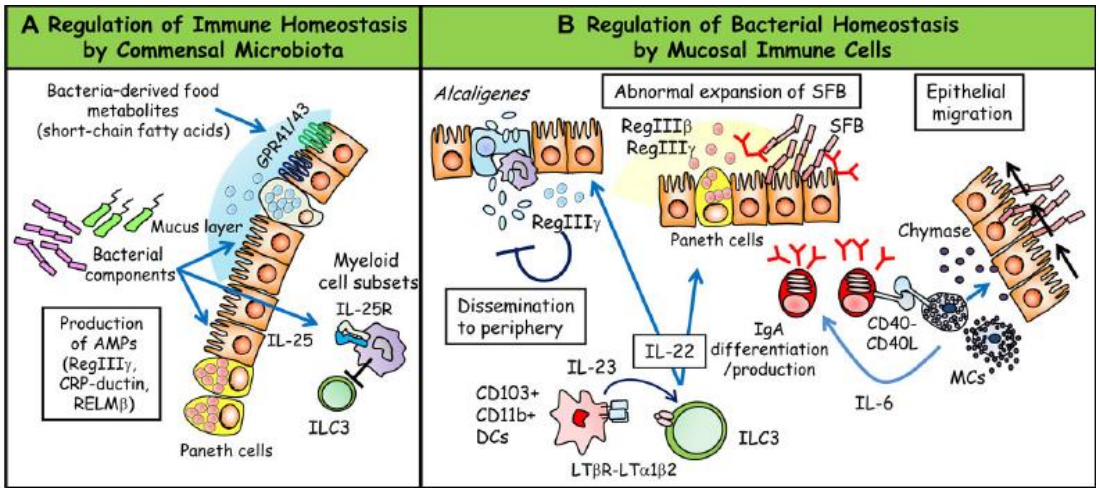


Figure 10: Interaction entre le microbiote commensal, la barrière épithéliale et les cellules immunitaires innées pour le maintien de l'homéostasie dans la muqueuse **(Kurashima *et al.*, 2013)**.

En outre, la relation hôte-microbiote assure également l'établissement d'une homéostasie immunitaire afin que le système immunitaire de l'hôte n'attaque pas les microbes commensaux.

- **La dysbiose et système immunitaire**

La dysbiose pouvait affecter l'auto-immunité en modifiant l'équilibre entre les membres tolérogènes et inflammatoires du microbiote et par conséquent, la réponse immunitaire de l'hôte. A ce jour, différentes études ont démontré des associations entre la

dysbiose intestinale, la MC et les manifestations gastro-intestinales de la maladie. Des déséquilibres du microbiote ont été observés non seulement chez les patients atteints de la MC non traités, mais aussi chez les patients suivant un régime alimentaire de base. **(Cenit *et al.*, 2015)**. La dysbiose peut contribuer à perturber l'homéostasie immunitaire et l'intégrité de l'intestin, favorisant ainsi l'apparition de la MC et aggravant sa pathogenèse **(Figure 11) (Kurashima *et al.*, 2013).**

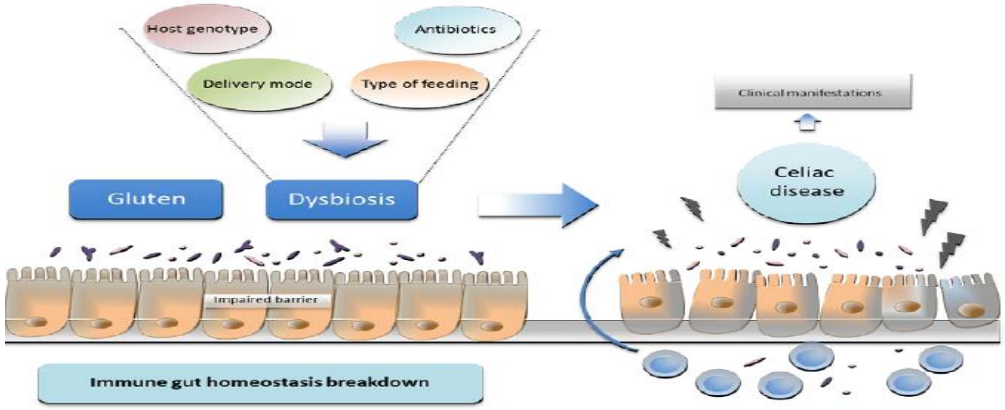


Figure 11: La relation entre la dysbiose et la MC **(Kurashima *et al.*, 2013)**.

C. Infections virales

Les infections intestinales d'origine virales favorisent l'apparition de la maladie cœliaque. Ces infections font appels à certains virus, principalement le rotavirus ou l'adénovirus, impliqués dans la pathogénèse de la maladie **(Stene *et al.*, 2006)**, la nouvelle variante VA1 de l'astrovirus a été détectée chez un patient souffrant d'une maladie cœliaque récente **(Smits *et al.*, 2010).** Reovirus c'est un virus bénin responsable aussi du déclenchement de la MC auto-immune **(Bouziat *et al.*, 2017).**

I.5 La clinique

La MC présente un large éventail de symptomatologie clinique avec ces formes différentes et se défini par des manifestations intestinales et / ou extra intestinales de gravité variable et répond à l'exclusion du régime sans gluten tant chez les enfants que chez les adultes **(Poddar, 2013).** Le **tableau VI** présente les formes cliniques de la maladie cœliaque ; sachant que la prédisposition génétique de locus HLA DQ 2 / DQ 8 est présente dans toutes types de forme clinique confondus **(Fasano, 2005; West *et al.*, 2007)**.

Tableau VI : Les formes cliniques de la maladie cœliaque **(Fasano, 2005; West *et al.*, 2007).**

Formes cliniques	Caractéristiques
Classique ou Active	- Présence de symptômes intestinaux ou extra –digestifs. - Présence d'une atrophie villositaire avec une hyperplasie des cryptes. - Présence des auto-anticorps circulants.
Atypique ou pauci-symptomatique	- Présence de symptômes extra-digestifs ou digestifs mais non spécifiques.
Silencieuse	- Présence d'auto-anticorps dans le sérum. - Existence des lésions histologiques intestinales typiques chez des sujets d'HLA DQ2/DQ8 positifs mais asymptomatiques.
Latente ou potentielle	- Absence sur le plan clinique - Absence d'atrophie villositaire - Présence des signes d'activation immunologiques dans la muqueuse intestinale - Présence d'auto-anticorps spécifiques

Le **tableau VII** représente les principaux signes cliniques en fonction de leurs formes chez les deux populations confondues **(Fasano, 2005 ; Malamut, 2012b ; Volta *et al.*, 2014)**

Tableau VII : Les principaux signes cliniques en fonction de leurs formes chez les enfants et les adultes **(Fasano, 2005; Malamut, 2012b; Volta *et al.*, 2014).**

Catégories	Formes cliniques			
	Classiques (Active)	**Atypiques (pauci-symptomatiques)**	**Asymptomatiques ou Silencieuse**	**Latente ou potentielle**
Enfants	**Diagnostiqués de 6 à 24 mois** - Diarrhée chronique. - Distension abdominale. - Trouble de comportement. - Pâleur. - Apathique. - Retard psychomoteur. - Rachitisme. - Œdèmes. - Anémie hypochrome. **Diagnostiqués de 5-7 ans** - Selles abondantes peu fréquentes. - Douleurs abdominales. - Météorisme. - Nausées et vomissements. - Anémie ferriprive. - Retard pubertaire. - Symptômes neurologiques. - Anomalies de l'émail.		- Lésions histologiques propres à la maladie - Anticorps anti endomysium ou transglutaminase - Absence de symptômes cliniques simplement peut être une anémie ferriprive Association à d'autres maladies auto-immunes : - Dermatite herpétiforme - Diabète de type I - Thyroïde auto–immune - Arthrite chronique juvénile.	Présence D'auto-anticorps spécifiques
Adultes	- Diarrhée avec stéatorrhée - Amaigrissement - Dénutrition - Ballonnements abdominal - Douleurs abdominales - Constipation - Asthénie - Surpoids - Œdèmes - Nausées et vomissements	Symptômes digestifs mineurs et symptômes extra –digestif : -Troubles fonctionnels intestinaux non spécifiques : diarrhée ballonnements, douleurs abdominales, anémie par carence martiale ou par carence en folates ou en vitamine B 12		

La MC c'est une maladie systémique, le **tableau VIII** représente ces principales manifestations cliniques systémiques et paracliniques de la maladie cœliaque **(Malamut, 2012b ; Mouterde *et al.*, 2008 ; Volta *et al.*, 2014)**.

Tableau VIII : Les principales manifestations cliniques et paracliniques de la maladie cœliaque **(Malamut, 2012b; Mouterde *et al.*, 2008; Volta *et al.*, 2014)**.

Manifestations	Signes cliniques
Générales	Asthénie Amaigrissement
Digestives	Diarrhée avec stéatorrhée Douleurs abdominales
Cutanéomuqueuses	Alopécie Aphtose buccale Dermatite herpétiforme
Génitales	Infertilité
Neuromusculaires	Neuropathie périphérique Epilepsie Migraines Ataxie
Ostéo-articulaires	Ostéopénie / Ostéoporose Arthralgie
Biologiques	Anémie avec déficit en fer B 12 Déficit en facteur Vit K dépendants Hypo albuminémie, hypocalcémie, hypomagnésémie, déficit en zinc Augmentation des transaminases

CHAPITRE II

Immunologie et Physiopathologie de la maladie cœliaque

II Immunologie et physiopathologie de la maladie cœliaque

II.1 Aspects immunologiques

II.1.1 Les principaux composants de la réponse immunitaire intestinale

II.1.1.1 Le Complexe majeur d'histocompatibilité CMH / HLA (Humans Leucocyte Antigen)

Le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) est composé d'un ensemble de gènes codant pour des glycoprotéines transmembranaires, appelé HLA chez l'homme et occupent une région de quatre millions de nucléotides sur le bras court du chromosome 6 (région 6p21.31) et forment un ensemble de plus de 200 loci de gènes qui constituent la région la plus polymorphe du génome humain. Partant de l'extrémité centromérique, trois régions sont individualisées : la classe II, la classe III, puis la classe I allant jusqu'au gène HFE de l'hémochromatose **(Louka & Sollid, 2003)**. Ils consistent en des ensembles de gènes αβ et présentent trois sous-régions majeures qui sont identifiées par les glycoprotéines pour lesquelles elles codent, DR, DP et DQ. Ces glycoprotéines forment de façon non covalente un hétérodimère de chaînes α et β pour DP et DQ, et un ou deux hétérodimères liés pour DR. Chaque chaîne est composée de deux domaines extracellulaires, d'un domaine transmembranaire et d'une courte queue cytoplasmique (12-18 acides aminés) dont la fonction principale est de présenter les peptides respectivement aux lymphocytes T $CD8^+$ et $CD4^+$ **(McDevitt, 1995) (Figure 12)**.

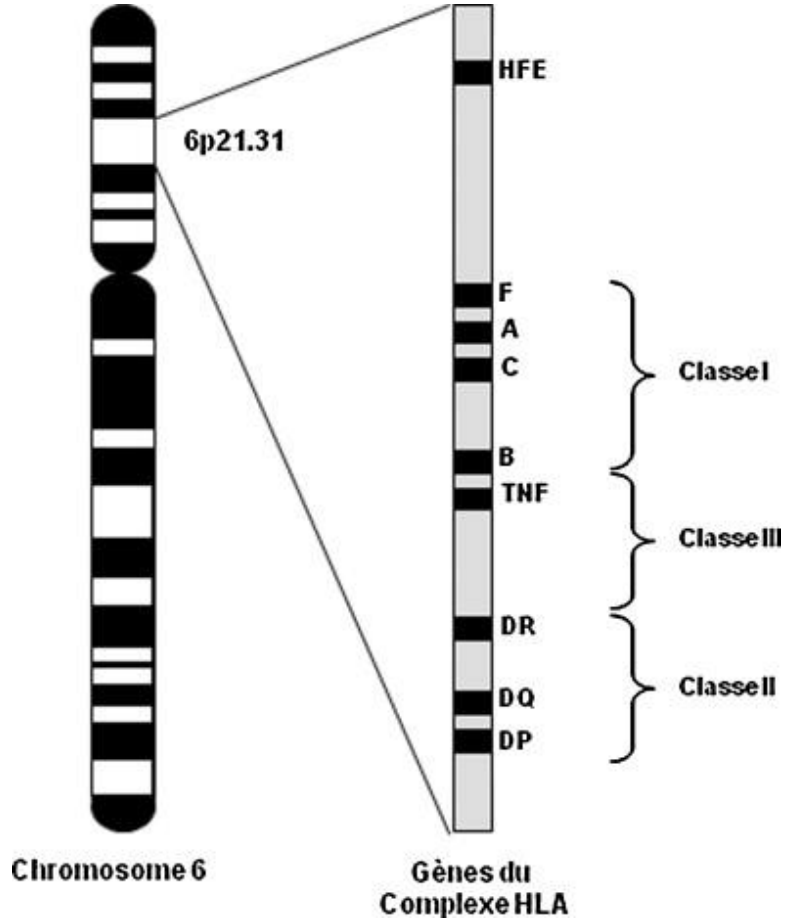


Figure 12 : Localisation et organisation du complexe HLA au niveau du chromosome 6 **(Roujon, Guidicelli, *et al.*, 2013)**.

A. La molécule HLA-DQ : structure et fonction

Les molécules HLA de classe II ; DQ2 et DQ8 structuralement sont des hétérodimères comportant une chaîne α et une chaîne β codées par des gènes appelés respectivement : DQA1 et DQB1. Pour les molécules DQ ; deux chaînes α et possèdent une variabilité allélique. Les domaines amino-terminaux α1 et β1 de chaque chaîne se lient de façon non covalente pour former le sillon permettant l'ancrage du peptide lors de l'apprêtement. Ce sillon est composé d'un « plancher » organisé en feuillets de type β et d'hélices de type α qui forment les « bords ». La forme du sillon et donc le répertoire de peptides qu'il peut accommoder dépendent des variants α et β que possède l'individu. De plus, ayant deux chromosomes 6, et donc probablement deux allèles DQA et DQB différents, un individu exprime à la surface des cellules jusqu'à quatre molécules DQ différentes ; deux issues de l'association des chaînes α et β produites par le même chromosome (c'est- à -dire en cis) et deux produites par des chromosomes différents (c'est-à-dire en trans). Les études cristallographiques des complexes molécules HLA/peptides ont mis en avant le rôle central

de la forme particulière du sillon de ces molécules HLA et pas des autres dans l'ancrage de peptides dérivés du gluten. **(Roujon, Guidicelli, *et al.*, 2013; Sollid, 2002)**. **Figure 13** : représente la structure des molécules HLA-DQ2/HLA-DQ8.

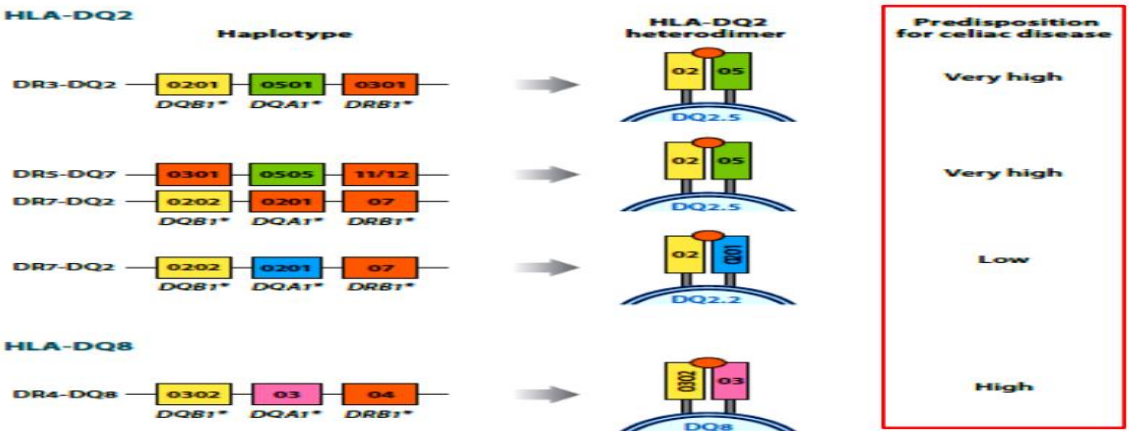


Figure 13 : La structure des molécules HLA-DQ2/HLA-DQ8 **(Risch, 1987)**.

B. Le complexe HLA et le concept de la présentation de l'antigène

Outre leur fonction de présentation antigénique, les molécules du CMH de classe II jouent un rôle important au sein du système immunitaire, et dans la susceptibilité aux maladies auto-immunes codant notamment pour des protéines essentielles à l'apprêtement et la présentation antigéniques, pivots de la réponse immunitaire adaptative, qui est spécifique de l'antigène **(Roujon, Guidicelli, *et al.*, 2013)**. Il semble que les régions polymorphiques de certains allèles de prédisposition particulièrement des familles HLA-DR et HLA-DQ, présentent des auto-antigènes qui activent une population de lymphocytes T potentiellement auto-réactifs **(Winchester, 1994)**.

Le lymphocyte T, quant à lui, ne reconnait l'antigène qu'après une digestion intracellulaire de celui-ci en peptides, qui de plus doivent pouvoir être présentés à la surface de la cellule dans une molécule de présentation antigénique, la molécule HLA, à l'intérieur de ce qu'on appelle communément le « sillon peptidique ». Il s'agit de l'épitope T, qui ne nécessite donc pas d'être localisé à la surface de la molécule antigénique, puisque le lymphocyte T est incapable de la reconnaitre en tant que telle. Cette capacité à être présenté dépend de surcroît des gènes HLA que l'individu possède. En effet, si tout le monde possède les gènes de classe I appelés A, B et Cω, et les gènes de classe II DR, DQ et DP, très peu d'individus possèdent la même combinaison, car ce système génique est de très loin le plus polymorphe de l'espèce humaine : actuellement plus de 2800 variants (ou allèles) codant

pour autant de protéines différentes sont recensés. La plupart de ces allèles définissent ainsi des molécules avec des sillons peptidiques dont la composition en acides aminés, et donc la forme et la répartition des charges électriques dans le sillon diffèrent. Ils vont donc être dotés de capacités d'association avec un répertoire de peptides antigéniques plus ou moins différents. Deux individus différents ne présenteront vraisemblablement pas les mêmes peptides dérivés de la même protéine antigénique. La plupart des cellules de l'organisme expriment des molécules HLA de classe I (produits des gènes A, B et Cω), alors que seules des cellules spécialisées dans la présentation antigénique expriment les molécules HLA de classe II (produits des gènes DR, DQ et DP) ; les principales étant les cellules dendritiques. Ces cellules peuvent ensuite activer les lymphocytes T $CD4^+$ (ou auxiliaires) qui orchestrent la réponse adaptative en contrôlant l'activation des lymphocytes T $CD8^+$ (ou cytotoxiques, qui reconnaissent le peptide présenté par les molécules HLA de classe I) et la production d'anticorps par le compartiment lymphocytaire B **(Roujon, Guidicelli, *et al.*, 2013)**. **Figure 14** illustre la présentation antigénique via les haplotypes HLA-DQ.

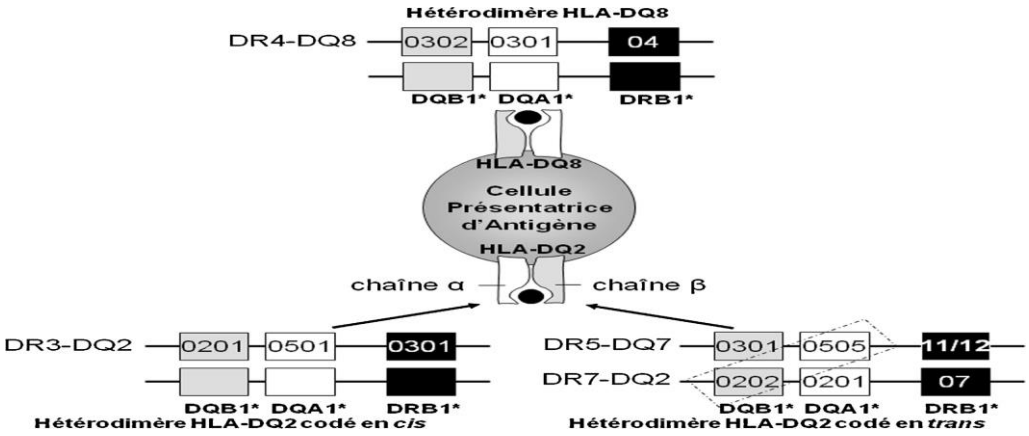


Figure 14 : La présentation antigénique via les haplotypes HLA-DQ DQ **(Heap & passoire Heel, 2009)**.

II.1.1.2 Les cellules dendritiques intestinales

Les cellules dendritiques (CD) sont des cellules présentatrices d'antigènes spécialisées qui orchestrent les réponses immunitaires innées et adaptatives. La muqueuse intestinale contient de nombreuses CD dont la fonction est hautement spécialisée **(Maria Rescigno, 2010)**. Les CD se trouvent dans la lamina propria (LP) de l'intestin grêle et du gros intestin ainsi que dans le tissu lymphoïde associé à l'intestin (GALT) **(Kelsall, 2008)**. Les CD jouent un rôle fondamental à la fois dans le maintien de l'homéostasie de l'intestin à l'état d'équilibre et dans l'induction de l'immunité contre les agents infectieux. Ces fonctions

sont associées à des sous-ensembles de CD spécialisées qui sont soit résidentes, soit recrutées au cours de l'inflammation. Les CD résidentes sont conditionnées par des facteurs environnementaux locaux qui contribuent à façonner leurs fonctions. L'élucidation de la régulation fine de l'activation des CD et de leur réponse au microenvironnement local peut aider à comprendre les troubles immunitaires intestinaux **(Maria Rescigno, 2010)**.

A. Les CD et les plaque de Peyer (PP)

Dans les PP, les CD se trouvent à la fois dans le dôme sous-épithélial qui se trouve juste sous l'Epithélium associé aux follicules (EAF), où ils peuvent capturer les antigènes et les bactéries après leur transcytose à travers les cellules M, et dans les régions inter-folliculaires des cellules T (IFR), où les CD peuvent présenter des antigènes aux cellules T **(Iwasaki, 2007)**. En effet, les PP sont le site de capture et de présentation des antigènes aux lymphocytes T, ainsi que de l'induction des réponses des immunoglobulines (Ig)-A dépendant des lymphocytes T. Par conséquent, il n'est pas surprenant que les sous-ensembles de CD des PP puissent être distingués par l'expression des récepteurs de chimiokines CX3CR1, CCR6 et CCR7 **(Salazar-Gonzalez *et al.*, 2006)**, qui imposent leur distribution, néanmoins les CD CX3CR1þ sont en contact étroit avec les EAF et absorbent les antigènes et les CD CCR7þ se trouvent dans les zones de cellules T. Ces cellules dérivent probablement des autres sous-ensembles CX3CR1þ ou CCR6þ après une commutation des récepteurs de chimiokines qui leur permet de migrer dans le RIF **(Iwasaki & Kelsall, 2000)**. Egalement, les CD dans les PP peuvent également être distinguées sur la base de l'expression de CD11b et CD8 qui caractérisent les CD ayant une capacité de polarisation Th2 ou Th1, respectivement **(Iwasaki & Kelsall, 2001)**. **Figure 15** récapitule schématiquement la distribution des CD dans les PP **(Maria Rescigno, 2010)**.

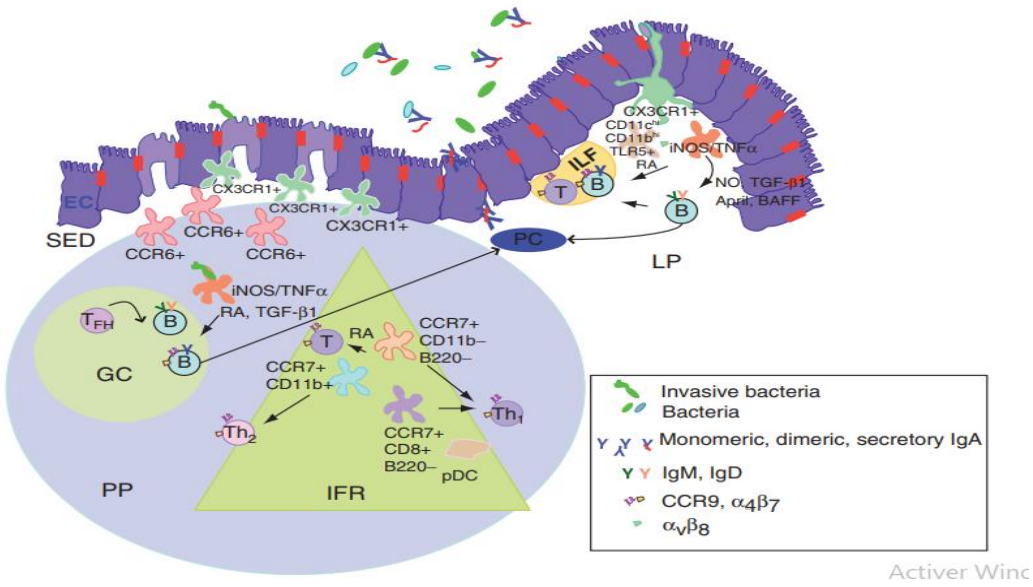


Figure 15 : La distribution des DC dans les PP **(Maria Rescigno, 2010)**.

L'expression des récepteurs de chimiokines CX3CR1, CCR6 et CCR7 ainsi le contact des DC CX3CR1þ avec l'épithélium associé aux follicules (FAE) permet une expression des CCR6 qui se trouvent dans le dôme sous – épithélial (SED). Dans le cas d'une infection antibactérienne les CCR6 sont prête à migrer vers l'EAF. De plus les DCs CCR7þ se trouvent dans la zone de cellules T. L'expression de CD11b et CD 8 confèrent aux DC une capacité de polarisation Th2 ou Th1 respectivement. Il y' également une population des DCs plasmacytoïdes (pDCs). La libération de l'IL 10, TGF β I, et IL6 et de l'acide rétinoïque (RA) par les CD11bþ des DC PP, cette libération induit un changement d'isotype des cellules B en IgA dans les PP. Ce switch de classe des IgA dépendant des cellules T est également régulé par les DC PP productrice d'INOS/TNF-α qui expriment l'intégrine $\alpha_v\beta$ 8 impliquée dans l'activation du TGF- β1. La régulation de CCR9 et $\alpha_4\beta$7 sur les cellules B et T activées est induite par les DC PP. Ces dernières peuvent également conduire au développement d'IgA dans les follicules lymphoïdes isolées du LP, et le même sous –ensemble de DC LP entraine le développement des cellules Th 17 qui sont également responsable de l'induction d'IgA après le déclenchement via TLR5.
***PP** : plaques de Peyer ; **LP** : lamina propria ; **GC** : centre germinal ; **ILF** : follicules lymphoïdes isolés ; **PC** : plasmocytes ; IFR : région inter-folliculaire ; **RA** : l'acide rétinoïque.*

B. Les cellules dendritiques (CD) de la lamina propria (LP)

Les CD LP peuvent se trouver dans les profondeurs du LP ou être associés à l'épithélium, et participent activement à la capture d'antigènes à travers l'épithélium intestinal car ils peuvent étendre des protubérances directement dans la lumière pour la capture des bactéries). L'extension des CD dans l'iléon terminal de l'iléon terminal dépend de l'engagement des TLR sur les cellules épithéliales **(Chieppa *et al.*, 2006)**. Les CD-LP se distinguent par l'expression de CD11c (élevée et faible), CD11b, CD103, CX3CR1 et CD70. Contrairement à la PP, il est rare de trouver des CD exprimant CCR7 dans la LP, car la régulation positive de CCR7 entraîne la migration des CD vers les ganglions lymphatiques mésentériques (MLN). (**Figure16**) **(Maria Rescigno, 2010 ; Niess & Adler, 2010)**.

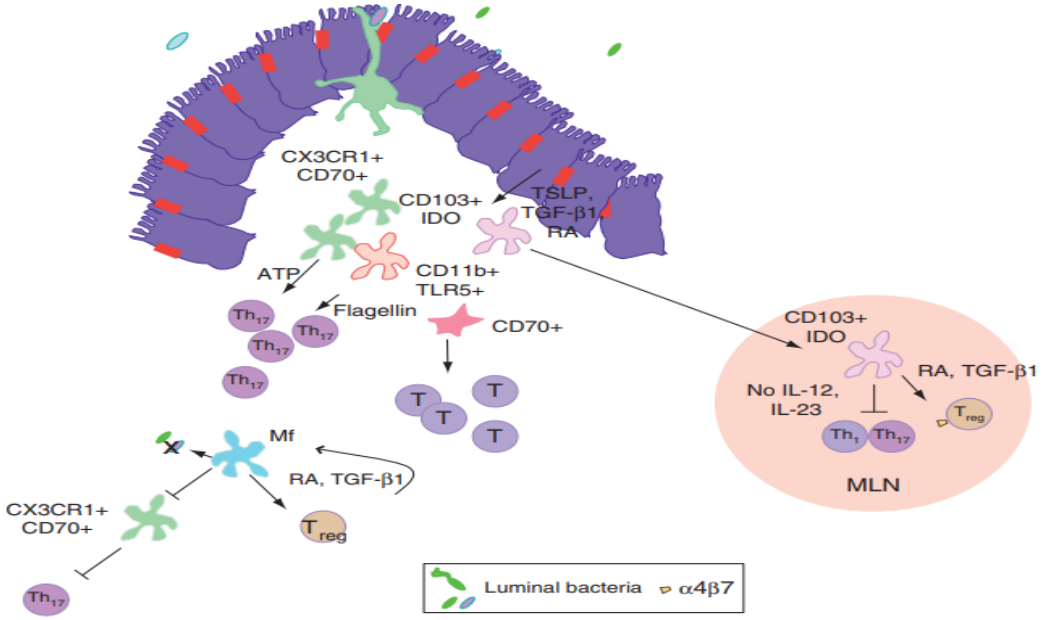


Figure 16 : Distribution et fonction des cellules dendritiques dans la Lamina propria **(Maria Rescigno, 2010)**.

Les CD CX3CR1+ expriment le CD 70 et conduit à la différenciation des cellules TH17 via un mécanisme dépendant de l'ATP et/ ou de la flagelline qui peut se lier au TLR 5. Les CD103+ reçoivent leur potentiel tolérogène du microenvironnement local et en particulier du TGF-β1 dérivé des cellules épithéliales et de l'acide rétinoïque (RA). Les DCs CD 103+ expriment l'enzyme indoleamine 2,3 d'oxygénases (IDO), et migrent dans les ganglions lymphatiques mésentériques (MLN), où elles peuvent favoriser la conversion des LT regs Foxp3β par un mécanisme dépendant de RA et TGF-β. Les LTregs convertis régulent l'expression du marqueur intestinal α4β7. Les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) expriment le CD70β. Ce dernier est nécessaire à la prolifération des LT dans la lamina Propria (LP). L'activation des LT regs peuvent également limiter l'inflammation par l'intervention des macrophages (Mf) qui conservent une activité bactéricide complète.

C. Les ganglions lymphatiques mésentériques (MLN) et CD

Dans le MLN, la population de CD CD103þ exprime CCR7, tandis que la population de CD : CD103 est CCR7 semble être un type de cellules résidentes et non migratoire probablement dérivée de précurseurs sanguins. Outre les sous-ensembles typiques de CD qui peuplent les ganglions lymphatiques périphériques **(Shortman & Liu, 2002)**, le MLN se caractérise par la présence de CD exprimant l'intégrine αE (CD103). Les CD CD103þ représentent une population de cellules migrant à partir du LP car leur nombre est très réduit chez les souris **(Jaensson *et al.*, 2008)**.

D. Les CD intestinales humaines

Il existe dans le MLN humain la population des cellules dendritiques $CD103^+$ selon l'étude de **(Johansson-Lindbom *et al.*, 2005)**, et il a été démontré qu'elle avait une fonction similaire à celle observée chez les CD103þ de souris **(Iliev *et al.*, 2009)**.

II.1.1.3 Les tissus lymphoïdes associés à l'intestin (GALT)

Les composants immunitaires intestinaux peuvent être classés tant en termes d'anatomie en sites inducteurs : tels que les ganglions lymphatiques mésentériques (MLN) drainant l'intestin et les tissus lymphoïdes associés à l'intestin (GALT) **(Brandtzaeg *et al.*, 2008; Mowat & Agace, 2014)**, dont lequel les cellules immunitaires de la réponse adaptative subissent un amorçage et une différenciation initiale. Et des sites effecteurs : la lamina propria (LP) et l'épithélium intestinal notamment les lymphocytes intra-épithéliaux (LIE) dont lesquels les cellules immunitaires adaptatives amorcées se localisent et sont maintenues pour favoriser l'intégrité de l'immunité protectrice. Ces sites sont les principaux sites d'échantillonnage d'antigènes et d'induction immunitaire adaptative dans la paroi intestinale.

Le GALT (tissus lymphoïdes associés à l'intestin) humain comprend à la fois les plaques de Peyer (PP) (multifoliculaires de l'iléon), l'appendice vermiforme et les nombreux follicules lymphoïdes isolés (ILF) (répartis le long de l'intestin) **(Mörbe *et al.*, 2021)**.

A. Les plaques de Peyer (PP)

Les PP sont des tissus lymphoïdes organisées qui constituent la principale porte d'entrée des bactéries. Les PP humaines contiennent des follicules individuels et se trouvent sur la paroi anti-mésentérique, répartis le long de LP sur toute la longueur de l'intestin grêle. Leur densité augmente vers l'iléon terminal, où ils forment un anneau lymphoïde à la jonction iléo-colique. La PP est constituée de quatre zones distinctes : le dôme (LB, LT, macrophages, sous populations de CD), les follicules lymphoïdes (LB, IgA de surface), les zones inter-folliculaires ($LTCD4^+$), l'épithélium surplombant le dôme (épithélium associé aux follicules (FAE)) **(Mörbe *et al.*, 2021)**. La fonction des cellules immunitaires **(Senda *et al.*, 2019)**, ainsi que la taille du PP peuvent changer au cours du vieillissement et l'ampleur de ces changements reste à étudier **(Figure17)**.

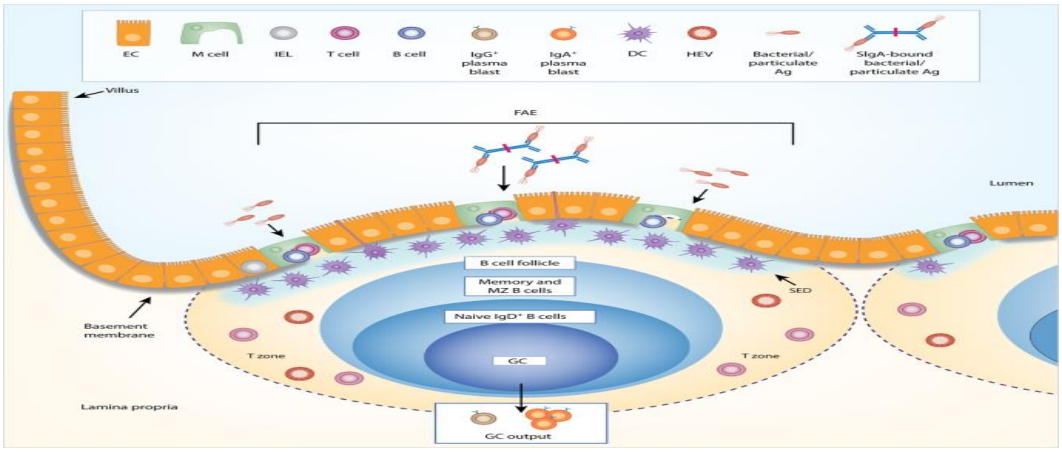


Figure 17 : La composition de follicule de PP et du GALT humain **(Junt *et al.*, 2008)**.

L'association des follicules de PP avec la lumière intestinale possèdent un FAE spécialisé contenant des cellules M qui assure le transport de l'antigène libre et la liaison aux IgA dans la PP. En dessous de la FAE, les PP possèdent une région SED riche en cellules présentatrices d'antigène. Étroitement associé au SED se trouve le follicule de cellules B sous-jacent composé d'une zone marginale externe abritant des cellules B mémoire et de zone marginale, une zone de manteau mince accueillant des cellules B naïves et un GC central, contribuant à la génération d'IgA + plasmablastes qui ensemencent l'entourant l'intestin grêle. Les follicules de cellules B de PP sont séparés par des zones de cellules T périfolliculaires (lignes pointillées). Épithélium associé au follicule FAE, dôme sous-épithélial SED, centre germinal GC, antigène Ag.

B. Les ganglions lymphatiques mésentériques (MLN)

Les ganglions lymphatiques mésentériques (MLN) sont des structures lymphoïdes constituées d'un cortex comprenant des LB organisés en follicules lymphoïdes et d'une zone para-corticale ou médullaire, hébergeant les LT et les CD. Ces ganglions jouent un rôle important dans l'activation des LT et LB naïfs et dans la régulation des réponses humorales **(Hahn *et al.*, 2010)**. Dans les MLN, les cellules dendritiques dites classiques (CDc) peuvent être largement classées en CDc résidentes dans les tissus lymphoïdes dérivant de précurseurs circulants qui pénètrent directement dans le sang, et en CDc migratoires qui arrivent dans les tissus lymphoïdes organisés via la lymphe afférente après avoir acquis l'Ag dans le LP intestinal **(Persson *et al.*, 2013)**. Les MLN occupent une position charnière dans l'anatomie immunitaire et le contrôle de l'immigration, formant la frontière entre l'immunité muqueuse et le reste du système immunitaire. En effet, les MLN sont le site clé de l'induction de la tolérance aux protéines alimentaires **(Macpherson & Smith, 2006)**.

C. La lamina propria (LP)

Constitue une base de tissu conjonctif qui soutient l'épithélium, correspond également à un espace sous épithélial formant l'axe des villosités. Elle comprend une grande variété de cellules immunitaires particulièrement les sous populations de LTCD4 helper

(Th1, Th2, Th17), les LB, les macrophages et les plasmocytes sécrétant principalement des IgA (qui sont transportées à travers les cellules épithéliales et libérées dans la lumière intestinale) et des CD classiques (CDc) **(Forkel & Mjösberg, 2016)**. Les CD-LP distinguent par l'expression de CD11c et assure la migration des (CDc) prototypiques qui peuvent être divisées en deux populations principales : $CD103^+$, $CD11b^+$ et $CD\ 103^+$, $CD11b^-$. Des cellules lymphoïdes innées sont également retrouvées (ILCs ou Innate Lymphoid Cells) **(Persson *et al.*, 2013)**.

D. Les lymphocytes intra-épithéliaux (LIEs)

A l'état normal, le nombre de LIE est inférieur à 30 pour 100 cellules épithéliales (CE) (30%), selon les études de Ferguson *et al* le nombre varié à 40 % **(Ferguson & Murray, 1971)** et inférieur à 25 % pour Hayat *et al* **(Hayat *et al.*, 2002)**. Sur le plan immunologique les LIE de l'intestin représentent une population hétérogène de lymphocytes T mémoires (90 % $CD45RO^+$) dont 20 % contiennent des granules cytotoxiques (TiA1 et granzyme B) **(Oberhuber *et al.*, 1996)** et 60 % expriment des marqueurs Natural killer (NK) comme le CD94 **(Jabri *et al.*, 2000)**. Leur adhésion aux CE s'effectue grâce à l'expression pour 90 % d'entre eux, de l'intégrine aEb7 ou CD103 (HML1), ligand de la E-Cadhérine impliquée dans la formation des jonctions serrées **(Cerf-Bensussan *et al.*, 1987)**. Il existe trois populations distinctes de LIE. Les trois-quarts des LIE sont de phénotype $CD3^+$ $CD8^+$ et expriment le récepteur Tab (TCRab) ; moins de 15 % sont $CD3^+$ $CD4^-CD8^-$ et expriment le TCR gd ; et moins de 10 % sont $CD7^+$ mais n'expriment ni le CD3 en surface (sCD3e-), ni les TCR. Enfin, contrairement aux lymphocytes T du chorion et aux lymphocytes T circulants périphériques, les LIE $CD3^+$ $CD4^+$ sont minoritaires.

II.1.2 Réponse immunitaire intestinale

L'immunité dans le tractus gastro-intestinal comprend la barrière épithéliale intestinale, peuplée de lymphocytes intraépithéliaux (IEL), la lamina propria (LP) peuplée de lymphocytes et de cellules innées, et le tissu lymphoïde associé à l'intestin (GALT) comprenant les plaques de Peyer (PP), isolé les follicules lymphoïdes (ILF), et plusieurs ganglions lymphatiques mésentériques (MLN) drainant différentes régions du tractus intestinal **(Figure 18) (Abreu, 2010)**.

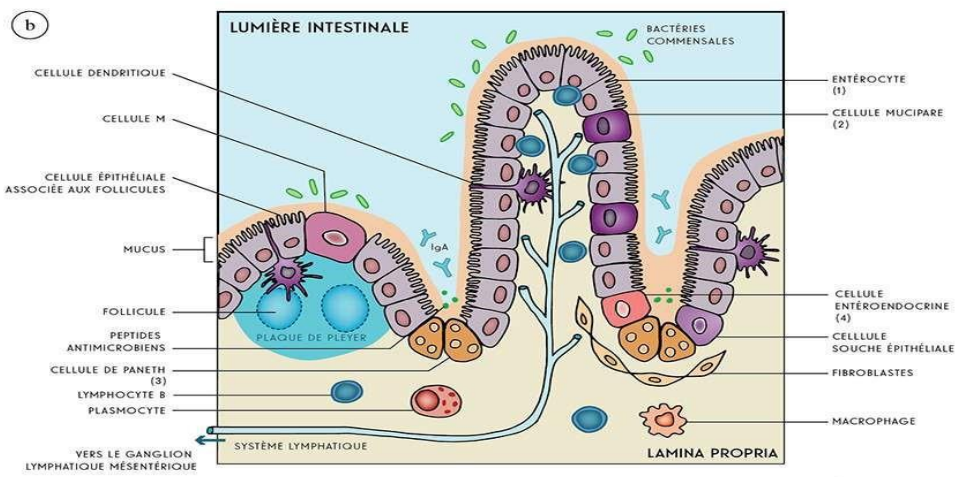


Figure 18 : Les principaux composants du système immunitaire intestinal **(Abreu, 2010)**.

Le caractère dynamique du dialogue entre l'hôte et son microbiote, et suggèrent de façon inattendue le rôle prépondérant d'un nombre limité de bactéries dans l'activation du système immunitaire notamment intestinal, ce système doit répondre de manière appropriée à ces microbes bénéfiques tout en fournissant une immunité active contre les agents pathogènes envahisseurs **(Gaboriau-Routhiau & Cerf-Bensussan, 2016)**. Cependant, dans le milieu intestinal, la séparation des réponses immunitaires adaptatives et innées ne vaut pas la peine d'être faite car il existe une relation intime avec le microbiote commensal **(Santaolalla *et al.*, 2011) (Figure 19)**.

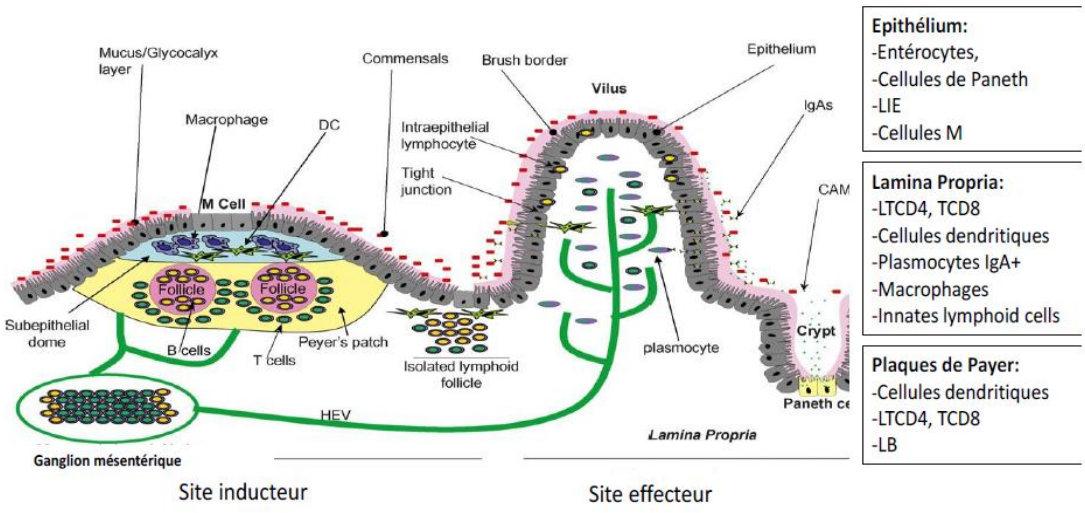


Figure 19 : Schéma représentatif des principaux composants de la réponse immunitaire intestinale **(Magalhaes *et al.*, 2007)**.

II.1.2.1 Les barrières naturelles

La première ligne de défense est formée par les barrières naturelles que sont la peau et les muqueuses composées de cellules épithéliales très serrées, elles sont très imperméables. Ce bouclier est souvent renforcé par la présence de poils ou de cils et par les sécrétions corporelles formant un film protecteur. Outre l'obstacle qu'elles représentent, plusieurs autres phénomènes physiques et chimiques concourent à éliminer les antigènes étrangers :

- Le mucus qui est séparé en 2 couches et recouvre la muqueuse digestive (rôle sécrétoire)
- Les cellules épithéliales intestinales forment une barrière physicochimique très efficace, facilement réparée en cas d'agression grâce à son renouvellement rapide à partir des cellules souches présentes au fond des cryptes en 2 à 5 jours **(Lecerf & Delzenne, 2021).**
- Le pH acide.
- La formation de jonctions serrées intercellulaires, il s'agit de protéines transmembranaires qui permettent l'adhérence des cellules entre elles et empêchent le passage des microorganismes.
- La formation de glycocalyx à partir de l'attachement de nombreuses mucines au niveau de la face apicale des cellules épithéliales, barrière semi-permanente diminuant l'accessibilité aux cellules épithéliales.
- La synthèse de peptides antimicrobiens comme les défensives qui ont la propriété de lyser les membranes bactériennes d'où un rôle dans la densité de la flore intestinale.
- Le péristaltisme qui diminue l'adhérence et évacue les pathogènes hors de l'intestin.
- Les cellules épithéliales avec l'expression de récepteurs de l'immunité innée : les PRR1 dont les TLR2 et les récepteurs NOD3 1 et NOD 2.

II.1.2.2 L'immunité intestinale innée

La réponse immunitaire innée dans la muqueuse est initialement déclenchée par la reconnaissance des modèles moléculaires associés aux agents pathogènes (PAMP) (pathogen-associated molecular patterns) par les récepteurs de reconnaissance des agents pathogènes (PRR) (pathogen-recognition receptors). Les PRR sont des récepteurs de type

péage (TLR) (Toll - like - receptors) qui sont localisés soit à la surface cellulaire, soit au sein des endosomes et peuvent être exprimés par les cellules épithéliales intestinales, les macrophages, les cellules dendritiques, les cellules B et T et les cellules stromales. Les PRR cytoplasmiques comprennent la famille des hélicases à ARN (protéine 1 du gène inductible par l'acide rétinoïque ou RIG-1, et gène associé à la différenciation du mélanome ou MDA5) et la famille des récepteurs de type nucléotide-liaison et oligomérisation (NOD) (NLR) **(Fukata *et al.*, 2009)**. Cependant l'immunité innée dans l'intestin grêle est caractérisée par la sécrétion d'IgA et la fonction des peptides antimicrobienne des cellules de Paneth **(Santaolalla *et al.*, 2011)**. **Figure 20** représente les principales étapes de l'immunité innée dans l'intestin grêle.

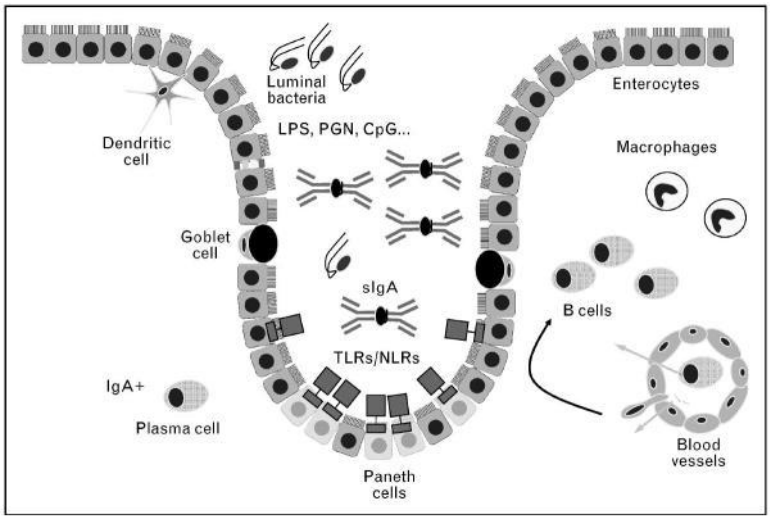


Figure 20 : L'immunité innée dans l'intestin grêle **(Santaolalla *et al.*, 2011)**.

La charge bactérienne intestinale est contrôlée par des peptides antimicrobiens et des IgA sécrétées dans la crypte intestinale. Les cellules de Paneth, situées à la base de la crypte, sont les principales productrices d'agents antimicrobiens. L'IgA est produite par les plasmocytes situés dans la lamina propria est sécrétée dans la lumière par transport transcellulaire. Les récepteurs immunitaires innés, TLR et NLR, sont exprimés dans l'épithélium intestinal et sont les capteurs des modèles moléculaires associés aux agents pathogènes. Dans la lamina propria, les cellules dendritiques et les macrophages fonctionnent comme des cellules présentatrices d'antigène

II.1.2.3 L'immunité intestinale adaptative

Définir l'immunité adaptative avec les structures complexes du tractus gastro-intestinal (GI) humain au cours de la vie est essentiel pour comprendre les réponses immunitaires aux antigènes ingérés, aux micro-organismes commensaux et pathogènes et aux dysfonctionnements de la maladie **(Senda *et al.*, 2019)**. Les cellules T et B et les plaques de Peyer forment le système immunitaire adaptatif, sa stimulation est principalement initiée dans les plaques de Peyer ainsi que dans les ganglions lymphatiques mésentériques (MLN)

et entraîne la sécrétion d'immunoglobuline A (IgA) par les plasmocytes de la lamina propria **(Hahn *et al.*, 2010 ; Senda *et al.*, 2019)**. La maturation finale du système immunitaire adaptatif se caractérise par le peuplement de la muqueuse intestinale par des lymphocytes matures effecteurs pro-inflammatoire (Th17), anti inflammatoire (Treg) et des lymphocytes B **(Czerucka, 2021)**. Ces cellules se répartissent entre les sites inducteurs qui sont les lieux de capture des Ag et d'activation des cellules immunitaires et les sites effecteurs qui sont les lieux de maturation des cellules immunitaires et de production d'effecteurs de cette réponse immunitaire. Le rôle du système immunitaire adaptatif dans l'intestin est de faire la distinction entre des antigènes nuisibles et bénéfiques, dérivés de micro-organismes (commensaux et pathogènes), ainsi que des peptides alimentaires ingérés. En conséquence, la muqueuse intestinale contient une grande proportion de toutes les cellules du système immunitaire qui se trouvent dans ce cas dans le tissu lymphoïde associé à l'intestin (GALT) et où se trouvent notamment les lymphocytes T et B naïfs. Les cellules immunitaires résidant dans la lamina propria et la couche épithéliale, au contraire, ont une fonction effectrice et de mémoire **(Bousquet, 2015) (Figure 21)**.

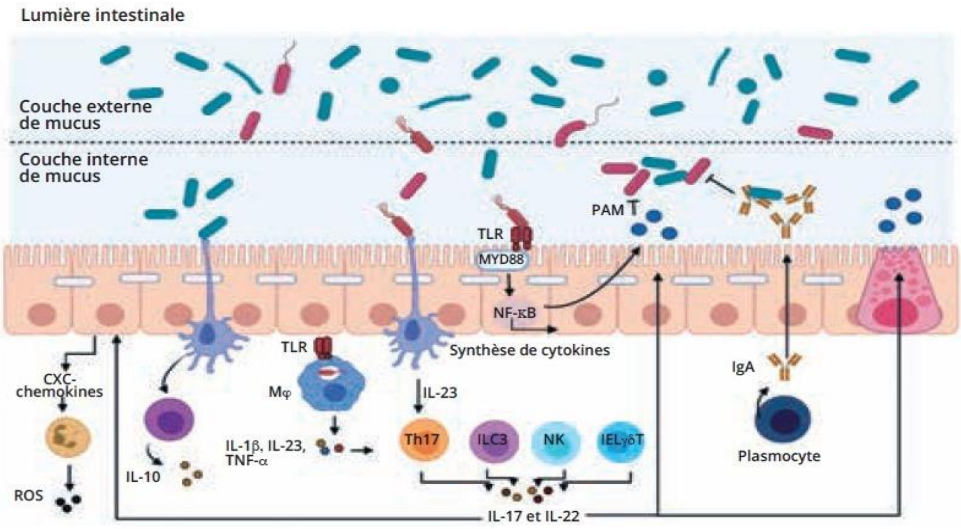


Figure 21 : Réponse immunitaire adaptative et le microbiote intestinal face aux infections **(Czerucka, 2021)**.

II.1.3 La tolérance immunitaire

La tolérance intestinale se définit comme le mécanisme physiologique de régulation de la réponse immunitaire conduisant à l'absence de réponse à un antigène. Il s'agit donc d'un état de non-réponse immunitaire, à la fois local et systémique, lors de l'ingestion d'antigènes alimentaires, en particulier protéiques. La muqueuse intestinale est exposée en

permanence, et ce dès la période néonatale, à des quantités très importantes d'antigènes exogènes, d'origine microbienne ou alimentaire **(Jabri & Sollid, 2009)**.

Au cours de l'homéostasie, les interactions entre les cellules dendritiques (CD) tolérogènes, les cellules T auto-réactives et les cellules régulatrices T (Tregs) contribuent à maintenir la tolérance immunitaire des mammifères **(Horwitz *et al.*, 2019)**. En effet, le maintien de cette tolérance immunitaire au soi se fait par deux mécanismes essentiels : le premier mécanisme est représenté par la délétion clonale au niveau central au cours de laquelle les lymphocytes auto-réactifs de forte affinité sont éliminés par apoptose. Cependant, certains clones échappent à ce mécanisme, ce qui conduit au déclenchement des MAIs. Le deuxième mécanisme est représenté par un échappement des peptides cryptiques du soi, aux clones auto réactifs en périphérie et par une régulation efficace du système immunitaire par les LTregs $CD4^+$ $CD25^+$ $Foxp3^+$ (forkhead boxp3). Toutefois, les clones auto réactifs de faible affinité peuvent être activés en périphérie par des Ag étrangers par mimétisme moléculaire avec des auto-Ag. La défaillance des mécanismes de la tolérance périphérique est à l'origine du développement des MAIs **(Belanteur & Attal, 2019)**.

- La tolérance orale (TO) est un état de non-réponse immunitaire à la fois local et systémique, au niveau des MLN induite par l'ingestion d'Ag alimentaires. ` Les principaux acteurs de la tolérance orale sont les lymphocytes T régulateurs qui sécrètent des cytokines immunosuppressives comme du TGF1ß et de l'IL-10 donc il s'agit d'un mécanisme actif qui requiert la présence de l'Ag et qui fait intervenir les systèmes immunitaires inné et adaptatif. Elles présentent ensuite l'antigène aux lymphocytes T $CD4^+$ naïfs présents dans la lamina propria ou les plaques de Peyer. Cette présentation se faisant dans un environnement tolérogène les lymphocytes T $CD4^+$ se différencient en lymphocytes T régulateurs naturels et T régulateurs inductibles qui, à leur tour, vont entretenir cet environnement immunosuppressif en produisant du TGFß, de l'IL-10 et de l'IL-35. Cette immunosuppression est spécifique de l'antigène reconnu par les LTreg. La recirculation des LTreg induits dans les ganglions mésentériques permet la diffusion systémique d'une tolérance acquise par voie digestive **(Jabri & Sollid, 2009)**. La rupture de la tolérance aux Ag alimentaires contribue au développement de l'allergie alimentaire et des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin **(Faria & Weiner, 2005)**.

- La tolérance muqueuse fait référence au processus physiologique par lequel l'exposition des protéines à la surface muqueuse induit préférentiellement cette

tolérance, cependant la tolérance orale aux auto-antigènes chez l'homme a été apprise et de nouvelles approches de la tolérance muqueuse sont par exemple : (a) une tolérance orale réussie pourrait impliquer une compréhension du microbiome, et il semble que les anomalies du microbiome qui se produisent dans les maladies auto-immunes pourraient avoir un impact négatif sur la tolérance orale ; (b) les personnes atteintes de maladies auto-immunes pourraient avoir une inflammation continue et une thérapie pour réguler négativement le milieu inflammatoire avant d'induire une tolérance peuvent être nécessaire **(Rezende *et al.*, 2019)**.

II.2 Aspects physiopathologiques

La pathogenèse de la maladie cœliaque est un modèle complexe intégratif de dysrégulation immunitaire. La gliadine (un peptide du gluten non digéré) passe la barrière intestinale et pénétrerait l'intérieur du chorion du fait d'une perméabilité intestinale accrue puis la gliadine serait modifiée et est soumise à l'action de la transglutaminase 2 (TG2), cette dernière est une enzyme qui catalyse la désamidation et la transamidation. Cela crée des résidus peptidiques qui se fixent sur les HLA DQ2/DQ8 avec une forte affinité puis sont reconnus par les LTCD4^{+}du chorion par l'intermédiaire des cellules présentatrices d'antigène (CPA). Il en résulterait une réaction inflammatoire, met en jeu une réponse immunitaire innée ainsi qu'adaptative **(Cerf-Bensussan, 2022) (Figure 22)**.

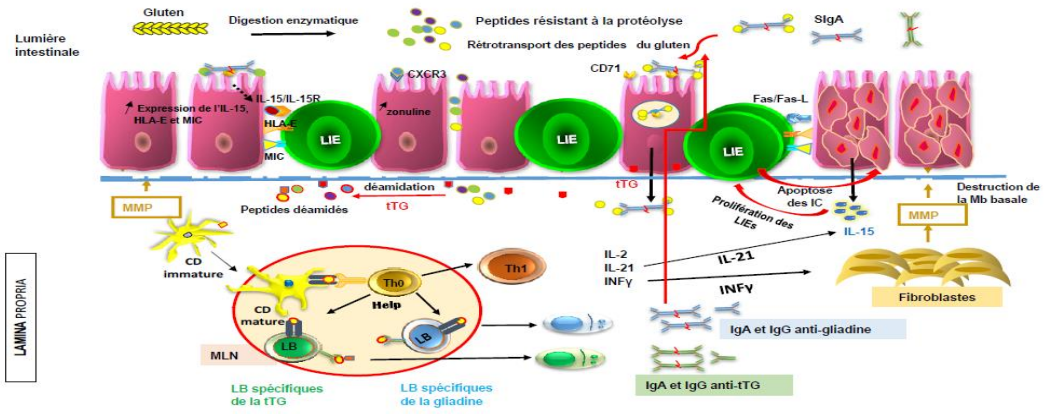


Figure 22 : Mécanisme global de l'immunopathologie de la MC **(Belanteur & Attal, 2019)**.

La libération des peptides immunogènes par la digestion incomplète du gluten ; ces peptides peuvent pénétrer dans la muqueuse et sont déamidés par la tTG et présentés aux LTCD4+ à l'origine d'une réponse immunitaire spécifique avec une production des cytokines pro-inflammatoires et des AC anti gliadine et anti-tTG d'isotype IgG et IgA. Ces dernières sont transportées dans la lumière intestinale où elles peuvent complexer les peptides du gluten. L'expression anormale du CD71 permet la translocation des complexes peptides-IgA de la lumière vers la muqueuse. En parallèle Certains peptides induisent la production de l'IL-15 qui déclenche la cascade inflammatoire entrainant la destruction de l'épithélium intestinal et l'augmentation des LIEs.

II.2.1 Réaction immunitaire au cours de la maladie cœliaque

II.2.1.1 Réponse humorale au cours de la maladie cœliaque

Parallèlement dans les organes lymphoïdes secondaires, il y a une activation des lymphocytes B, générant une réponse humorale suite à une coopération lymphocytes T-lymphocytes B qui aboutit à la différentiation des lymphocytes B en plasmocytes sécréteurs d'anticorps dirigés contre les gliadines, les tranglutaminases et l'endomysium type : IgA et d'IgG anti-gliadine, anti-endomysium et anti transglutaminase de type 2. L'endomysium est un tissu conjonctif entourant le muscle lisse, les cibles des anticorps anti-endomysium sont en réalité les transglutaminases tissulaires de l'endomysium **(Godat *et al.*, 2013)**. Des études *in vitro* ont montré leurs rôles pathogènes **(Alessio *et al.*, 2012)**. Ainsi ces auto-Ac anti-tTG sont caractérisées par :

- L'inhibition de la différentiation des cellules épithéliales intestinales.
- Une augmentation de l'activité enzymatique de la tTG et également une augmentation de la déamidation des peptides du gluten.
- De plus, des dépôts diffus de ces auto-Ac ont été constatés autours des vaisseaux cérébraux dans l'ataxie cérébelleuse.
- Un mimétisme moléculaire entre certains épitopes des cellules de Purkinje et les peptides du gluten a été évoqué induisant des dépôts d'anticorps anti gliadines (AGA) à l'origine de la destruction neuronale **(Hadjivassiliou *et al.*, 1996)**.

Ces anticorps se lient à leurs récepteurs sur les cellules présentatrices d'antigènes ou restent libres dans la lumière intestinale ce qui contribue à l'inflammation et aux manifestations extra-intestinales par dépôts de complexes immuns dans les tissus. Il a récemment été démontré que les patients ayant une maladie cœliaque sur-expriment le récepteur CD71 à la transferrine à la surface des entérocytes au pôle apical sous l'effet de l'IL-15, ce récepteur fixe les IgA anti-gliadine ce qui contribue à l'augmentation de la perméabilité intestinale au gluten **(Sollid & Jabri, 2011)**.

L'aboutissement de cette cascade impliquant des réponses immunitaires innées et adaptatives est la destruction progressive des entérocytes et donc des villosités intestinales qui s'atrophient et la persistance d'un état inflammatoire de l'intestin grêle. De plus en plus

de lymphocytes vont s'infiltrer dans l'épithélium et les cryptes, glandes exocrines sécrétant des enzymes vont hypertrophier.

II.2.1.2 Réponse immunitaire innée au cours de la MC

La réponse immunitaire innée au cours de la MC est initiée par des lymphocytes intra-épithéliaux (LIE) jouant un rôle primordial. Ce sont une population hétérogène composée principalement de lymphocytes TCRαß$^+$ CD8$^+$, mais aussi TCRγδ$^+$ et un peu de lymphocytes ressemblant aux cellules NK (Natural killer) et constituent une caractéristique histologique de premier plan dans le spectre de la maladie cœliaque. Les LIE expriment les récepteurs NK NKG2D et CD94/NKG2C qui reconnaissent MICA/MICB et HLA-E sur les cellules épithéliales, ce qui conduit alors à la destruction épithéliale **(Lundin *et al.*, 1994)**. Il a été démontré que le peptide non-immun dominant p31-43 induit la sécrétion d'IL-15 par les entérocytes. 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 et est responsable du recrutement des lymphocytes au niveau de l'épithélium (CD8$^+$ et NK). L'activation de ces derniers entraîne une destruction de l'épithélium grâce au système perforine/granzyme. Ces phénomènes immunitaires, supérieurs au niveau basal, provoquent une cascade inflammatoire qui génère les dommages tissulaires caractéristiques de la maladie (atrophie villositaire et infiltration lymphocytaire) **(Bhagat *et al.*, 2008)**. Les peptides dérivés du gluten sont transportés vers la lamina propria par la voie de rétro-transcytose, ces peptides sont ensuite présentés aux lymphocytes T CD4$^+$ via les molécules du CMH II, à savoir HLA-DQ2/8 présentes sur les cellules dendritiques. L'affinité pour ces molécules est augmentée suite à l'action des transglutaminases tissulaires. Ces enzymes sont activées uniquement après des dommages tissulaires. Cependant la production des cytokines Th1 notamment l'INF-γ par les LTCD4$^+$ **(Bethune *et al.*, 2009)**, cette sécrétion induit la stimulation de fibroblastes et des cellules mononuclées de la lamina propria qui vont sécréter des métalloprotéases entraînant la dégradation de la lame basale. L'INF-γ augmente la cytotoxicité des lymphocytes T CD8$^+$ intra-épithéliaux ainsi que celle des cellules T Natural killer (NK). De plus, LTCD8$^+$ est précédée d'une reconnaissance MIC1/NKG2D, l'expression de MICA étant induite par l'IL-15. En parallèle, les lymphocytes T CD4$^+$ stimulent les lymphocytes B. Il en résulte une expansion clonale et une différenciation en cellules sécrétrices d'anticorps notamment anti-gliadine et anti-transglutaminases tissulaires **(Green & Cellier, 2007) (Figure 23)**.

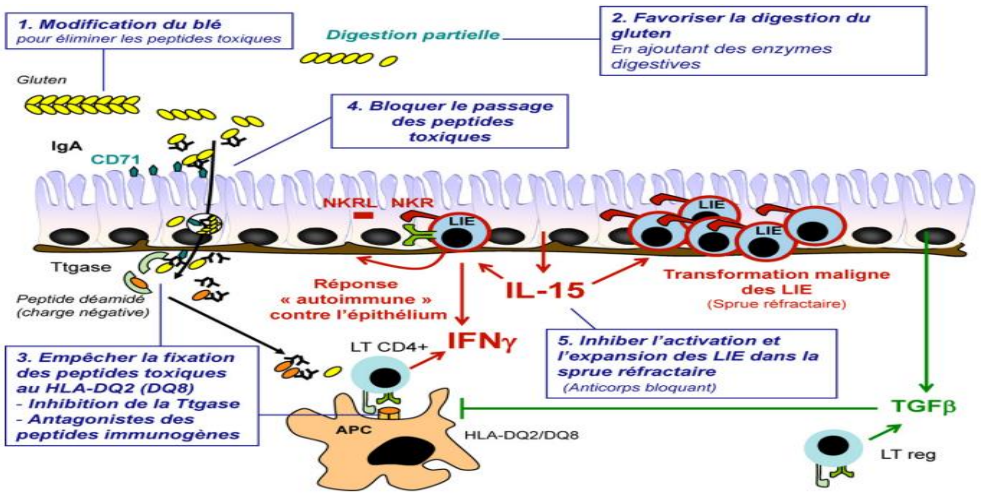


Figure 23 : Processus de l'immunité innée au cours de la maladie cœliaque **(Malamut *et al.*, 2009).**

II.2.1.3 Réponse immunitaire adaptative au cours de la maladie cœliaque

L'immunité adaptative dans la pathogénèse de la MC a été rapportée par une association médiée par les lymphocytes T mettant en faveur une augmentation de la perméabilité intestinale, en effet la gliadine a subi une désamidation au sein du chorion et devient chargée négativement. Cette transformation facilitera aux CPA (notamment les macrophages et les cellules dendritiques) porteuses du HLA DQ2 (HLA DQ8) leur captation **(Boutaleb, 2015)** ; car ces dernières possèdent des poches chargées positivement ayant une grande avidité pour les peptides chargés négativement. Cette captation se fait en position P4 P6 et P9 pour le HLA-DQ2 et P1 P4 et P9 pour le HLA-DQ8 **(Di Niro *et al.*, 2012)**. La gliadine est présentée au lymphocytes $TCD4^+$ du chorion spécifique au gluten. Une réaction immunitaire adaptative est alors enclenchée avec la production des cytokines qui stimuleront les plasmocytes via les lymphocytes B et produiront ainsi des anticorps spécifiques et la sécrétion de cytokines pro inflammatoires (TNFα, IFN gamma) **(Boutaleb, 2015),** IFNγ dans la maladie cœliaque est produit par les lymphocytes TH1 induits par IL 15, IFNα et éventuellement IL 18. IFN-α en particulier, est fortement exprimé dans l'intestin grêle de patients cœliaques, et il joue probablement un rôle important dans la différenciation de cellules dendritiques pro-inflammatoires **(Cerf-Bensussan, 2022 ; Lundin *et al.*, 1994) (Figure 24)**.

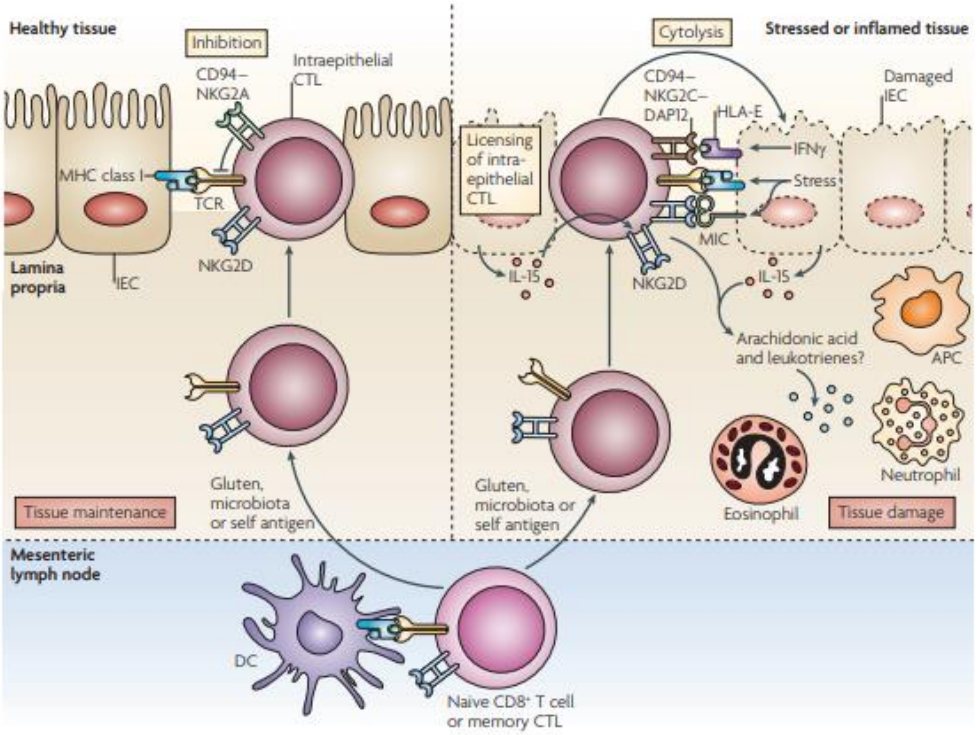


Figure 24 : Processus de la réponse immunitaire adaptative de la MC **(Jabri & Sollid, 2009)**.

(a) : La molécule HLA-DQ8 peut induire une forte réponse contre les peptides natifs et déamidés de la gliadine.
(b) : La molécule HLA-DQ2 lie un répertoire de peptides de gluten plus important comparé à HLA-DQ8.
(c) : La molécule HLA-DQ2.5 induit une forte réponse comparée à HLA-DQ2.2.

II.2.2 La susceptibilité génétique de la maladie cœliaque

II.2.2.1 Immunogénétique de la MC

L'implication du complexe HLA dans la maladie cœliaque a été identifiée par plusieurs études du groupage HLA, ces études étaient suggérées historiquement dés :

- **1972 :** Une association génétique de MC et la molécule HLA I (B8) **(Falchuk *et al.*, 1972b ; Stokes *et al.*, 1972)**.
- **1976 :** Un lien a été établi avec le sérotype HLA II DW3 (DR3) **(Keuning *et al.*, 1976)**.
- Implication du sérotype DR7 avec une association en trans avec le DR3, DR5 **(Solheim *et al.*, 1976 ; Tosi *et al.*, 1983)**.
- **1989 :** Identification de la molécule HLA-DQ 2 comme un facteur de risque de MC **(Sollid *et al.*, 1989)**.

Entre 90 et 95 % des patients atteints de MC expriment l'hétérodimère HLA-DQ2 codé par les variants des gènes DQA1*05 et DQB1*02. Compte tenu des associations haplotypiques des gènes et de l'association cis/trans des chaînes protéiques, ces allèles peuvent être portés en cis sur l'haplotype DR3-DQ2 ou en trans, et dans cette situation la chaîne α est codée par l'haplotype DR5-DQ7 sur le premier chromosome 6 et la chaîne β par l'haplotype DR7-DQ2 sur le second. L'haplotype DR3-DQ2, encore appelé DQ2.5 (DQA1*0501-DQB1*0201), contient à la fois la chaîne α et la chaîne β de la molécule HLA de classe II et représente le principal facteur de risque génétique associé à la MC. L'haplotype DR7- DQ2 ou DQ2.2 (DQA1*0201-DQB1*0202) ne confère pas un risque à lui seul. Pour cela il doit en effet être associé à l'allèle DQA1*0505 porté par l'haplotype DR5-DQ7 du second chromosome **(Heap & van Heel, 2009 ; Sollid, 2002)**.

II.3 La susceptibilité génétique : Stratégies de recherche de polymorphisme lié à la maladie cœliaque

La maladie cœliaque est multifactorielle à prédisposition génétique nécessite une stratégie de recherche des gènes de susceptibilité génétique, cette stratégie consiste à évaluer et étudier un gène dont la localisation est connue et dont la fonction biologique de la protéine codée permet de supposer qu'elle puisse avoir un rôle dans la physiopathologie de la maladie et, un autre point commun entre les deux classes de molécules HLA est qu'elles présentent un extrême polymorphisme.

II.3.1 Polymorphisme

Les polymorphismes traduisent les variations de la structure primaire d'un gène au sein d'une même espèce. Ces polymorphismes impliquent la coexistence de plusieurs allèles pour un gène donné chez plusieurs individus de la même population et d'une même espèce **(Gabriel *et al.*, 2009)**. Le polymorphisme du système a aussi permis de découvrir l'association HLA-maladies, c'est-à-dire l'existence de relations statistiques hautement significative entre la possession d'un allèle HLA particulier et la susceptibilité à une maladie donnée **(Boetsch & Gibert, 2000)**. Outre ce polymorphisme, il existe des associations préférentielles (ou des répulsions) entre un allèle d'un locus et un allèle d'un autre locus appelées déséquilibres de liaison. Ces déséquilibres de liaison constituent un outil précieux pour les anthropologues dans la mesure où ils peuvent exprimer un reliquat d'association correspondant au patrimoine génétique de populations ancestrales et pour laquelle le temps n'a pas été suffisant pour permettre aux recombinaisons de rétablir l'équilibre **(Gabriel *et al.*, 2009)**. Le premier type de polymorphisme génétique est la substitution ponctuelle d'un

nucléotide ou « Single Nucleotide polymorphism » (SNP), le second type de polymorphisme, moins fréquent, comporte les insertions/délétions d'une dizaine de paires de bases, qui ont souvent un effet sur l'expression de la protéine : les microsatellites (short Tandem Repeat : STR) et les minisatellites (Variable Number of Tandem repeat : VNTR).

Les recherches sur le polymorphisme des populations répondent à trois objectifs :

- La connaissance géographique de la répartition des groupes HLA pour un travail d'ensemble en ethnobiologie **(Houissa *et al.*, 1981)**.
- Proposer une base de référence à la fois pour les études à venir portant sur les associations HLA et maladies **(Djoulah *et al.*, 1994)**.
- Établir un éventuel schéma évolutif des allèles HLA **(Benmamar *et al.*, 1993)**. Ces recherches, ainsi que celles conduites sur les associations HLA et maladies, sont stimulées par les avancées technologiques, le génotypage faisant suite aux méthodologies sérologiques et cellulaires **(Bardi *et al.*, 1991)**.
- D'un point de vue anthropologique, le polymorphisme du système HLA et l'existence de déséquilibre de liaison ont permis d'améliorer les connaissances sur les populations étudiées et leurs régions.

II.3.1.1 Polymorphismes de système HLA dans la MC

A. Les Polymorphismes liés au HLA de classe I

Les gènes MICA (CMH I) est très polymorphe où il existe trois de polymorphismes de ce gène :

- Le polymorphisme de la région extracellulaire, qui est caractérisé par la substitution nucléotidiques au niveau des exons codant les 3 domaines, définissant 87 allèles : MICA*001 à MICA* 087 **(S. G. E. Marsh *et al.*, 2010)**.
- Le polymorphisme de la région transmembranaire qui est caractérisé par un polymorphisme microsatellite de type insertion/délétion de triplets de nucléotides GCT (Alanine) au niveau de l'exon 5, définissant 6 allèles : MICA* A4, A5, A5.1, A6, A9, A10) **(Pérez-Rodríguez *et al.*, 2000)**.
- Le polymorphisme fonctionnel de ce gène définissant 2 allèles en fonction de l'affinité de liaison de la molécule avec son récepteur activateur le NKG2D exprimés

par les cellules NK, les LTαβ et γδ **(Groh *et al.*, 1996)**. Ces 2 allèles diffèrent par un acide aminé en position 129 du domaine α2 de la chaîne lourde, contenant le site de liaison au récepteur **(Amroun *et al.*, 2005 ; Steinle *et al.*, 2001)**.

Le polymorphisme fonctionnel de ce gène (MICA Méthionine 129 Valine) a été décrit associé à la spondylarthrite ankylosante et au diabète de type 1 (DT1) dans la population algérienne **(Amroun *et al.*, 2005 ; Raache *et al.*, 2012)**.

- Le gène NKG2D (Natural Killer Group 2, member D), il existe 8 polymorphismes de type SNP ont été décrits pour ce gène et qui sont associés à plusieurs maladies, mais reste à discuter pour la MC.
- Également le SNP du gène HLA –E (rs1264457) définit deux allèles fonctionnels : HLA-E *0101 et HLA-E * 0103 qui codent pour des molécules ne sont différentes que par un acide aminé en position 107 de la chaîne lourde α : Arginine pour HLA-E*0101 (HLA-ER) et Glycine pour HLA-E*0103 (HLA-EG), **(Pietra *et al.*, 2010)**.

Il existe une association du polymorphisme de ce gène avec les infections, les MAIs et les tumeurs **(Marín *et al.*, 2003 ; Paladini *et al.*, 2009 ; Pietra *et al.*, 2010)**. Cependant, aucune étude n'a été réalisée sur la MC.

- Le polymorphisme de HLA –G de type insertion/délétion de 14 paires de bases (14pb) au niveau de l'exon 8 de la région 3' UTR du gène influence l'expression des différents isoformes et la concentration sérique de HLA-G soluble **(Hiby *et al.*, 1999)**. L'étude de Fabris *et al* a montré une association de l'allèle HLA-G Ins à la MC indépendamment de HLA-DQ2 et que les sujets porteurs des allèles DQ2 et HLA-G Ins présentent un risque plus important que les sujets qui portent DQ2 seul **(Fabris *et al.*, 2011)**.

B. Le polymorphisme lié au HLA de classe III

- Le polymorphisme du gène G8, situé à environ 4Kb au centre du groupe de gène de la protéine 70 du choc thermique (HSP70), le site de restriction polymorphe est en fait situé dans la région codante HSP70-2 adjacent (par l'enzyme Pst I) **(Partanen *et al.*, 1993)**.
- Le polymorphisme PTPN22 (rs 2476601) était significativement associé au risque de développer un diabète de type I (DT1) mais dans le cas d'une prédisposition de MC

associée au DT1 suggère un faible pourcentage de ce polymorphisme **(Smigoc Schweiger *et al.*, 2019)**.

C. Polymorphismes liés au non HLA dans la MC

- Polymorphisme de l'allèle A du Facteur de nécrose tumoral α (TNF-α) (rs1800629) chez les patients cœliaques avec DQ-2 positifs. **(De Albuquerque Maranhão *et al.*, 2015)**.
- Polymorphisme de l'allèle G du TNF (TNF-α) rs1800629 chez les patients cœliaques avec DQ-8 positifs **(de Albuquerque Maranhão *et al.*, 2015)**.
- Le polymorphisme TNF-α (-308G>A) joue un rôle important dans la susceptibilité à la maladie cœliaque **(Aflatoonian *et al.*, 2019)**.
- L'interleukine 21 (IL-21) et de l'interféron-γ (IFN γ) exprimés par les cellules Th1, le niveau de l'interleukine 17 (IL-17) exprimé par les cellules Th17 augmenté dans la MC **(Shibata *et al.*, 2009)**.
- Le polymorphisme IL-17 (-197A/G) dans la région promotrice des cytokines pourrait être lié à une expression plus élevée de l'IL-17A (-197A/G) par rapport à ceux qui n'en avaient pas. En revanche, aucune association significative entre IL-17 (-197A/G) et la maladie cœliaque n'a été rapportée **(Akbulut *et al.*, 2017)**.
- Le SNP de la région (rs8177655) de l'IL15RA était également associé à l'expression de l'ARNm de l'IL-15 chez les patients atteints de la MC **(Escudero-Hernández *et al.*, 2017)**.
- Trois SNP des régions introniques d'IL15RA, (rs2296141), (rs3136614 et rs3181148), et un autre de sa région 3'UTR, (rs 2229135), pourraient être liés à l'âge du diagnostic des patients atteints de maladie cœliaque **(Escudero-Hernández *et al.*, 2017)**.
- Trois SNP de la région promotrice d'IL 10 étaient décrits : -1082G>A (rs1800896), -819C>T (rs1800871), et -592C>A (rs1800872) dont l'expression de l'IL-10 pourrait s'expliquer par une fréquence accrue d'haplotypes du promoteur de l'IL-10 codant pour une "faible" expression. Ainsi, l'altération des réponses aux cytokines, en particulier, peut être un élément clé de l'expression de la maladie chez les individus prédisposés au développement de la MC **(Hofmann *et al.*, 2018)**.

- Cependant le polymorphisme d'IL-10 (-1082A>G) n'était pas associé de manière significative à un risque accru de MC dans tous les modèles génétiques malgré son rôle dans la physiopathologie, en particulier dans les maladies auto-immunes **(Garrote *et al.*, 2005)**.

- Deux polymorphismes du promoteur du gène IL18, précédemment rapportés comme altérant l'activité transcriptionnelle du gène (-137G/C et -607C/A), (rs187238 et rs1946518 respectivement) associées à la susceptibilité à la MC particulièrement chez les patients cœliaques qui expriment HLA –DQ2 **(Zupin *et al.*, 2015)**.

- Les SNPs du récepteur de chimiokine à motif CC 9 (CCR9) (rs7652331 et rs12493471) sont impliqués dans la maladie cœliaque et le SNP (rs2303165) de son ligand spécifique CC motif chemiokine 25 (CCL25) avec un effet fonctionnel prédit ou une localisation exonique ne contribuent probablement que modestement à l'atrophie partielle des villosités de l'intestin grêle dans la maladie cœliaque. Ainsi une localisation exonique ne contribue probablement que modestement aux divers phénotypes de la maladie cœliaque **(Airaksinen *et al.*, 2021)**.

II.3.2 Polymorphisme de l'interleukine 6

II.3.2.1 L'interleukine 6

A. Structure et signalisation cellulaire

Le gène humain d'interleukine (IL-6) a une longueur de 5 kb, situé dans la région du bras court 15-21 du chromosome 7 (7p15- 21) et contient 5 exons et 4 introns **(Fishman *et al.*, 1998),** c'est une protéine sécrétée de 26 kDa. L'IL-6 mature se compose de 184 acides aminés, de deux sites de N-glycosylation et de quatre résidus de cystéine, dont le variant AS I c'est un gène d'IL6 situé sur la région intronique **(Aliyu *et al.*, 2022)**. **Figure 25** Représente la structure de l'interleukine -6 **(Gelinas *et al.*, 2014)**.

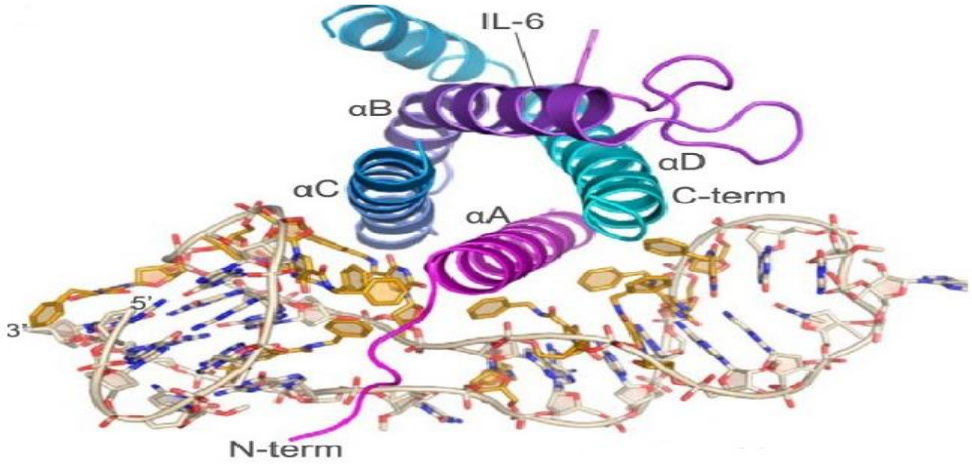


Figure 25: La structure de l'interleukine-6 **(Gelinas *et al.*, 2014)**.

L'IL-6 a été identifiée en 1986 comme un facteur de stimulation des cellules B qui favorise la différenciation des cellules B effectrices en cellules productrices d'anticorps **(Hirano *et al.*, 1990)**. Également connu sous le nom d'interféron (IFN-β2) ; facteur de stimulation des hépatocytes et facteur de croissance des hybridomes et des plasmocytomes **(Scheller *et al.*, 2011)**.

C'est une cytokine pléiotropique pro-inflammatoire multifactorielle précoce qui joue un rôle clé dans la défense de l'hôte **(Woods *et al.*, 2000)** et qui peut influencer sur plusieurs processus immunitaires et physiologiques, tels que la production de protéines de phase aiguë (protéine C-réactive [CRP], hepcidine, etc.), qui provoquent une inflammation ou une lésions tissulaires **(Rincon, 2012; Tanaka *et al.*, 2014)**, les réponses immunitaires spécifiques aux antigènes, l'hématopoïèse, l'apoptose, la différenciation et le métabolisme cellulaire **(Chalaris *et al.*, 2011; Kishimoto, 2010)**.

La production d'IL-6 au cours des conditions inflammatoires et les infections est induite par la stimulation des cellules par l'IL-1 ou le facteur de nécrose tumorale (TNF)-α ou par la stimulation des récepteurs de type Toll après la fixation des schémas pathogènes des microbes **(S. Kang *et al.*, 2019)**. L'expression accrue et dérégulée de l'IL-6 a été liée à la pathogenèse de plusieurs troubles tels que les maladies inflammatoires chroniques, les maladies auto-immunes et le développement de tumeurs **(Heinrich *et al.*, 2003)**. Dans le cas d'une maladie cœliaque des études ont montré que les taux sériques d'IL-6 chez les patients atteints de la MC augmentent après la consommation d'aliments contenant du gluten **(Clot & Babron, 2000 ; de la Concha *et al.*, 2000)**.

La signalisation de l'IL-6 est médiée par la construction d'un complexe composé de : l'IL-6, du récepteur transmembranaire de l'IL-6 (mIL-6R) ou avec des formes solubles de l'IL-6R (sIL-6R), et la molécule de la sous-unité de transmission du signal gp130. La signalisation de l'interleukine 6 se déroule selon deux voies : la signalisation classique et la signalisation trans **(Uciechowski & Dempke, 2020)**.

Dans la signalisation classique, l'IL-6 se lie aux récepteurs membranaires de l'interleukine 6 (IL-6R) liés à la membrane et à la sous-unité glycoprotéine 130 (gp130) du récepteur commun de la cytokine qui transmet le signal. Cette association déclenche la dimérisation de la gp 130 et l'activation des kinases. Ainsi dans la voie de signalisation trans, l'IL-6 se lie au récepteur soluble de l'interleukine 6 soluble (sIL-6R), puis à la gp130.

L'engagement du récepteur de l'interleukine 6 entraîne l'activation des tyrosines kinases de la famille JAK, qui stimule alors de multiples voies impliquant ERK/MAPK, PI3K/AKT et JAK/STAT, ainsi que d'autres protéines de signalisation **(Hong *et al.*, 2007 ; Rath *et al.*, 2015)**. **Figure 26** représente les différentes voies de signalisation impliquées par IL -6.

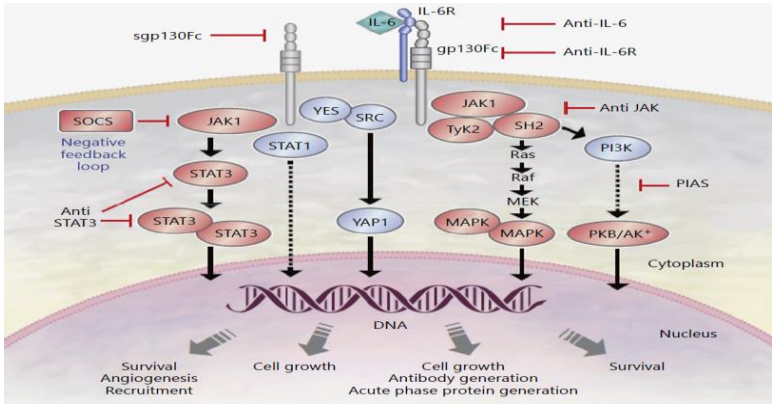


Figure 26: Les différentes voies de signalisation activées par IL-6 **(Uciechowski & Dempke, 2020)**.

II.3.2.2 Polymorphisme de l'IL6 (-174 G/C) (rs 1800795), IL6 (-572G/C) (rs1800796)

Les polymorphismes d'un seul nucléotide (SNP) dans le promoteur de l'IL-6 peuvent entraîner une variation individuelle de l'expression, de la concentration et de l'activité fonctionnelle de cette interleukine **(Terry *et al.*, 2000)** et peuvent jouer un rôle décisif dans l'immunopathogenèse de diverses maladies inflammatoires chroniques. Les SNP de l'IL-6 influencent l'expression génétique et les concentrations sériques d'IL-6 **(Fishman *et al.*, 1998 ; Terry *et al.*, 2000)**.

La relation entre la MC et les polymorphismes génétiques des paramètres immunologiques ont mis en évidence deux variants indépendants de la région promotrice du gène IL- 6 notamment IL6-AS I ont été détectés : La transition G/C en position (-174) (rs1800795) du gène IL-6 (ASI) est le polymorphisme le plus étudié dans ce gène et la position dont l'allèle majeur est le G et l'allèle de référence est le C **(Babusikova *et al.*, 2017)** et semble influencer la susceptibilité à la MC chez les filles **(B *et al.*, 2009)**. Ainsi le variant (rs 1800796) en position (-572) de transition G/C dont l'allèle majeur est le C **(Babusikova *et al.*, 2017)** peuvent affecter la production et la sécrétion de l'interleukine, ce qui peut jouer un rôle dans l'inflammation et la pathogenèse de la maladie cœliaque **(Amr *et al.*, 2016; Garrote *et al.*, 2005)** et devrait être évalué comme un facteur de risque dans le développement de la MC et mettre en évidence des liens parallèles entre l'IL-6 sérique et le polymorphisme de cette cytokine chez les patients atteints de la MC. En effet, le polymorphisme (-572G/C) est un variant fonctionnel et une région promotrice directement responsable des niveaux sériques d'IL-6 **(Barartabar *et al.*, 2018)**.

CHAPITRE III

Approches diagnostic et thérapeutique de la maladie cœliaque

III Approches diagnostic et thérapeutique de la maladie cœliaque

III.1 Diagnostic

La maladie cœliaque est une maladie fréquente d'un diagnostic multidisciplinaire d'où il établit sur l'association des critères sérologiques, histologiques et de la réponse à un régime sans gluten.

III.1.1 Critères de diagnostic

Le diagnostic positif de la MC est basé sur les critères de l'ESPGHAN (1990) qui reposent sur l'identification d'une seule biopsie positive en présence d'Ac spécifiques **(Thomas *et al.*, 1992)**. Le diagnostic est basé sur les tests sérologiques, à savoir la présence de titres élevés (supérieurs à 10 fois la limite supérieure de la normale) d'Ac anti-tTG **(Caio & Volta, 2012) (ANNEXE II)**.

III.1.1.1 Diagnostic sérologique

Les marqueurs sérologiques constituent actuellement la première étape du diagnostic quelle que soit la forme clinique. Ils sont particulièrement utiles en cas de suspicion de maladie cœliaque devant des signes frustes ou atypiques. Les critères de diagnostic sérologiques étaient négligés par l'ESPGHAN, ils ont abordé que les examens histologiques et la réponse clinique au RSG comme les principaux critères de diagnostic obligatoires de la MC, tandis que la North American Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (NASPGHAN) a publié, en 2005, le premier algorithme dans lequel la recherche d'IgA-ATG fait figure de première étape de diagnostic dans la MC **(I. D. Hill *et al.*, 2005a)**. **Figure 27** illustre l'algorithme de la recherche d'anticorps lors du diagnostic d'une maladie cœliaque selon les recommandations de la NASPGHAN (mise à jour de la Haute Autorité de santé (HAS) juin 2008) **(Roujon, Sarrat, et *al.*, 2013a)**.

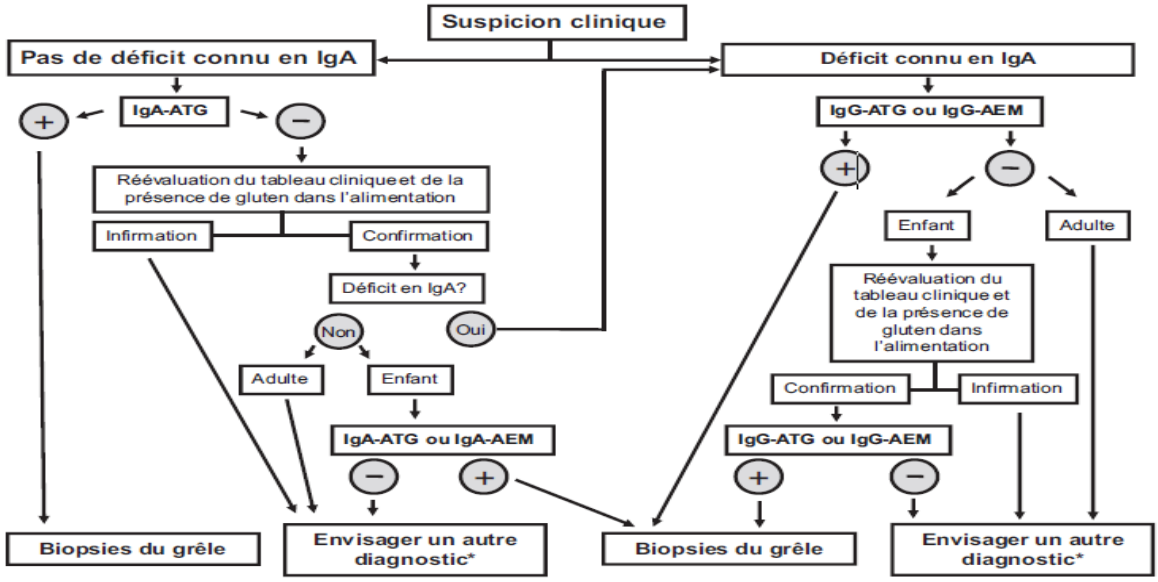


Figure 27 : Algorithme de la recherche d'anticorps lors du diagnostic d'une maladie cœliaque selon les recommandations de la NASPGHAN (mise a` jour de l'HAS juin 2008) **(Roujon, Sarrat, *et al.*, 2013a)**.

A. Sensibilité (Se) et spécificité (Sp) des principaux marqueurs

Globalement, quel que soit le marqueur utilisé, la recherche d'autoanticorps d'isotype IgA s'avère être plus sensible et plus spécifique que celle d'isotype IgG. Cependant, il existe un cas particulier, celui des patients déficients en IgA chez qui l'interprétation des tests sérologiques est plus délicate. Le **tableau IX** représente les principaux marqueurs sérologiques en fonction de leurs spécificités et sensibilités. **(Roujon, Sarrat, *et al.*, 2013a)**.

Tableau IX : les principaux marqueurs sérologiques vu spécificité et sensibilité. (D'après le rapport de la Haute Autorité de santé) **(Roujon, Sarrat, *et al.*, 2013a)**.

	Se (%) adultes	Se (%) enfants	Sp (%) adultes	Sp (%) enfants
ARA (IgA)	50–90	65 et 89	93–100	100
AGA (IgA)	64–95	74–95	65–89	83–94
AGA (IgG)	73–100	83–100	70–78	65–98
AEM OS (IgA)	74–100	75–98	97–100	89–98
AEM OS (IgG)	NR	NR	NR	NR
ATG RH (IgA)	100	90–96	100	98–100
ATG RH (IgG)	NR	NR	NR	NR

- **Anticorps anti-gliadine (AGA)**

Rostom *et al*. retrouvent dans leur revue de la littérature de 2005 une grande hétérogénéité des résultats des tests ELISA de dépistage des IgA-AGA et des IgG-AGA **(Rostom *et al.*, 2005, 2006)**. La Se des IgA-AGA peut être évaluée aux alentours de 80 %

chez l'adulte tout comme chez l'enfant. Tous âges confondus, la Sp se situe entre 80 et 90 %. L'HAS indique une Se allant de 64 à 95 % et une Sp entre 65 et 94 %. En effet, la Se et la Sp des IgG-AGA sont encore plus hétérogènes mais se situent toutes les deux aux alentours de 80 % chez l'adulte et entre 80 et 90 % chez l'enfant. D'après l'HAS, tous âges confondus, la Se varie de 73 à 100 % et la Sp de 65 à 98 %. Les performances diagnostiques sont globalement meilleures chez l'enfant, mais restent très inférieures à celles d'autres autoanticorps.

- **Les Ac anti-peptides de la gliadine déamidée (DGP)**

Ce sont des tests de seconde génération utilisant des peptides issus de la gliadine désamidés de façon synthétique (DGP) et qui montrent une Se (91 %) et une Sp (98 %) diagnostiques proches de celles des ATG et une meilleure Se (91 % versus 80 %) par rapport aux anticorps anti endomysium (AEM) **(Kaukinen *et al.*, 2007)**.

- **Anticorps anti-réticuline (ARA)**

Ce sont des auto-anticorps qui réagissent avec les fibrilles extracellulaires du tissu conjonctif. Ils reconnaissent le même Ag que les AEM. L'HAS, tous âges confondus, rapporte une Se très variable allant de 50 à 90 % (mais seulement à 35 % chez les enfants d'âge inférieur ou égal à deux ans) et une Sp entre 93 et 100 %. **(Morón *et al.*, 2008)**.

- **Anticorps anti-endomysium (AEM)**

Les AEM étaient le premier test de dépistage sérologique fiable des AEM d'isotype IgA. La détection des AC –AEM se fait par IFI qui reconnaissent le tissu conjonctif entourant les fibres musculaires lisses (endomysium) utilisant de l'œsophage de singe. Chez l'adulte une Se et une Sp étaient estimées respectivement a` 97,4 % (74 à 100 % d'après l'HAS) et 99,6 % (97 à 100 % d'après l'HAS). Chez l'enfant la Se est de 96,1 % (75 à 98 % d'après l'HAS) et la Sp est de 97,4 % (89 à 98 % d'après l'HAS) **(Naiyer *et al.*, 2009)**.

- **Anticorps anti-transglutaminase (ATG)**

Les études tentent de démontrer l'efficacité des ATG par rapport aux AEM. La présence d'ATG dans le sérum signe de façon très spécifique une MC active et leurs titres décroissent lors d'un RSG bien suivi. Il existe différentes techniques pour rechercher les ATG : méthodes radio-immunologiques, Elisa et immunodiffusion (Dot Blot). Les tests disponibles pour détecter les IgA-ATG ont globalement une Se de 95,1 % (100 % pour la

seule étude retenue par l'HAS) et une Sp de 98,3 % (100 % pour la seule étude retenue par l'HAS) chez l'adulte. Chez l'enfant une Se de 95,7 % (90 à 96 % d'après l'HAS) et une Sp de 99 % ont été obtenues (entre 98 et 100 % d'après l'HAS) **(Roujon, Sarrat, *et al.*, 2013a)**.

- **Les Ac anti- tTG néo-épitope**

Un autre test a été développé, utilisant le complexe tTG-gliadine déamidée comme source antigénique. Il s'agit d'un test permettant à la fois le dosage du néo-épitope de ce complexe, le dosage des Ac anti-tTG et celui des anti-DPG. Une très bonne sensibilité (92%), mais une spécificité ne dépassant pas 90 % **(Reeves *et al.*, 2006)**.

- **Patients déficients en IgA**

Le déficit en IgA est le déficit immunitaire héréditaire le plus fréquent chez l'homme. Il est variable en intensité, allant parfois dix fois plus fréquent chez les patients atteints de MC que dans la population générale 1 pour 40 comparé à 1 pour 400. L'inverse est également vrai, puisque 9,8 % des patients déficients en IgA seraient atteints de MC **(Korponay-Szabó *et al.*, 2003)**. Les patients déficients en IgA ne produisant que peu ou pas d'IgA-AEM et IgA-ATG. Il devient alors licite de prescrire une recherche des AEM et ATG d'isotype IgG **(Collin *et al.*, 1992 ; Kumar *et al.*, 2002)**.

III.1.1.2 Diagnostic histologique

C'est l'examen de référence de la MC par biopsie intestinale ou par biologie moléculaire sur des coupes tissulaires **(Pais *et al.*, 2008), (Patey-Mariaud De Serre *et al.*, 2000)**.

Des pièges diagnostiques doivent être connus, comme une mauvaise orientation de la biopsie ou un aspect hétérogène patchy de l'atrophie. D'autres causes d'atrophie que la MC doit être à l'esprit. Une mauvaise réponse au RSG nécessite de vérifier en premier l'observance au RSG, puis un bilan pour éliminer un lymphome intestinal ou une sprue réfractaire (SR), complications qui traduisent l'expansion clonale des LIE.

III.1.1.3 Le test salivaire

Ce test a été proposé pour la recherche des auto-Ac anti-tTG dans la salive dont la sensibilité et la spécificité sont respectivement de 90% et 96,7% **(Ocmant & Mascart, 2007)**.

III.1.1.4 Le test rapide : BIOCARD Celiac

Il existe un test de détection rapide de l'auto-anticorps anti-transglutaminase IgA et des IgA totales par une méthode immuno-chromatographique (type ELISA) à partir d'un échantillon de sang. Il s'agit du BIOCARD Celiac Test des Laboratoires Nephrotek SAS. Il est réalisable par le patient lui-même ou dans un cabinet médical et le prélèvement doit être conserve entre 10 et 27°C. Les globules rouges renferment la transglutaminase native qui est utilisée comme antigène de la réaction mais qui n'a pas de performance a des tests sériques en termes de sensibilité et de spécificité **(Weber, 2012)**.

III.1.1.5 Diagnostic génétique

Il s'agit dans certains cas de faire un groupage HLA-DQ2 et HLAS-DQ8. Si ces gènes sont absents, il y a très peu de risques que les sujets développent une maladie cœliaque **(Roujon, Guidicelli, *et al.*, 2013)**.

III.1.1.6 L'endoscopie digestive

L'endoscopie digestive est l'examen paraclinique essentiel dans le diagnostic des anomalies des muqueuses liées à la MC et de ses complications **(Barret *et al.*, 2014)**.

III.1.1.7 Bilan biologique

Il est nécessaire d'établir lors du diagnostic de la MC des bilans complémentaires afin de vérifier la gravite de la malabsorption et des conséquences qu'elle pourrait entrainer **(Weber, 2012)**.

On distingue :

- Une numération de la formulation sanguine (NFS).
- Un dosage de fer sérique et de ferritine : anémie fréquente, elle peut être le seul symptôme d'une maladie silencieuse
- Un dosage des folates : carence fréquente
- Un dosage de vitamines B12 : carence fréquente
- Le dosage de la prothrombine : il diminue avec conservation du facteur V, en raison de la malabsorption de la vitamine K

- Un bilan hépatique : augmentation fréquente des transaminases
- Un dosage de la calcémie, de la magnésemie et de la vitamine D, et une ostéodensitométrie pour l'évaluation de l'ostéopénie
- Un dosage pondéral des immunoglobulines : forte diminution des immunoglobulines M et augmentation des immunoglobulines A
- Un dosage des protéines et de l'albumine : l'hypo protéinémie et l'hypo albuminémie sont responsables des œdèmes

III.2 La comorbidité de la maladie cœliaque

La MC est une maladie auto-immune systémique, en effet il existe plusieurs pathologies associées à la MC **(Lepers *et al.*, 2004)** notamment :

- La dermatite herpétiforme : améliorée avec un régime sans gluten.
- Le diabète insulinodépendant.
- Les thyroïdites avec dysthyroïdie.
- La cirrhose biliaire primitive.
- Le déficit en immunoglobulines A.
- La néphropathie à immunoglobulines A.
- La maladie du poumon du fermier, la maladie des éleveurs d'oiseaux.
- La polyarthrite inflammatoire, la polyarthrite rhumatoïde, les polyneuropathies.
- L'épilepsie.
- La trisomie 21.
- Les troubles génitaux.

III.3 Les complications de la maladie

Les complications de la maladie cœliaque sont nombreuses et diverses, d'après les études de Cosnes *et al* qui ont distingués trois types de complications : les complications directes ou reliées, les complications indirectes, les maladies associées et les affections malignes notamment nutritionnelles : retard de croissance chez l'enfant, dénutrition, carences vitaminiques, hématologiques : anémie, osseuses : ostéoporose fracturaire,

gynécologiques : troubles de la fécondité, cardiovasculaires : coronaropathie et thromboses veineuses, neurologiques : neuropathie périphérique, et hépatiques : cytolyse, cirrhose.

La maladie cœliaque est associée à un sur-risque de maladies auto-immunes (diabète type I, thyroïdites) et surtout de cancer (cancer des voies digestives supérieures, carcinome hépatocellulaire, lymphomes) **(Cosnes & Nion-Larmurier, 2013)**.

Sur le plan digestif les principales complications sont : la colite microscopique et la sprue réfractaire marquée par une résistance au régime sans gluten associée d'une hyper lymphocytose intraépithéliale monoclonale (sprue réfractaire de type II), véritable lymphome cryptique dont le risque évolutif est le lymphome T invasif, qui complique une maladie cœliaque sur 1000. Le régime sans gluten à vie protège en grande partie de la survenue de la plupart des complications et corrige la surmortalité associée aux complications **(Cosnes & Nion-Larmurier, 2013)**.

III.4 Dépistage et recommandations

III.4.1 Qui dépister et comment dépister ?

L'incidence de la maladie cœliaque en forte augmentation depuis une vingtaine d'année est probablement liée à un meilleur dépistage des formes atypiques, néanmoins il est recommandé de proposer un dépistage systématique aux apparentés des patients cœliaques. Cette attitude est justifiée, d'une part par le risque augmenté de complications de la maladie cœliaque à long terme, et d'autre part, par la fréquence plus élevée de la maladie cœliaque dans les familles des patients atteints. Le dépistage se fait par un seul test des tests sérologiques suivant :

- Dosage des anticorps anti-transglutaminase tissulaire de type IgA **(Roujon, Sarrat, *et al.*, 2013a).**
- Dosage des anticorps anti-endomysium (AEM) en cas de suspicion de déficit en IgA.
- Dosage des anticorps anti-peptides désamidés de la gliadine (DPG).

III.4.2 Recommandations

Les AEM et ATG sont aujourd'hui considérés comme les deux marqueurs les plus fiables en termes de Se et de Sp et sont recommandés à la fois dans la stratégie diagnostique et pour le suivi des patients traités en France. Il est raisonnable d'envisager que dans un

avenir proche l'association de sérologie positives a des signes cliniques évocateurs suffira pour affirmer le diagnostic de MC **(Roujon, Sarrat, *et al.*, 2013a)**.

Sur le plan international, trois grandes recommandations ont été publiées concernant le dépistage, le diagnostic et la prise en charge de la maladie : le National Institut for Health Care Excellence (NICE / UK), l'American College Gastroenterology (ACG / USA) et l'European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition (ESPGHAN / UK, pédiatrie).

- Les dernières recommandations HAS mises à jour en juin 2008 (Annexe II) **(Houngbadji, 2018)**.
- Recommandations NICE (National Institute for Health and Care Excellence) révisées en 2015UK **(Bigare, 2016) (Tableau X)**.

Tableau X: Recommandations NICE pour pratiquer un dépistage de la MC pour des patients présentant des signes cliniques.

Recommandations	Caractéristiques Cliniques
Recommandations NICE	Douleurs abdominales persistantes ou un trouble fonctionnel intestinal. Une fatigue prolongée. Une perte de poids inexpliquée. Une aphtose buccale sévère. Une carence inexpliquée en fer, B12 ou folates.

- Recommendations ACG (American College Gastroenterology) 2013 USA **(Rubio-Tapia *et al.*, 2013) (Tableau XI)**.

Tableau XI: Recommandations ACG pour lesquels un dépistage doit être envisagé.

Recommandations ACG	Caractéristiques Cliniques
Recommandation forte, haut niveau de preuve	Symptômes, des signes ou preuves biologiques de malabsorption (diarrhée chronique, perte de poids, stéatorrhée, douleurs abdominales post prandiales, ballonnements).
	Signes ou preuves biologiques pour lesquels la maladie cœliaque est une cause curable.
	Un apparenté de premier degré diagnostiqué de MC avec présence des signes et symptômes cliniques ou preuves biologiques de MC
	MC comme cause d'une élévation des transaminases quand aucune autre cause n'a été retrouvée.
	Patient avec un diabète de type 1 + symptôme digestif ou un autre signe ou preuve biologique suggestif de MC.
Recommandation conditionnelle, haut niveau de preuve	Patients asymptomatiques + apparenté de premier degré + un diagnostic confirmé de MC.

III.5 Pronostic

Le pronostic de la MC est basé sur l'adhérence au régime sans gluten et dépendant du développement de complications **(Murray *et al.*, 2004)**.

III.6 La prise en charge de la maladie

La prise en charge est basée sur la diététique qui se définie par un régime alimentaire sans gluten permanant et strict **(I. Hill, 2004)** : les patients atteint de maladie cœliaque doivent bénéficier d'une :

1. Consultation chez un diététicien habile.
2. Éducation sur la maladie cœliaque.
3. Adhérence à vie à un régime sans gluten.
4. Identification et traitements des carences nutritionnelles.

III.6.1 Instauration du traitement

III.6.1.1 Définition d'un produit sans gluten

D'après le codex alimentaire de l'Organisation Mondiale de la Santé (Codex Alimentarius), un produit peut être déclaré sans gluten s'il provient :

- D'une céréale dont la prolamine n'est pas toxique (riz, soja, maïs, sarrasin, millet).
- D'une céréale potentiellement toxique, mais dont la teneur résiduelle en azote après traitement ne dépasse pas 50mg/100g de poids sec, soit 10mg de gliadine pour 100g de poids sec.
- D'un amidon préparé à partir de graines de céréales contenant moins de 0,3% de protéines dans l'extrait sec **(Kemppainen *et al.*, 2009)**.

III.6.1.2 Aliments autorisés et aliments interdits dans le régime sans gluten

Le tableau XII représente les aliments autorisés et les aliments interdits dans le régime sans gluten **(Costil *et al.*, 2012)**.

Tableau XII: Aliments autorisés et aliments interdits dans le régime sans gluten.

Aliments	Autorisés	Interdits
Laits	- Entier, demi-écrémé, écrémé, liquide, concentré, frais, pasteurisé, en poudre, stérilisé UHT - Lait de chèvre et brebis	Laits parfumés
Viandes	- Fraîches - Surgelées au naturel et conserves au naturel	- Cuisinées : du traiteur, surgelées ou en conserve - Viandes hachées
Produits de la mer	- Poissons frais, salés, fumés - Poissons surgelés ou naturel - Poissons en conserve ou naturel, à l'huile. - Crustacés, mollusques	Poissons, mollusques ou crustacés cuisinés (du traiteur, commerce ou surgelés)
Œufs	Tous autorisés	
Matières grasses	Beurre, margarine, huile, crème fraîche, suif, graisse d'oie	Matières grasses allégées
Féculents, farineux et céréales	- Pommes de terre : fraiches, précuites. Fécule de pomme de terre. - Riz et ses dérivés - Légumes secs : frais, en conserve ou naturel, farine de légumes secs. Soja et farine de soja. - Châtaignes et leurs farines. - Maïs et dérivés	- Pommes de terre cuisinés du commerce en boite ou surgelées - Autres préparations à base de pommes. - Blé et ses dérivés, tous les produits de boulangerie, pain, gâteaux secs sucrés et salés, pâtisseries, chapelure - Orge et dérivés - Seigle et dérivés - Amidon issu de céréales interdites (blé)
Légumes	Tous les légumes verts : frais, surgelés ou naturel, en conserve ou naturel	- Légumes verts cuisinés : du traiteur, en conserve ou surgelés - Potage et soupe en sachet
Fruits frais, fruits oléagineux	- Tous autorisés frais, en conserve Noix, noisettes, cacahuètes, amandes, pistaches : frais ou grillés, nature ou naturel+ sel - Olives	Figues sèches en vrac
Produits sucrés	- Sucre de betterave, de cannes blanches, caramel liquide - Miel, confiture et gelées pur fruit	- Sucre glace - Nougats Chewing-gum - Autres chocolats et friandises
Boissons	- Eau du robinet - Eaux minérales et de source - Jus de fruits, sodas aux fruits, sirops de fruits limonade sodas au cola	Poudre pour boissons

III.6.1.3 Perspectives diététiques liées au RSG

Des groupes de produits autrefois rares sont désormais disponibles dans une large gamme dans tous les grands magasins, et une publicité intensive a stimulé une production

accrue de ces produits, supposons que sa popularité va encore augmenter à l'avenir. De nombreux spécialistes supposent que le régime sans gluten peut être utile dans d'autres maladies également les efforts déployés pour ce régime aux seuls patients cœliaques, on peut s'attendre à ce qu'il soit progressivement plus populaire non seulement chez les patients souffrant de différents diagnostics, mais également chez les personnes en bonne santé. Les risques associés au régime sans gluten sont toujours intensément discutés entre les spécialistes et restent un problème majeur dans la pratique clinique **(Makovicky *et al.*, 2020)**.

III.6.2 Suivi

Les patients cœliaques sous régime nécessitent une surveillance médicale pour rechercher les symptômes résiduels et évaluer l'état nutritionnel ainsi la surveillance de la courbe de croissance staturo-pondérale chez l'enfant **(Matysiak-Budnik *et al.*, 2006)**, ce suivi comporte :

- Une évaluation clinique : chaque 3 à 6 mois après le RSG, puis 1 fois par an s'il y'a une bonne adhérence au régime.
- Une évaluation biologique : par demande des bilans sérologiques 3 à 6 mois après le RSG puis 1 fois par an. Après 6 à 12 mois de RSG, la disparition des Ac positifs au moment du diagnostic est corrélée à l'observance du RSG.
- Une endoscopie digestive avec biopsies intestinales est recommandée dans le cas d'absence de réponse clinique ou une rechute des symptômes malgré un RSG bien suivi.

III.6.3 Traitement médical

Le traitement est basé sur : une supplémentation en compléments et vitamines (Fer, Calcium, Folates et Vitamine D) est souvent nécessaire à la phase initiale de la mise en place du régime sans gluten **(Matysiak-Budnik *et al.*, 2006)**.

III.6.4 Autres approches thérapeutiques

La mauvaise adhérence de la prise en charge, a été définie par le mal suivi du régime chez presque 50 % des patients cœliaques cela nécessites des différentes avancées thérapeutiques notamment :

- Actuellement des essais précliniques issue de l'Institute for Protein Design de l'Université de Washington, pour développer KumaMax®, qui est une enzyme

recombinante, activée par l'acidité gastrique, elle a une spécificité élevée pour les éléments du gluten déclenchant la réaction auto-immune responsable de la maladie cœliaque destiné aux patients cœliaques qui tentent de respecter un régime sans gluten et capable de décomposer les éléments immunoréactifs du gluten avant leur passage dans le grêle, afin de réduire la réponse immune, les lésions intestinales et les symptômes cœliaques. Selon le Dr Tadataka Yamada, président de PvP Biologics, « dans les expérimentations précliniques, KumaMax® a prouvé sa capacité à décomposer le gluten avec une efficacité qui indique son potentiel en tant que traitement oral ciblant une maladie qui affecte la vie de millions de personnes » **(M, 2017)**.

- Dans certains cas, le malade cœliaque ne répond pas au régime strict sans gluten, et a donc besoin de traitements supplémentaires, notamment via l'immunothérapie **(Dewar *et al.*, 2012)**. Le **tableau XIII** représente les différentes avancées thérapeutiques de la maladie cœliaque **(Bousquet, 2015)**.

Tableau XIII : Les différentes avancées thérapeutiques de la maladie cœliaque ***(Bousquet, 2015)***.

	Traitements au niveau de la lumière intestinale	**Effets bloquants au niveau de l'épithélium de l'intestin**	**Traitements dans la lamina Propria et ailleurs**
Pré-clinique	Polymères séquestrant le gluten (BL-7010)	Inhibition de la médiation des sIgACD71et du transport des peptides de gliadine	- Bloqueurs de HLA-DQ2 ou HLA-DQ8 - Inhibiteur de la transglutaminase-2 - Blocage des lymphocytes B et des auto-anticorps
Phase I			Vaccin
Phase II	- Glutenase PEP - Glutenase ALV003 - Glutenase STAN1 - Probiotiques	Acétate de Larazotide	Antagoniste du CCR9
Phase III			

PARTIE II

PARTIE PRATIQUE

Partie Pratique

IV Patients et Méthodes

IV.1 Objectifs du travail

La maladie cœliaque (MC) pose un problème majeur de santé publique qui touche 1% à 3% des enfants dans la population générale. En Algérie la prévalence est de 56/1000. Plusieurs facteurs sont incriminés tel que environnementaux, génétiques et immunologiques. L'immunogénétique a également été impliquée dans la survenue de la MC mettant en jeu l'expression d'allèles spécifiques de susceptibilité qui s'explique 40 % des gènes d'histocompatibilité HLA de classe II codant la molécule HLA-DQ2, et ceux codant la molécule HLA-DQ8. D'autres gènes en dehors du système HLA ont été également décrits associés à la pathogénèse de la MC tels que les gènes qui codent pour les cytokines notamment l'interleukine 6 qui est une cytokine pléiotropique pro-inflammatoire précoce qui stimule la production des protéines provoquant l'inflammation ou des lésions tissulaires, cela suggère qu'elle peut influencer plusieurs processus immunitaires et physiologiques.

La relation entre la MC et les polymorphismes génétiques des molécules immunologiques ont mis en évidence des variants indépendants de la région promotrice du gène IL-6 notamment IL-6 (AS I) tels que : le polymorphisme (rs 1800795) en position (-174) d'une transition G/C qui semble influencer le développement et la susceptibilité à la MC, et le polymorphisme (rs 1800796) en position (-572) (G/C) qui est un variant fonctionnel et une région promotrice directement responsable des niveaux sériques d'IL6.

Sur la base de ces données, nous nous sommes tracé plusieurs objectifs ; qui consistaient dans un premier temps à déterminer le profil épidémiologique, clinique, paraclinique, sérologique, histologique et thérapeutique de la maladie cœliaque (tout âge confondus) dans la région de l'Ouest Algérien.

D'autre part nous nous sommes intéressés à déterminer le profil immunogénétique d'où les polymorphismes du gène codant pour l'interleukine 6 (IL6) (ASI) chez les patients cœliaques (tels que les variants : (rs 1800795) (-174 G/C) et (rs 1800796) (-572 G/C)) ; et évaluer leur impact sur le développement, l'évolution et la sévérité de la MC chez une population infantile cœliaque de l'Ouest Algérien.

IV.2 Etude épidémiologique

IV.2.1 Type de l'étude

Il s'agit d'une étude épidémiologique rétrospective observationnelle s'étalant sur une période de trois ans allant de Janvier 2016 jusqu'à Décembre 2019. Cinq cent quatre-vingt-quatre (584) patients cœliaques (enfant et adulte) ont été recrutés à partir des services suivants :

- Services de Pédiatrie C du Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) d'Oran.
- Service d'hépato-gastro-entérologie du CHU de Sidi Bel Abbés.
- Service de pédiatrie du CHU de Sidi Bel Abbés.
- Service d'hépato-gastro-entérologie du CHU de Tlemcen.
- Association National de la protection des malades cœliaques de la wilaya de Sidi Bel Abbés.
- Médecins spécialistes en hépato-gastro-entérologie libéraux à Sidi Bel Abbés.

L'étude épidémiologique a comportée trois catégories : **250 patients cœliaques** pour l'étude épidémiologique, clinique, histologique, sérologique et thérapeutique de la maladie cœliaque **de l'enfant** dans la région de l'Ouest Algérien. **111 cas cœliaques infantiles** pour l'étude du profil évolutif de la maladie coeliaque via l'adhérence au régime sans gluten. Et **223 patients cœliaques** pour le profil comparatif de la MC entre les enfants et les adultes.

IV.2.2 Population et recrutement

584 dossiers des patients cœliaques ont été traités ; toute en respectant et précisant les critères d'inclusions et d'exclusions suivants :

IV.2.2.1 Population pédiatrique et adulte

A. Critères d'inclusions

- Sujets atteints d'une maladie cœliaque confirmée avec présence des critères du diagnostic.

- Les deux sexes confondus.
- Tranche d'âge de 6 mois à 16 ans pour les enfants et plus de 16 ans pour les adultes
- Dossiers médicales complets.

B. Critères d'exclusions

- Sujets atteints d'une intolérance au gluten non-maladie cœliaque.
- Tranche d'âge inférieure à celle sélectionnée.
- Malade cœliaque perdue de vue.
- Manque d'un et /ou des critères de diagnostic abordé.
- Nouveaux cas sans prise en charge diététique.
- Dossiers incomplets.

IV.2.3 Déroulement de l'étude

IV.2.3.1 Questionnaire de base

A. Gestion des données et analyses statistiques

En ce qui concerne la description des analyses statistiques, le traitement et l'analyse des données ont été effectuée via SPSS 22.0 (Statistical Package for the Social Sciences, IBM Corporation ; Chicago, IL. Août 2013) et EXCEL 2016. Les résultats ont été résumés en taux et tableaux croisés et exprimés sous forme des fréquences, moyennes et écart-type.

IV.2.3.2 Considérations éthiques

Toutes les précautions visant le respect de l'anonymat et la confidentialité d'informations étaient, rigoureusement, respectées et les données ont été rendues accessibles seulement au personnel de l'étude.

IV.3 Etude expérimentale

IV.3.1 Type de l'étude

Il s'agit d'une étude expérimentale cas-témoins portant sur 20 sujets enfants cœliaques et 20 témoins sains. Ces sujets ont été recrutés au niveau du service de pédiatrie C, Clinique A, Cabral, CHU d'Oran et de l'association nationale de la protection des malades cœliaques de la wilaya de Sidi Bel Abbés. Cette étude a été réalisé en collaboration avec le laboratoire de recherche et développement « Gene Life Sciences ». Tous les sujets cœliaques ont été invités à fournir des informations détaillées selon le questionnaire de base abordé **(Annexe II)**. Les consentements éclairés ont été obtenus auprès de chaque tuteur et / ou tutrice de la personne concernée avant le prélèvement sanguin **(Annexe III)** et la collection du sang était réalisée dans des tubes EDTA et Citraté et conservé à -20 °C.

IV.3.2 Population et recrutement

La population pédiatrique de notre série comportait deux groupes : le groupe des cas (20 enfants cœliaques) et le groupe des témoins (20 enfants sains).

IV.3.2.1 Groupe des cas (Malades cœliaques)

La sélection des enfants cœliaques a été faite en respectant des critères bien définis.

A. Critères d'inclusion

- Malades ayant une maladie cœliaque confirmée.
- Sujets âgés de moins de 16 ans.
- Patient cœliaque sous régime sans gluten.
- Etat général bon confirmé pour chaque patient cœliaque par un médecin pédiatre.

B. Critères d'exclusion

- Patients cœliaques traitées auparavant pour une autre maladie auto-immune.
- Tuteurs et / ou tutrices de chaque patient cœliaque qui ne peuvent pas répondre aux questions ainsi qui refusent les prélèvements sanguins.

IV.3.2.2 Groupe des témoins

Il s'agit d'une population pédiatrique saine de référence, en nombre 20 **(tableau XIV)**.

A. Critères d'inclusion

- Sujets sains des deux sexes confondus.
- Sujets âgés de moins de 16 ans.
- N'ayant eu aucun type de maladies chroniques et / ou inflammatoires.

B. Critères d'exclusion

- Sujets présentant des antécédents personnels et / ou familiaux de maladies cœliaques ou autres maladies auto-immunes.

IV.3.2.3 Considérations éthiques

La confidentialité des données et d'informations étaient rigoureusement respectées. Le consentement oral des tuteurs et / ou tutrices des enfants cœliaques avant l'établissement du questionnaire et le prélèvement sanguin étaient des éléments majeurs de rigueur dans notre travail.

IV.3.3 Déroulement de l'étude

IV.3.3.1 Questionnaire de base

Notre travail consistait en premier à l'élaboration d'un questionnaire résumant les informations nécessaires à notre étude. Ce questionnaire prenait en compte différentes variables **(voir l'annexe II)**.

Tableau XIV: Répartition de l'échantillon selon le sexe.

Sexe	Cas(patients cœliaques)	Témoins
Féminin	12 (60%)	13(65%)
Masculin	8(40%)	7(35%)

IV.3.4 Techniques expérimentales

Il s'agit d'une étude expérimentale utilisant les techniques de RFLP-PCR pour déterminer les polymorphismes du gène codant pour l'interleukine 6 (ASI) (rs1800795) (-174 G/C) et (rs 1800796) (-572G/C) à partir des échantillons sanguins des enfants cœliaques.

IV.3.4.1 Mode opératoire

Toutes les étapes doivent être réalisées à température ambiante sauf indications contraires. Les solutions sont conservées entre 20°C et 30°C.

A. Extraction de l'ADN

L'extraction de l'ADN permet de générer un ADN pur de bonne qualité et de quantité suffisante pour établir un profil génétique interprétable. L'extraction de l'ADN dans notre échantillon était réalisée à l'aide du Kit GF-1BLOOD DNA EXTRACTION KIT (100 Preps).

Le principe de ce Kit est conçu pour une purification rapide et efficace de l'ADN génomique à partir de 400 µl du sang entier. Ce kit utilise une membrane filtrante en verre spécialement traitée et fixée dans une colonne pour fixer efficacement l'ADN en présence d'un sel élevé. Le guide d'application de Kit est en **(Annexe IV)**.

- **Protocole d'extraction d'ADN à partir d'un échantillon sanguin humain par le Kit GF-1 Blood DNA extraction**

✓ Toutes les étapes doivent être réalisées à température ambiante, sauf indication contraire.

✓ Le tampon de lavage 1 et le tampon de lavage 2 (concentré) doivent être dilués avec de l'éthanol absolu avant utilisation. (Référence à la section Reconstitution des solutions).

✓ Si une précipitation se forme dans le Tampon BB, incuber à 55°C - 65°C avec un mélange occasionnel jusqu'à ce que le précipité soit complètement dissous.

✓ Préréglage du bain-marie à 65°C.

✓ Préchauffez le tampon d'élution à 65°C.

✓ Concernant la lyse du sang : 200µl de Bufer BB ont été ajoutés à nos échantillons de sang de 200µl dans un tube de micro-centrifugation mélangés soigneusement par vortex jusqu'à ce qu'un mélange homogène soit obtenu.

✓ Ajouter 20µl de Protéinase K et mélanger immédiatement. Incuber à 65°C pendant 10 minutes.

✓ Après incubation, l'ajout d'éthanol (200µl d'éthanol absolu), puis mélanger immédiatement et soigneusement pour obtenir une solution homogène et éviter toute précipitation inégale des acides nucléiques due à des concentrations locales élevées d'éthanol.

✓ Chargement dans la colonne : Transférer l'échantillon dans la colonne assemblée dans un tube collecteur propre. Centrifuger à 5 000 x g pendant 1 minute et jeter le flux.

✓ Concernant le lavage 1 de la colonne : Laver la colonne avec 500µl Wash Buffer 1 et centrifuger à 5 000 x g pendant 1 minute. Jeter l'auge d'écoulement.

✓ Le lavage de la colonne 2 : Laver la colonne avec 500µl Wash Buffer 2 et centrifuger à 5 000 x g pendant 1 minute. Jeter l'écoulement. Laver à nouveau la

colonne avec 500µl Wash Buffer 2 et centrifuger à la vitesse maximale pendant 3 minutes.

- ✓ Concernant L'élution de l'ADN : Placer la colonne dans un tube de micro-centrifugation propre et ajouter 100µl du tampon d'élution préchauffé (TE) ou de l'eau distillé directement sur la membrane de la colonne et laisser reposer pendant 2 minutes. Centrifuger à 5 000 x g pendant 1 minute pour éluer l'ADN. Conserver l'ADN à 4 °C ou 20 °C. **Figure 28** : représente un schéma simplifié du protocole d'extraction de l'ADN.

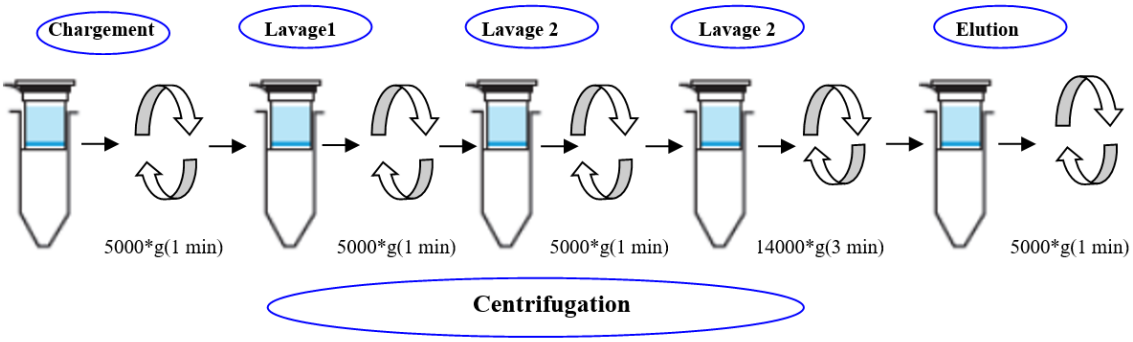


Figure 28: Schéma simplifié du protocole d'extraction de l'ADN .

B. Génotypage du polymorphisme

La détermination du polymorphisme de la région promotrice du gène de l'IL-6 (ASI) : (rs1800795) (-174G/C), et (rs 1800796) (-572G/C) a été déterminé par la technique PCR-RFLP (réaction en chaîne de la polymérase et polymorphisme de longueur de fragment de restriction) dont les étapes sont décrites comme suite :

- **Amplification de l'ADN génomique par PCR**

La réaction en chaîne de la polymérase (PCR) est une technique de biologie moléculaire très répandue qui permet de répliquer l'ADN par voie enzymatique. (**Figure 29**).

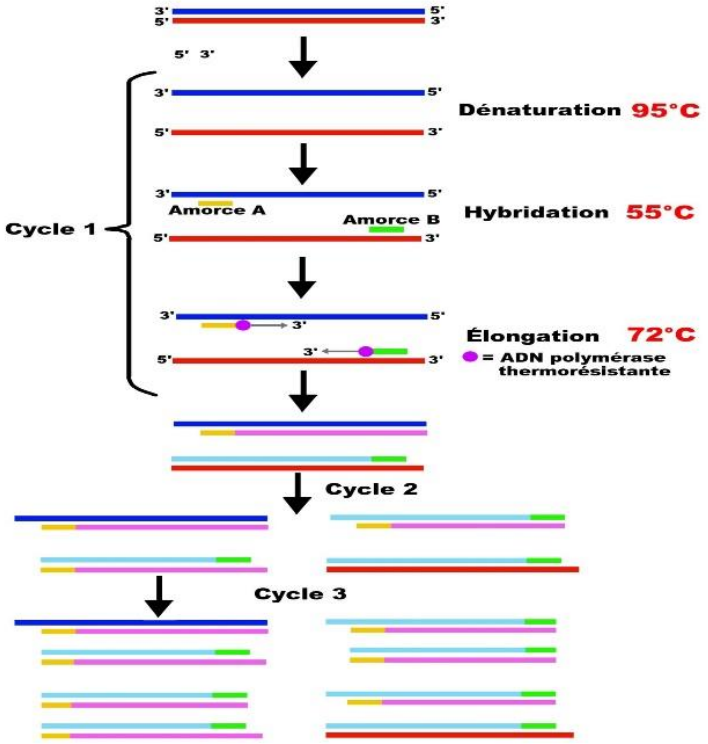


Figure 29 : Principe d'un cycle PCR **(Derrieux *et al.*, 2019)**.

La réaction PCR été faite à l'aide du Mix Master Ready to Load (Solis Bio Dyne) (7.5 mM MgCl2). Ce Mix est une solution pré-mélangée prête à l'emploi contenant tous les réactifs nécessaires pour la PCR (à l'exception de la matrice, des amorces et de l'eau) stocké à -20 °C. **(Voir Annexe V)**.

- **Le protocole de PCR à partir du Mix Master Ready to Load :**

1. Ajouter 4 µl de Mix Master Ready to Load.
2. Ajouter 0.2-0.6 µl de Forward primer (10 pmol/µl).
3. Ajouter 0.2-0.6 µl de Reverse primer (10 pmol/µl).
4. Ajouter 2 à 3 µl de l'ADN.
5. Ajouter jusqu'à 20 µl d'H2O.

- **Cycle de la PCR :**

Le déroulement a été réalisé à l'aide d'un thermocycleur iCyclerTM Thermal cycler (BIO-RAD, USA) et les conditions d'amplification qui caractérise chaque gène sont

présentés dans le **tableau XV.** Pour chaque variant la PCR s'est déroulée sur 35 cycles selon les étapes suivantes

1. 95 °C pendant 5 minutes pour dénaturation de l'ADN
2. 30 secondes à 56-59°C pour hybridation des amorces
3. 30 secondes à 72°C pour l'extension
4. Extension finale à 72°C pendant 10minutes

Tableau XV: Processus de la PCR à partir des amorces et température

Gène (variants de polymorphisme)	Taille (Pb)	Amorces	Tm
IL-6(ASI)(rs1800795) (-174G/C)	163	Forward primer : 5'-GCCTCAATGACGACCTAAGC-3' Reverse primer : 5'-TCATGGGAAAATCCCACATT-3'	59°
IL-6(ASI) (rs1800796) (-572 G/C)	182	Forward primer : 5'-GAGACGCCTTGAAGTAACTG-3' Reverse primer : 5'-AACCAAAGATGTTCTGAACTG-3'	56°

A la suite les produits de la PCR ont été séparés par électrophorèse sur gel d'agarose à 1.5 % pendant 25 minutes à 135 Volt.

IV.3.5 Les polymorphismes étudiés chez les patients cœliaques et les témoins

IV.3.5.1 IL -6 (IL6-AS1) (rs1800795) (-174 G/C)

La détermination du polymorphisme de la région promotrice du gène d'IL-6(ASI) : (rs1800795) (-174G/C) et (rs 1800796) (-572G/C) ont étaient déterminés par la réaction en chaîne de la polymérase (PCR) citée ci-dessus suivi par une réaction de polymorphisme de longueur de fragment (PCR-RFLP) dont la digestion été faite par les enzymes de restrictions respectivement : NLa III et BsrBI (New England Biolabs) spécifiques pour chaque variants.

NLa III est une enzyme de restriction de souche d'E. coli qui porte le gène NLa III de Neisseria lac reconnaît la séquence d'ADN palindromique et complémentaire de CATG/GTAC et coupe à l'extérieur des paires de bases G-C.

A. Le protocole d'application de l'enzyme NLa III :

Une unité d'enzyme est définie comme la quantité d'enzyme nécessaire pour digérer 1 µg d'ADN ΦX174 RF I en 1 heure à 37°C dans un volume total de réaction de 50 µl. Les conditions de réaction étaient effectuées à l'aide du Tampon rCutSmart™ 1X (50 mM d'acétate de potassium, 20 mM Tris-acétate, 10 mM Acétate de magnésium, 100 µg/ml d'albumine recombinante, (pH 7,9 à 25°C) et incubation à 37 °C.

L'enzyme de restriction BsrBI est extraite d'une souche d'E. coli qui porte le gène BsrBI cloné de Bacillus stearo

Points de coupure des enzymes de restriction BsrBI :

5'... CCG /CTC...3'

3'... GGC /GAG...5'

B. Le protocole d'application de l'enzyme BsrBI :

Une unité est définie comme la quantité d'enzyme nécessaire pour digérer 1 µg de λ ADN en 1 heure à 37°C dans un volume total de réaction de 50 µl. Les conditions de réaction étaient faites à l'aide du Tampon rCutSmart™ 1X (50 mM d'acétate de potassium, 20 mM Tris-acétate, 10 mM Acétate de magnésium, 100 µg/ml d'albumine recombinante, (pH 7,9 à 25°C) et incubation à 37 °C.

C. Digestion (PCR-RFLP)

Les produits digérés par l'enzyme NLa III **(tableau XVI)** ont été séparés à l'aide d'une électrophorèse sur un gel d'agarose à 2% pendant 25 minutes suivie d'une visualisation par trans-illumination UV.

Tableau XVI : Les régions de polymorphismes d'IL 6 (-174) identifiée par RFLP et l'enzyme NLa III.

Gène	Variant	Séquence nucléotidiques	Enzyme de restriction	Bandes		
				Taille	Individus	Identifiants
IL-6 (AS-1)	(-174 G/C)	F :5'-GCCTCAATGACGACCTAAGC-3' R :5'-TCATGGGAAAATCCCACATT-3'	NLa III	163pb	Homozygote	GG
				111pb 52pb	Homozygote	CC
				163pb 111pb 52pb	Hétérozygote	GC

Les produits de digestion par l'enzyme BsrBI **(Tableau XVII)** ont été séparés par électrophorèse sur un gel d'agarose à 2% et visualisés par transillumination UV.

Tableau XVII : Les régions polymorphiques d'IL6 (rs 1800796) (-572) identifiée par RFLP et l'enzyme BsrBI.

Gène	variant	Séquence nucléotidiques	Enzyme de restriction	Bandes		
				Taille	Individus	Allèles
IL6(AS-1)	(-572 G/C) (rs 180096)	F :5'-GAGACGCCTTGAAGTAACTG-3' R:5'-AACCAAAGATGTTCTGAACTG-3'	BsrB I	121pb 61 pb	Homozygote	GG
				182pb 121pb 61pb	Hétérozygote	GC
				182 pb	Homozygote	CC

IV.3.6 Analyse statistique du génotypage des polymorphismes (rs1800795) (-174G/C) et (rs1800796) (-572G/C).

Le traitement et l'analyse des données ont été effectués via SPSS 22.0 (Statistical Package for the Social Sciences, IBM Corporation ; Chicago, IL. Août 2013) et EXCEL 2021. Pour mesurer la distribution des polymorphismes, le test d'équilibre de Hardy-Weinberg (HWE) a été effectué séparément pour les patients et les témoins en calculant les fréquences réelles et les fréquences attendues.

Le test χ^2 et le test-t de Student ont été utilisés pour analyser les données entre les groupes. L'équilibre de Hardy-Weinberg a été testé à l'aide d'un test du khi-carré (χ^2). Les résultats ont été résumés en taux et tableaux croisés et exprimés sous forme des fréquences, moyennes et écart-type. La valeur-P pour déterminer s'il existe une association significative entre les polymorphismes étudiés et les caractéristiques de la maladie cœliaque a été fixée à un seuil de signification de $P<0.05$.

CHAPITRE V

RESULTATS

V Résultats

V.1 Le volet épidémiologique

V.1.1 Présentation de l'article 1

Research Article

Epidemiological, Clinical, Histological, Serological and Therapeutic Study of Children Celiac Disease in Western Algeria Region

DouniaZad EL MEHADJI[1]*, Khalida ZEMRI[1], Hayet MEHIDA[1], Noria HARIR[1], Djamila YEKROU[2], Karim Bouziane NEDJADI[3], Charef LATROCH[3], Siheme OUALI[1], Zahira BENAISSA[1]

Contexte

La maladie cœliaque est une pathologie multifactorielle fréquente et une entéropathie auto-immune induite par un antigène alimentaire, la gliadine chez des sujets génétiquement susceptibles. D'où son diagnostic est établi sur des tests sérologiques, clinico-biologiques, histologiques et la réponse à un régime d'exclusion du gluten. Dans le but de déterminer le profil épidémiologique, clinique, histologique, sérologique et thérapeutique de la maladie cœliaque chez les enfants de la région de l'Ouest Algérien nous avons mené une étude rétrospective, regroupant 250 patients infantiles durant une période de deux ans (2016 - 2018) et ce au niveau du service de pédiatrie C clinique A du CHU d'Oran (l'Ouest Algérien).

Mots clés : Maladie cœliaque, Enfants, Epidémiologie, Sérologie, Histologie, Maladies associées, Traitement.

V.1.1.1 Résumé des résultats

- Une prédominance féminine soit un ratio Femme /Homme =1.57.
- Une moyenne d'âge de (5.10±3.82 ans) lors du diagnostic avec des extrêmes de 6 mois à 13 ans
- La moyenne d'âge d'apparition de la maladie ou bien la symptomatologie était de (3.44 ± 3.34 ans) et l'âge d'introduction du gluten était de (6.37±2.19 mois), alors que l'âge de diversification alimentaire chez l'enfant était de (5.36 ±1.58 mois).

- Les circonstances de découverte de la maladie était de formes typiques plus que atypiques soit à (73.2%), (26.8%) respectivement.
- La présentation clinique de la maladie était de forme symptomatique.
- La symptomatologie se définissait par des troubles digestifs à (47.2%) principalement qu'extra digestives chez (14.4%) des cas.
- L'âge osseux était compatible avec l'âge chronologique chez 60% des enfants.
- Une biopsie duodéno-jéjunale a objectivé la présence majoritaire d'une atrophie villositaire de grade partiel (54%).
- La classification de Marsh a révélé que le stade 3 était dominant chez (29.2%) des malades.
- Une association avec des maladies auto-immunes a était notée chez (14.8 %) des cas.
- La sérologie était positive chez (77.6%) des cas.
- La sérologie après deux ans sous régime était négative chez (76%) des cas.
- Un développement qualitatif d'une anémie soit à (73.6%).
- Bonne adhérence au régime sans gluten chez (65.2%).
- Une corrélation hautement significative entre :

*L'âge d'apparition de la maladie et l'âge de diversification alimentaire (P=0.030),

*L'âge d'apparition de la maladie et l'âge d'allaitement maternel (P=0.026).

*L'âge lors de recrutement avec l'âge d'apparition de la maladie ($P<10^{-3}$).

*L'âge lors de recrutement avec l'âge de régime sans gluten ($P<10^{-3}$).

*L'âge d'apparition de la maladie avec l'âge du régime sans gluten ($P<10^{-3}$).

*Les auto-anticorps anti-transglutaminase et anti-endomysium lors du diagnostic et sous régime ($P<10^{-3}$).

*La sérologie lors du diagnostic et la sérologie sous régime (P=0.002).

- Une association significative selon le test de Khi-deux entre :

*Les maladies associées tel ques les maladies auto-immunes associées à la MC ($P<10^{-3}$).

*Le grade histologique et la sérologie (P=0.028).

Available online on 15.09.2020 at http://jddtonline.info

Journal of Drug Delivery and Therapeutics

Open Access to Pharmaceutical and Medical Research

© 2011-18, publisher and licensee JDDT, This is an Open Access article which permits unrestricted non-commercial use, provided the original work is properly cited

Open Access Research Article

Epidemiological, Clinical, Histological, Serological and Therapeutic Study of Children Celiac Disease in Western Algeria Region

Dounia Zad EL MEHADJI[1]*, Khalida ZEMRI[1], Hayet MEHIDA[1], Noria HARIR[1], Djamila YEKROU[2], Karim Bouziane NEDJADI[3], Charef LATROCH[3], Siheme OUALI[1], Zahira BENAISSA[1]

[1]. Laboratory of Molecular Microbiology, Proteomics and Health. Department of Biology, Djillali Liabes University of Sidibel Abbes, (Ex ITMA), Algeria
[2]. Departement of Medical Oncology, Anti-Cancer Centre of Sidi Bel Abbes. Algeria
[3]. Departement of Pediatrics « C »(A. Cabral), CHU of Oran, Algeria

ABSTRACT

Objectives: To determine the epidemiological, clinical, histological, serological and therapeutic profile of celiac disease in children in Western Algeria region.
Methods: 250 patients over a period of three years (2016 - 2019) from the pediatric department of the University Hospital of Oran (West Algeria) were included in our retrospective study.
Results: We noticed a female predominance with a sex ratio F/M = 1.57. Symptoms were defined by typical (73.2%) and atypical (26.8%) forms, digestive disorders (47.2%), extra digestive disorders (14.4%). Anemia was noted at 73.6%, and the association with autoimmune diseases at 14.8%. Seropositivity was present in 77.6% of cases and histology revealed partial grade villous atrophy at 54%. We noticed a significant link between the histological grade and the serology ($p = 0.001$), between age and histological grade ($p<10^{-3}$), between bone age and body mass index ($p = 0.017$), between the age of onset of the disease and the age of food diversification ($p = 0.030$), and with the age of breastfeeding ($p = 0.026$). In addition, we found an excellent correlation between anti-transglutaminase and anti-endomysium autoantibodies during diagnosis and under diet ($p<10^{-3}$), and between serology during diagnosis and serology under diet ($p = 0.002$)
Conclusion: Celiac disease (CD) of children in western Algeria is characterized by a variety of clinical symptoms. The gluten-free diet remains the only therapy for these affected children.
Keywords: celiac disease, children, epidemiology, serology, histology, associated diseases, treatment.

Article Info: Received 17 July 2020; Review Completed 12 August 2020; Accepted 19 August 2020; Available online 15 September 2020

Cite this article as:

El Mehadji DZ, Zemri K, Mehida H, Harir N, Yekrou D, Nedjadi KB, Latroch C, Ouali S, Benaissa Z, Epidemiological, Clinical, Histological, Serological and Therapeutic Study of Children Celiac Disease in Western Algeria Region , Journal of Drug Delivery and Therapeutics. 2020; 10(5):6-10 http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v10i5.4344

***Address for Correspondence:**

Dounia Zad EL MEHADJI, PhD Candidate in Biochemistry-Immunology, Laboratory of Molecular Microbiology, Proteomics and Health. Department of Biology, Djillali Liabes University of Sidibel Abbes, (Ex ITMA), Algeria

INTRODUCTION

Celiac disease is an autoimmune-mediated enteropathy, which occurs in genetically susceptible individuals [1]. It is a chronic, systemic and inflammatory pathology characterized by villous atrophy of the small intestine induced by a food antigen, prolamins (gluten) [2, 3]. The frequency of the disease is worldwide even if the disease goes undiagnosed [4], the incidence of the disease has increased in recent decades. Celiac disease is a major public health problem affecting 1% - 3% of children [5, 6]. According to screening studies in children, the prevalence varies between 3 and 14/1000 [7, 8] while in Sahrawi children in Algeria the prevalence is exceptional, it is 56/1000 [9]. This disease manifests itself at any age and the clinical presentation is defined by a variety of symptoms [10]. The symptomatologies of the disease of classic form are the most typical and are defined by the gastrointestinal manifestations (GT), but also, can have extra intestinal manifestations [11-13]. Through this study we aim to understand the parameters identifying this disease nevertheless the epidemiological, serological, clinical and histological profile in children of the region of Western Algeria.

PATIENTS AND METHODS

The population:

We have established a retrospective epidemiological study, in the pediatric department, Saint-Michel, of Oran region (western Algeria), bringing together 250 patients with celiac disease over a period of three years (2016-2019). Only CD children having performed serological and histological analyzes and aged less than 16 years were included in our survey. The following variables were considered: age; sex; disease duration; serological and histological assessment; comorbidities; age of disease onset; the age of the gluten-free diet; age of dietary diversification and the age of introduction of gluten; and treatments.

The statistical analysis:

Concerning the statistical analytical study, data were summarized using rates and cross-tabulations. For the Associations between different parameters the Pearson's Khi2 test (χ^2) was used to evaluate the statistical significance ($P<0.05$). All data were processed and analyzed via SPSS 22.0 **(Statistical Package for the Social Sciences, IBM Corporation; Chicago, IL. August 2013).**

RESULTS:

250 cases were enrolled in our study between 2016-2019 (61.2% females and 38.8% males). A clear female predominance was noted with the female to male ratio of 1.57, the median age was of 5.10±3.82 running from 6 month to 13 years old.

In our population, the average age of onset of the disease was at 3.44 ± 3.34 years, while that of introduction of gluten was at 6.37 ± 2.19 months. However, the average age at the start of dietary diversification in our children was at 5.36 ± 1.58 months.

Birth weight was within range for all patients and the median body mass index was at 15.32 ± 2.57kg / m2. 25% of celiac children were from consanguineous marriage and 24.4% had a family history of the disease (Table 1).

Celiac disease was typical in 73.2% of cases and atypical in 26.8%. Symptoms were defined as digestive disorders (47.2%): chronic diarrhea 64.8%, abdominal pain 52.4%, vomiting 37.6% and abdominal bloating in 34.4% of cases. Extra digestive manifestations were noted in 14.4% of patients: such as weight loss at 38.4%, anemia at 30% and failure to thrive at 35.6%. Bone age was consistent with chronological age in 60% of the children.

Pathological examination of the duodeno-jejunal biopsy showed the presence of partial grade villous atrophy at 54%, subtotal at 23.6% and total at 12%. According to Marsh's classification, stage 3 was dominant in 29.2% of patients, with a rate of intraepithelial lymphocytes greater than or equal to 30% in 46%. 77.6% of cases presented a positive serology. In fact, the seropositivity of the anti-transglutaminase isotype IgA, IgG auto-antibodies assay was noted in 68% and 76.8% respectively. Likewise, anti-gliadins of isotype IgA were positive at 88.4% and anti-endomysium in 87.6% of cases (table 2).

73.6% of the children developed anemia with an average hemoglobin (10.78 ± 1.77g / dl), 8% an allergy to cow's milk proteins (CMPA), 5.6% thyroid disorders and 2.4% asthma. However, we noted an association with autoimmune diseases at 14.8% (thyroiditis at 6.8%, Type I Diabetes at 3.2%,IgA deficiency at 2.8%,linear IgA dermatosis 1.2% and psoriasis at 0.8% of cases). The gluten-free diet was prescribed for all patients as the only treatment for this disease but sometimes combined with symptomatic treatments to treat digestive disorders and anemia. Almost 65.2% of cases followed the diet well and serological analysis after two years on the diet showed negativity in 76% of cases with an average body mass index of 17.20 ± 3.08kg / m2.

Statistical analysis showed the existence of a significantly increased correlation link between the origin and the socio-economic level of patients ($p = 0.003$), between bone age and body mass index ($p = 0.017$), between the age of onset of the disease and the age of food diversification ($p = 0.030$), and with the age of breastfeeding ($p = 0.026$). We also noted a correlation between age and histological grade ($p<10-3$). Likewise, a very significant correlation between age and age of disease onset ($p<10-3$), age and age of gluten-free diet ($p<10-3$) and also the age of disease onset was correlated with the age of onset of the gluten-free diet ($p<10-3$). In addition, we found an excellent correlation between anti-transglutaminase and anti-endomysium autoantibodies during diagnosis and under diet ($p<10-3$), and between serology during diagnosis and serology under diet ($p = 0.002$) (table 3).

Chi-square test also showed a significant association between histological grade and serology ($p = 0.028$) (figure1).

Table 1 : Characteristics of population

Number (%)	
Gender, n (%)	
Female	153 (61.2%).
Male	97 (38.8%).
Personal history, n (%)	
Medical staff, n (%)	
Anemia	20 (8%).
Notion of prematurity	14 (5.6%).
Type I diabetes	8 (3.2%).
Allergy	6 (2.4%).
Surgical personnel, n (%)	
Appendectomy	2 (0.8%).
Cholecystectomy	1 (0.4%).
Ectopitesticular	1 (0.4%).
Family history of CD, n (%)	61 (24.4%).
Consanguinity of parents, n (%)	63 (25.2%).
Socio-economic level n, (%)	
Good	26 (10.4%).
Bottom	70 (28%).
Medium	154 (61.6%).
CD: celiac disease	

Table 2 : Clinical, histological and serological characteristics of population

Clinical symptoms	Number (%)		
Circumstances of Discovery			
Typical	183 (73.2%)		
Atypical	67 (26.8%)		
Symptomatology			
Digestive disorders	118 (47.2%)		
Chronic diarrhea	162 (64.8%)		
Abdominal pain	131 (52.4%)		
Vomitings	94 (37.6%)		
Abdominal bloating	86 (34.4%)		
Constipation	35 (14%)		
Abdominal Distention	15 (6%)		
Nausea	13 (5.2%)		
Epigastralgia	6 (2.4%)		
Extradigestives	36 (14.4%)		
Weight loss	96 (38.4%)		
Anemia	75 (30%)		
Staturo-ponderal delay	89 (35.6%)		
Pallor	62 (24.8%)		
Asthenia	38 (15.2%)		
Anorexia	19 (7.6%)		
Mouth ulcer	11 (4.4%)		
Weakness and muscle cramps	10 (4%)		
Skin rash	10 (4%)		
Edema	2 (0.8%)		
Digestive disorders and Extra digestives	96 (38.4%)		
Histology			
Villous atrophy			
Presence	250 (100%)		
Grade of atrophy			
Partial	135 (54%)		
Partial to subtotal	26 (10.4%)		
Subtotal	59 (23.6%)		
Total	30 (12%)		
Marsh Classification			
2 to 3	43 (17.2%)		
3	73 (29.2%)		
3a	17 (6.8%)		
3 to 4	26 (10.4%)		
3b	13 (5.2%)		
3c	10 (4%)		
4	46 (18.4%)		
4 to 5	9 (3.6%)		
5	13 (5.2%)		
LIE≥30%	115 (46%)		
Serology			
Doubtful	11 (4.4%)		
Positive	194 (77.6%)		
Negative	45 (18%)		
Autoantibody assay n,(%)	Doubtful	Negative	Positive
tTG-IgA	8(3.2%)	72 (28.8%)	170 (68%)
tTG-IgG	6 (2.4%)	52 (20.8%)	192 (76.8%)
AGA-IgA	3 (1.2%)	26 (10.4%)	221 (88.4%)
EMA-IgA	3 (1.2%)	28 (11.2%)	219 (87.6%)

Table 3: the correlation between the age of onset of the disease and different parameters

Variable	Age of onset of the disease		
	n	r (corrélation coefficient)	p
Age of dietary diversification	250	0.137*	0.030
Breast feeding age		0.141*	0.026
Age on Gluten-Free Diet		0.703**	$<10^{-3}$
	Age range		
Age of onset of the disease	250	0.670**	$<10^{-3}$
Histological grade		0.270**	$<10^{-3}$
Age on Gluten-Free Diet		0.765**	$<10^{-3}$
Origin			
Socio-economic level	250	0,187**	0,003
bone age			
Body mass index	250	-,152*	0,017
Anti-transglutaminase			
Anti-endomysial	250	0,746**	$<10^{-3}$
Serology under regimen			
Serology at diagnosis	250	0,198**	0,002

*. The correlation is significant at the 0.05 level (two-way). **. The correlation is significant at the 0.01 level (two-way).

Chi-square test shows a significant association between associated diseases and associated autoimmune diseases($p<10^{-3}$),The results are not significant between symptomatology and histology, histological grade and serology(p=0.028) Figure 1 illustrates the significance between serology and histology

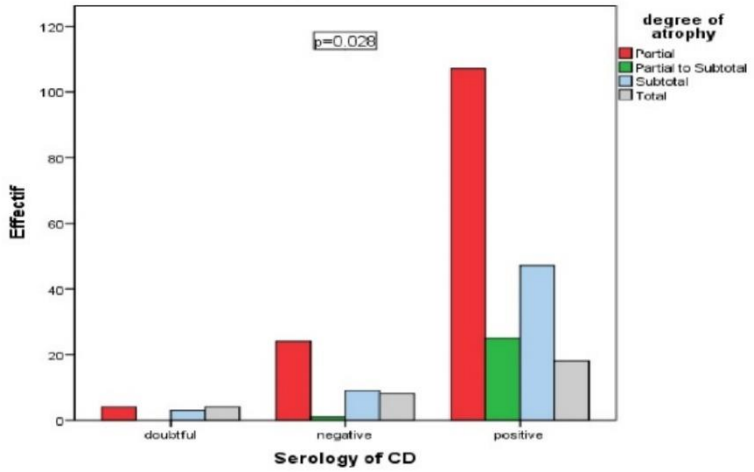


Figure 1: Distribution of patients according to significance between serology and histology

DISCUSSION

At the end of our study, celiac disease was characterized by a clear predominance of the female sex with a sex ratio of 1.57. This predominance was also underlined by other studies [14]. Celiac disease can be diagnosed at any age but presents as an atypical form in adolescents and adults [10]. In our study, the mean age of onset of the disease was 3.44 ± 3.34 years which agrees with the results of [15] in eastern Algeria. Nevertheless, the diagnosis of the disease is essentially based on a recombination of histological, serological, clinical criteria and the response to the gluten-free diet [12, 16]; this was well indicated and confirmed by our results. The literature suggests that the symptomatology of the disease appears in children when gluten is introduced and more precisely at the age of onset of dietary diversification as well as when breastfeeding is stopped [15, 17] which is consistent with our results. Thus, breastfeeding plays a protective role against this pathology.

The clinical presentation showed the predominance of the classic (typical) form, at 73.2%, while the atypical form was noted at 26.8%, characterized by gastrointestinal or extra-intestinal manifestations, respectively. This result is consistent with the data noted in the studies of A. S. McNeish *et al* [16] and J. F. Ludvigsson *et al* [18]. Chronic diarrhea (64.8%) and abdominal pain (52.4%) and vomiting (37.6%) were the most frequent disorders in our sample, which is in agreement with a study conducted in Sudan which noted chronic diarrhea as the main characteristic of the disease in children [19]. However and in a comparable way in the region of eastern Algeria, children presented abdominal pain as the main symptom [15]. The disease is defined by a diversity of symptoms, mainly digestive disorders, these data are also confirmed by our results [15, 20]. In addition, and in association with digestive disorders, we particularly observed the symptoms of weight loss at 38.8%, anemia at 36.8%, failure to thrive at 36% and mucocutaneous paleness at 25.6%.

Which confirms that celiac disease can manifest itself from intestinal or extra intestinal manifestations [11] in children and Adolescents.

Celiac disease promotes the development of many pathologies, the most common in our series was anemia at 73.6%. These data are similar to those of [21, 22]. Therefore, our results underline that anemia is a complication of celiac disease, which can be either related to nutritional status (weight loss) or to hematological disorders [23]. CD was associated with more than one autoimmune disease defining multiple autoimmune syndrome, its association with autoimmune diseases is highlighted primarily with type I diabetes and thyroiditis as reported in the literature [1, 24].

This study confirms that the histological examination is the main test and is done by a duodenojejunal biopsy. Partial grade villous atrophy and Marsh classification 3 was noted in most of our patients, confirming the results of the study by [25]. Likewise, serological tests are considered to be the most reliable for detection of the disease and even are recommended in screening [26]. Indeed, the positivity of the serology is essential for the diagnosis to be acquired. In our work, this positivity was found in 77.6% of patients. We noticed a significant link between the histological grade and the serology (p = 0.001), which is consistent with the findings of the study conducted in eastern Algeria [15]. Similarly, an excellent correlation between anti-transglutaminase and anti-endomysium autoantibodies has been revealed, which confirms their specificity and sensitivity, thus joining the results of P. Roujon *et al* [27].

The treatment of the disease is based on diet, in our study all the patients were advised to follow a gluten-free diet. According to the literature, the gluten-free diet remains the only effective treatment for the disease but remains difficult to maintain [26, 28]. Compliance with the gluten-free diet was assessed by self-report of patients with reported deviations from the diet and by the presence of clinical signs.

CONCLUSION:

According to our results, the clinical presentation of celiac disease in Algerian children (west Algeria) is also defined by typical and atypical forms with intestinal or extra intestinal symptoms respectively and the gluten exclusion diet remains the major element for the success of the dietary management. A prospective study should be carried out at the long term in different regions of our country to validate and compare the different characteristics of celiac disease in children, as well as to study the factors predisposing the Algerian population to this pathology.

REFERENCES:

1. Lundin KEA et C. Wijmenga. Coeliac disease and autoimmune disease-genetic overlap and screening. *Nat RevGastroenterolHepatol*, 2015; 12(9):507-515.
2. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR, et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease , *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr*, 2012; 54(1):136-160.
3. M. F. Kagnoff. Celiac disease:pathogenesis of a model immunogenetic disease . *J. Clin. Invest*, 2007; 117(1):41-49.
4. Green FHR et C. Cellier. Celiac disease . *N. Engl. J. Med.* 2007; 357(17):1731-1743.
5. Mäki M, Mustalahti K, Kokkonen J, et al. Prevalence of Celiac disease among children in Finland. *N Engl J Med*. 2003; 348(25):2517-2524.
6. Myléus A, Ivarsson A, Webb C, et al. Celiac disease revealed in 3% of Swedish 12-year-olds born during an epidemic. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2009;49(2):170-176.
7. Catassi C *et al.* Coeliac disease in the year2000:exploring the iceberg. *Lancet*, 1994; 343:200-203.
8. Korponay-Szabó IR, Szabados K, Pusztai J, et al. Population screening for coeliac disease in primary care by district nurses using a rapid antibody test: diagnostic accuracy and feasibility study. *BMJ*. 2007; 335 (7632):1244-1247.
9. Catassi C *et al.* Why is coeliac disease endemic in the people of the Sahara? . *Lancet*, 1999; 354(9179):647-648.
10. Fasano A et C. Catassi. Coeliac disease in children . *Best PractRes Clin Gastroenterol*, 2005; 19(3):467-478.
11. Saeed A, Assiri AM, et H. A. Cheema. Celiac Disease in Children ,2019 ; 2(1):6.
12. Verkarre V, et N. Brousse. Le diagnostic histologique de la maladie cœliaque . *Pathologie Biologie*, 2013; 61(2):e13-e19.
13. S. J. Gluten-free diet for children. *Pathologie-biologie*, 2013.
14. Kivelä L, Kaukinen K, Lähdeaho ML, et al. Presentation of Celiac Disease in Finnish Children Is No Longer Changing: A 50-Year Perspective. *J Pediatr*. 2015; 167(5):1109-15.e1.
15. Abed N, N. el houdaCherouat, H. Mohammedi, A. Rouabah, et L. Rouabah. Characteristics of Celiac Disease in Childhood of Eastern Algeria. *Advanced Research in Life Sciences*, 2019; 3(1):5-10.
16. McNeish AS, Harms HK, Rey J, Shmerling DH, Visakorpi JK, Walker-Smith JA. The diagnosis of coeliac disease. A commentary on the current practices of members of the European Society for Paediatric Gastroenterology and Nutrition (ESPGAN). *Arch Dis Child*. 1979; 54(10):783-786.
17. H. Garnier-Lengliné, G. Malamut, N. Cerf-Bensussan, et F. M. Ruemmele. Treatment perspectives. *Pathol. Biol*, 2013; 61(3): e61-64.
18. Ludvigsson JF *et al.* The Oslo definitions for coeliac disease and relatedterms . *Gut*, 2013; 62(1):43-52.
19. A. K. Ahmed, R. M. A. Elhafiz, A. S. Almubarak, et M. A. Ali. Frequency Rate of Celiac Disease in Sudanese Patients presenting with Chronic Diarrhea . *African Journal of Medical Sciences*, 2018; 3(4).
20. Hill ID, Dirks MH, Liptak GS, et al. Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005; 40(1):1-19.
21. F. Boukezoula, S. Smaali, et M. Zidoune. Prevalence of Anemia in a Population with Celiac Disease in Tébessa (Algeria), 2018; 5.
22. A. Albrady. Clinical Profile of Celiac Disease: Patient Epidemiological Prospective . *Annals of Medical and Health Sciences Research*, 2018; 8(1):5.
23. J. Cosnes et I. Nion-Larmurier. Les complications de la maladie cœliaque .*Pathologie Biologie*, 2013; 61(2):e21-e26.
24. Lauret E et L. Rodrigo. Celiac Disease and Autoimmune-Associated Conditions .*BiomedRes Int*, 2013; 2013.
25. Castro-Antunes MM, Magalhães R, Nobre JMM, Silva BP, et G. A. P. Silva. Celiac disease in first-degree relatives of patients . *J Pediatr (Rio J)*, 2010; 86(4):331-336.
26. AGA Institute. AGA Institute Medical Position Statement on the Diagnosis and Management of Celiac Disease. *Gastroenterology*, 2006; 131(6):1977-1980.
27. Roujon*et P al.* Diagnostic sérologique de la maladie cœliaque .*Pathologie Biologie*, 2013; 61(3):e39-e46.
28. Farrell RJ, et C. P. Kelly. Celiac sprue . *N. Engl. J. Med*, 2002; 346(3):80-188.

V.1.2 Présentation de l'article 2

Original Research

The evolutionary profile of celiac disease via the compliance to the gluten-free diet in the western Algerian region

Douniazad El Mehadji[1], Zouaoui Nadji[2], Khalida Zemri[1], Khedoudja Kanoun[1], Noria Harir[1]*, Djamila Yekrou[3], Karim Bouziane Nedjadi[4], Charef Latroch[4], Siheme Ouali[1], Zahira Benaissa[1], Walid Hassene Hamri[1]

Contexte

La maladie cœliaque est une affection chronique, entéropathie, dans laquelle une immuno-réaction au gluten chez des sujets génétiquement susceptibles. La prise en charge thérapeutique de la maladie cœliaque est basée sur la diététique, et le régime d'exclusion du gluten, reste le seul traitement efficace.

Dans le but d'évaluer la conformité au régime sans gluten (RSG) chez les patients Algériens atteints de la maladie cœliaque (MC) et d'étudier l'impact du régime sans gluten à long terme sur les paramètres anthropométriques, sérologiques et histologiques de ces patients ; nous avons mené une étude rétrospective, portant sur 111 cas de maladie cœliaque, diagnostiqués à l'âge pédiatrique et suivis au niveau, du service de pédiatrie C clinique A, Cabral du centre hospitalier universitaire (CHU) d'Oran durant une période de trois ans (2016-2019).

Mots clés : Maladie cœliaque, Régime sans gluten, compliance, IgA et IgG anti transglutaminase.

V.1.2.1 Résumé des résultats

- Une légère prédominance féminine avec un sexe ratio de 1.05.
- 84.7% des patients cœliaques présentaient une symptomatologie clinique de forme typique (classique) et (15.3%) de forme atypique.
- Les patients cœliaques ont été classés en deux groupes en fonction de leurs compliances au RSG : groupe A, non conforme (39.6 %), et groupe B, conforme (60.4 %).

- Un seuil de signification de P=0.008 entre l'âge actuel et les deux groupes d'adhérence au régime a été noté.

- Une excellente différence significative de l'IMC après 2 ans de régime($P<10^{-3}$).

- Une excellente différence significative (P=0.001) entre les tests sérologiques sous RSG.

- Une excellente différence significative ($P<10^{-3}$) entre les deux groupes et l'histologie.

- Une réduction substantielle et significative des anticorps d'isotype IgA et IgG anti-tTG (anti-transglutaminase) (P=0.001) dans le groupe B.

https://doi.org/10.46389/rjd-2022-1076
www.rjdnmd.org

Rom J Diabetes Nutr Metab Dis
2022; volume 29, issue 1, pages 67–73

Original Research

The evolutionary profile of celiac disease via the compliance to the gluten-free diet in the western Algerian region

Douniazad El Mehadji[1], Zouaoui Nadji[2], Khalida Zemri[1], Khedoudja Kanoun[1], Noria Harir[1,*], Djamila Yekrou[3], Karim Bouziane Nedjadi[4], Charef Latroch[4], Siheme Ouali[1], Zahira Benaissa[1], Walid Hassene Hamri[1]

[1] Department of Biology, Laboratory of Molecular Microbiology, Proteomics and Health DjillaliLiabes University of Sidibel Abbes, (EX ITMA), Algeria
[2] Department of Internal Medicine, CHU Sidi BelAbbes, Algeria
[3] Department of Medical Oncology Anti-Cancer Centre of Sidi Bel Abbes, Algeria
[4] Department of Pediatrics « C »(A.Cabral), CHU of Oran, Algeria

*Correspondence to: Harir Noria, Department of Biology, Laboratory of Molecular Microbiology, Proteomics and Health Djillali Liabes University of Sidibel Abbes, (EX ITMA), Algeria 22000, Phone: +2130559523820, E-mail Id: harirnoria16@gmail.com, harirnouria@yahoo.fr

Received: 2 August 2021 / Accepted: 16 September 2021

Abstract

Background and aims: To assess the compliance to the gluten-free diet (GFD) of Algerian patients with celiac disease (CD) and to study the impact of long-term GFD on anthropometric, serological, and histological parameters of these patients. **Material and method:** We conducted a retrospective study on 111 cases of CD patients followed up, from pediatric age until now, at the pediatrics department of the ORAN University Hospital Centre for many years. Two groups were made according to their adherence to the gluten-free diet. **Results:** The clinical presentation of the disease was typical (84.7%) and atypical (15.3%). Two groups were selected group A and B for non-compliant diets (39.6%) and compliant diets (60.4%), respectively. There was a significant difference between the current age and the two groups of adherence ($p=0.008$) and with body mass index (BMI) ($p<10^{-3}$). However, we noticed an excellent significant difference between a serology under diet and two groups ($p=0.001$) also with the grade of histology ($p<10^{-3}$). Moreover, a significant reduction of IgA and IgG anti-t-TG in group B ($p=0.001$). **Conclusions:** CD in Algeria is still characterized by heterogeneous clinical symptoms and good compliance to the GFD is a sign of the path to recovery.

Keywords: celiac disease, gluten free diet, compliance, IgA and IgG anti transglutaminase.

Background and aims

Celiac disease (CD) is a chronic disorder, autoimmune enteropathy, with an immunoreaction to gluten in genetically susceptible subjects [1]. It poses a major public health problem, and the prevalence has been approximately underestimated (1–3%) in children [2, 3]. However, the prevalence is exceptional among Sahrawi children in Algeria, it is 56/1000 [4]. The incidence of the disease has therefore increased significantly over the last few decades [5, 6].

The presentation of the disease is heterogeneous with symptomatic, asymptomatic, and latent forms. The symptomatology of the disease of classic form is the most typical and are defined by the gastrointestinal manifestations (GT), but also, can have extra-intestinal manifestations [5, 7, 8]. The current diagnostic strategy for celiac disease is based on clinical suspicion and confirmed by serological, histological tests [9], although the screening and diagnosis of CD are relatively well-established [10].

© 2022 The Authors. Romanian Journal of Diabetes, Nutrition and Metabolic Diseases published by Sanatatea Press Group on behalf of the Romanian Society of Diabetes Nutrition and Metabolic Diseases. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC-BY-NC-ND 3.0).

The therapeutic management of CD is based on dietetics, and the gluten exclusion diet remains the only effective treatment. For this reason, strict and permanent adherence to the diet is a sign of the path to recovery by reducing complications and improving the state of health [11]. The limitations of the gluten-free diet (GFD) compliance may affect the quality of life (QoL) of children [12], that's why the diet remains difficult to maintain in the long term in certain social situations. Knowing factors that affect compliance, would help to improve patients' ability to maintain a strict GFD [13]. Through this study, we aimed to evaluate the compliance to the gluten-free diet (GFD) of Algerian patients with celiac disease (CD) and to study the impact of long-term GFD on anthropometric, serological, and histological parameters of those patients.

Material and method

Study design and patients

We conducted a cross-sectional, observational study of 111 cases of CD diagnosed at pediatric age and followed-up until now at the level of pediatric ward C, clinic A, Cabral of the ORAN University Hospital Center in north–western Algeria. Two groups were made according to their adherence to the GFD: Group A (Non-compliant) and group B (Compliant). Data were collected from the files of CD patients and included the following inclusion criteria: Subjects with celiac disease with the presence of serological and histological evidence diagnosed at pediatric age and who have benefited from care and follow-up in the pediatrics department from the time of diagnosis to the present day. The confidentiality of data was respected. All celiac cases without histological and serological evidence and loss of follow-up have been excluded.

Statistical analysis

The processing and analysis of the statistical data in our sample were carried out via SPSS 22.0 (Statistical Package for the Social Sciences, IBM Corporation; Chicago, IL. August 2013) and was presented in rates and cross-tabulations as well as box plots. Results were expressed as frequencies, means, and standard deviation. The reference values for the comparison between the two groups were made using the 95% confidence interval.

We used the Chi-square test to compare the adherence to the GFD of groups A and B. Correlation between the adherence to the GFD of both groups and the serological, histological, and anthropometric parameters (age, body mass index and hemoglobin) as well as the sensitivity of the autoantibodies were made using the Student t-test. The criterion of statistical significance was $p<0.05$.

Results

In our series, there was a frequency of (51.4%) females and (48.6%) males with a sex ratio of 1.05 (F/M). The average age was at 22.06±4.650 and the most affected age group was [20–29] years with a rate of (57.7%). The average age at diagnosis was 5.86±4.538 years (Table 1).

The mean body mass index in our sample was at 15.17±3.433 kg/m^2 and 80.2% of patients were malnourished [<16.5]. The comorbidity of celiac disease mainly noted in our patients was dysthyroidism at 13.5% and anemia at 10.8%. The symptomatology of the disease was defined by a classic and typical clinical presentation in 84.7% of celiac patients; mainly associated with digestive disorders such as chronic diarrhea (72.1%), abdominal bloating (40.5%), abdominal pain (37.8%), and vomiting (36.9%). Atypical clinical presentation characterized by extra digestive manifestations only occurred in 15.3% of cases, with weight loss (45.9%), failure to thrive (53.2%), and anemia in 32.4% of celiac patients (Table 1).

The gluten-free diet (GFD) has been prescribed to all patients. Thus, CD patients were classified into two groups according to their adherence to the GFD: group A, non-compliant (44 patients, 39.6%), and group B, compliant (67 patients, 60.4%).

No significant differences were found between the age at diagnosis and the age at onset of the disease, as well as between the body mass

https://doi.org/10.46389/rjd-2022-1076
© 2022 The Authors

Table 1: Characteristics of 111 patients with celiac disease enrolled in the study.

Characteristics of the population	Number (%)
Gender	
Female	57 (51.4%)
Male	54 (48.6%)
Age range	
(16–19)	39 (35.1%)
(20–29)	64 (57.7%)
(30–39)	08 (7.2%)
BMI slice	
(<16.5)	89 (80.2%)
(16.5–18.5)	14 (12.6%)
(18.5–25)	05 (4.5%)
(25–30)	01 (0.9%)
(30–35)	02 (1.8%)
Family history of celiac disease	19 (17.1%)
Symptomatology	
Typical	94 (84.7%)
Digestive disorders	
Chronic diarrhea	80 (72.1%)
Abdominal Bloating	45 (40.5%)
Abdominal pain	42 (37.8 %)
Vomiting	41 (36.9%)
Atypical	
Extra-digestive events	17 (15.3%)
Weight loss	51 (45.9 %)
Failure to thrive	59 (53.2%)
Anemia	36 (32.4%)
Comorbidity	
Anemia	12 (10.8%)
Asthma	06 (5.4%)
Type 1 diabetes	06 (5.4%)
Dysthyroidism	15 (13.5%)
Helicobacter pylori gastritis	03 (2.7%)
Osteopenia	07 (6.3%)

Values are given as number (%). BMI: body mass index.

index (BMI) value at the time of diagnosis and after 2 years on the diet. Likewise, there were no significant differences in terms of hemoglobin levels at the time of diagnosis in both groups (p=0.06).

On the other hand, there was evidence for a significance between the current age and the two adherence groups, with a mean of (21.52±3.81 years vs. 22.89±5.64 years, p=0.008). Compliancy to GFD also induced a substantial and significant improvement in the health status of the patients by the increase of BMI after 2 years of diet (16.51±4.05 (kg/m^2) and also at the last consultation (21.01±3.28 kg/m^2 (B) vs. 18.63±3.22 kg/m^2 (A)) $p<10^{-3}$. The hemoglobin value in all patients at diagnosis was estimated at a mean of (6.01±4.39 g/dl). However, an excellent improvement in hemoglobin levels was noted in the compliant group (11.88±0.76 g/dl (B) vs. 11.55±1.13 g/dl (A), $p<10^{-3}$) (Table 2). Two serological test results were used (serology at diagnosis and regimen serology). No significant difference was noted on serological data at the time of the diagnostic p=0.13. However, the serological test under diet was positive in 43.18% of cases for non-compliant group (A) and in only 14.93% for the compliant group (B) with an excellent significant difference p=0.001.

According to the degree of severity of the lesion of the intestinal mucous membrane, the histological examination after diet, showed that 61.26% of all patients were at grade 3 or: ((27.27% (A) vs. 83.58% (B)), grade 4 was noted in (23.42%): (43.18% (A) vs. 10.45% (B)); and grade 5 in 15.31% of all patients: (29.55% vs. 5.97%) for the patients belong to groups A and B, respectively with an excellent significant difference $p<10^{-3}$.

Table 3 shows the adherence of the gluten-free diet via serological tests and the severity of intestinal mucosal lesion.

The determination of autoantibodies was done by the Elisa method from the patient's serum, the results (≥20 U/ml) were considered positive. We found a substantial and significant reduction in IgA and IgG anti-tTG isotype antibodies (anti-transglutaminase) (p=0.001) in the compliant group compared to the noncompliant group with a reduction of 09 U/ml for group (B) and 10 U/ml for group (A) (Figures 1 A and B).

Discussion

CD in our study was characterized by a predominance of the female sex with a sex ratio

© 2022 The Authors

Table 2: Features of patients' compliance with the gluten-free diet: comparison based on anthropometric parameters.

Characteristics	All patients n=111 (CI 95%)	Non-compliant[a] n= 44 (CI 95%)	Compliant[b] n= 67 (CI 95%)	p-Value*
Age (years)				
Age at diagnostic	5.86±4.53 (5.01–6.71)	6.01±4.39 (4.68–7.35)	5.76±4.66 (4.62–6.90)	0.42
Age of onset of symptomatology	3.09±3.48 (2.43–3.74)	3.36±3.85 (2.19–4.53)	2.90±3.24 (2.11–3.69)	0.22
Current age	22.06±4.65 (21.19–22.94)	22.89±5.64 (21.17–24.60)	21.52 ±3.81 (20.59–22.45)	0.008*
BMI (Kg/m²)				
During the diagnosis	15.17±3.43 (14.52–15.81)	15.27±4.23 (13.98–16.56)	15.10±2.81 (14.41–15.79)	0.434
After 2 years of the GFD	16.39±3.76 (15.68–17.10)	16.20±3.31 (15.19–17.20)	16.51±4.05 (15.52–17.50)	0.99
Current+	20.06±3.44 (19.42–20.71)	18.63±3.22 (17.65–19.61)	21.01±3.28 (20.20–21.81)	$< 10^{-3*}$
HB (g/dl)				
During the diagnosis	6.01±4.39 (–1.503–2.003)	11.32±1.45 (10.88–11.76)	10.42±1.81 (9.97–10.86)	0.06
After gluten free diet	6.01±4.39 (–1.503–2.003)	11.55±1.13 (11.20–11.89)	11.88±0.76 (11.69–12.07)	$< 10^{-3*}$

Values presented as mean ± standard deviation. BMI: body mass index, HB: hemoglobin, CI: confidence interval. [a]Patients sometimes ate gluten-containing food;[b]Patients were not aware of taking any food containing gluten; *Significant p-value at ($p<0.05$).

Table 3: Serological characteristics and histological parameters assessed at diagnosis and on a diet by patients' compliance with the gluten-free diet.

Characteristics	All patients n=111	Non-compliant[a] n=44	Compliant [b] n=67	p-Value*
Serology during diagnosis, n (%)				
Positive	97 (87.40%)	41 (93.20%)	56 (83.60%)	0.13
IgA-atTG assay (U/ml)				
Positive	42 (37.84%)	15 (34.09%)	27 (40.30%)	0.52
IgG-atTG assay (U/ml)				
Positive	18 (16.22%)	05 (11.36%)	13 (19.40%)	0.68
IgA-AGA assay (U/ml)				
Positive	61(54.95%)	24 (54.55%)	37 (55.22%)	0.23
IgA-EmA assay (U/ml)				
Positive	17 (15.32%)	07 (15.91%)	10 (14.93%)	0.26
Serology on a gluten-free diet, n (%)				
Positive	29 (26.13%)	19 (43.18%)	10 (14.93%)	0.001*
Histology (Marsh classification), n (%)				
Marsh 3	68 (61.26%)	12 (27.27%)	56 (83.58%)	$<10^{-3*}$
Marsh 4	26 (23.42%)	19 (43.18 %)	7 (10.45%)	
Marsh 5	17 (15.31%)	13 (29.55%)	4 (5.97%)	

Values are given as number (%). tTG IgA and IgG: IgA and IgG type anti-transglutaminase antibodies; IgA AGA: IgA type antigliadin antibodies; EmA-IgA: IgA type endomysial antibodies; *Significant p value at ($p<0.05$).

https://doi.org/10.46389/rjd-2022-1076
© 2022 The Authors

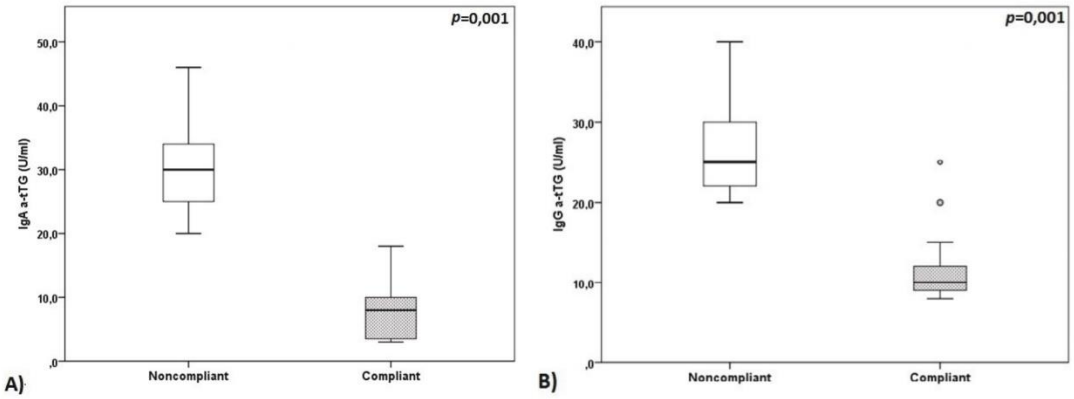


Figure 1: Anti-transglutaminase assay (IgA, IgG) under diet in both groups.

of 1.05. This predominance was also suggested by other studies [14]. In our study, the mean age of onset of the disease was at 3.09±3.48 years and the mean age of diagnostic was at 05.86±4.538 years which agrees with the results of some Algerian studies [15, 16].

The diagnosis of CD is the result of a multi-disciplinary investigation taking into account the clinical data and the severity of the lesions of the intestinal mucosa, the serology as well as the initiation of the GFD [9] which was confirmed by our study.

The classic symptomatology of CD associating chronic diarrhea, abdominal bloating, abdominal pain, and vomiting occurred in (72.1%), (40.5%), (37.8%) and (36.9%) of celiac patients; respectively, it was a typical clinical presentation (84.7%). Our results were similar to several studies [15, 17] from which they suggested that chronic diarrhea is the main symptom characterized by CD in children. Also, atypical symptoms (15.3%) can correspond to extra digestive manifestations such as weight loss (45.9%), failure to thrive (53.2%), and anemia (32.4%). Our results with literature data [8, 15] confirm that celiac disease manifests itself via digestive and/or extra-digestive manifestations in children and adolescents.

The comorbidity of CD has been revealed in our patients with anemia as the main complication associated with CD in relation to the nutritional status and hematological diseases, this was confirmed by [18] findings. Nevertheless, the association of CD with autoimmune diseases has been described in our results, mainly dysthyroidism [19] and type 1 diabetes as reported in the literature [20, 21].

In our series, dietary compliance was evaluated in two groups: non-compliant with the GFD (39.6%) and compliant (60.4%). Our results were confirmed by several studies, which reported that the rate of compliance with a GFD varies between 45% and 90% in CD patients of different ethnicities [22].

This compliance was reported via anthropometric parameters (table 2): a significant correlation between the two groups and the current age (22.89±5.64.vs21.52 ±3.81, p=0.008), this confirms that GFD compliance can be influenced by age at diagnosis [22]. This compliance to GFD induces a substantial and significant improvement in the health status of the patients by the increase of BMI after 2 years of diet (16.51±4.05 kg/m^2) and also the current BMI (21.01±3.28 kg/m^2) ($p<10^{-3}$); and hemoglobin level (11.88±0.76 g/dl) ($p<10^{-3}$) in patients who completed the diet well. Our results are consistent with those of [23] but this compliance remains difficult to maintain in the long term if we take into consideration the quality of life of the patients [24].

Similarly, serological tests related to celiac disease are commonly used as markers for the detection of the disease and are even recommended for screening [25]. Indeed, the serological tests mainly (IgA and IgG a-tTG, IgA EmA, IgA AGA) have an excellent predictive value to confirm the diagnosis [24, 26].

© 2022 The Authors

This study confirms that the intestinal biopsy is still considered as the reference test for the diagnosis, a predominance of grade 3 villous atrophy according to the Marsh classification was observed in (61.26%) of our patients, confirming the results of [27] showing that 43.18% of the CD patients not compliant the diet having villous atrophy of grade 4. Excellent significance level ($p<10^{-3}$) between the grade of the atrophy and the two groups of compliance of diet was observed. Our results suggest that histological recovery depends on good compliance with the GFD [28].

The treatment by a gluten-free diet has led to significant qualitative and quantitative changes in the antibodies linked to the disease [22]. These antibodies are the anti-transglutaminase isotype IgA and IgG because of their specificity and sensitivity [22]. Our results confirm a significant reduction (p=0.001) in the rate of anti-transglutaminase isotype IgA and IgG autoantibodies positivity in group B.

Conclusions

This study confirmed that CD in Algeria is still characterized by a typical clinical presentation and that changes and/or reduction of antibody levels are influenced by the degree of adherence to the diet by patients despite the fact that this diet is difficult to maintain in the long term in some social situations. In a long-term perspective study in different regions of our country, it is necessary to know more about the objective measures to evaluate the adherence to the diet in order to maintain a better response to the treatment.

Acknowledgements

We would like to thank all the persons and establishments who participate to realize this work.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

1. Guandalini, S., Assiri, A. (2014). Celiac disease: a review. *J Am Med Assoc Pediatr*. 68(3):272–278.
2. Mäki, M., Mustalahti, K., Kokkonen, J., et al. (2003). Prevalence of celiac disease among children in Finland. *N Engl J Med*. 348(25):2517–2524.
3. Myléus, A., Ivarsson, A., Webb, C., et al. (2009). Celiac disease revealed in 3% of Swedish 12-year-olds born during an epidemic. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 49(2):170–176.
4. Catassi, C., Rätsch, I. M., Gandolfi, L., et al. (1999). Why is coeliac disease endemic in the people of the Sahara? *Lancet*. 354(9179):647–648.
5. White, L. E., Merrick, V. M., Bannerman, E., et al. (2013). The rising incidence of celiac disease in Scotland. *Pediatrics*. 132(4):e924–e931.
6. Catassi, C., Gatti, S., Fasano, A. (2014). The new epidemiology of celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 59 (Suppl 1):S7–S9.
7. Roma, E., Panayiotou, J., Karantana, H., et al. (2009). Changing pattern in the clinical presentation of pediatric celiac disease: a 30-year study. *Digestion*. 80(3):185–191.
8. Saeed, A., Assiri, A., Cheema, H. (2019). Celiac disease in children. *J Nat Sci Med*. 2(1):23.
9. Verkarre, V., Brousse, N. (2013). Le diagnostic histologique de la maladie cœliaque. *Pathologie Biologie*. 61(2):e13–e19.
10. Fasano, A., Catassi, C. (2001). Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. *Gastroenterology*. 120(3):636–651.
11. Romero, C. C. (2013). « Mesa Redonda: Novedades en enfermedad celíaca ». *Bol Pediatr*. 53:59–61.
12. Hallert, C., Grännö, C., Hultén, S., et al. (2002). Living with coeliac disease: controlled study of the burden of illness. *Scand J Gastroenterol*. 37(1):39–42.
13. Taghdir, M., Honar, N., Mazloomi, S. M., Sepandi, M., Ashourpour, M., Salehi, M. (2016). Dietary compliance in Iranian children and adolescents with celiac disease. *JMDH* 9:365–370.
14. Kivelä, L., Kaukinen, K., Lähdeaho, M. L., et al. (2015). Presentation of celiac disease in Finnish children is no longer changing: A 50-year perspective. *J Pediatr*. 167(5):1109–1115.e1.
15. El Mehadji, D. zad, Zemri, K., Mehida, H., et al. (2020). Epidemiological, clinical, histological, serological and therapeutic study of children celiac disease in western Algeria region. *J Drug Delivery Ther*. 10(5):6–10.
16. Abed, N., Cherouat, N. el houda, Mohammedi, H., Rouabah, A., Rouabah, L. Characteristics of celiac disease in childhood of eastern Algeria. *Adv. Res. Life Sci*. 3(1):5–10.
17. Alaa, K. A., Reham M. Abd Elhafiz, Amna, S. A., Musa, A. A. (2018). Frequency rate of celiac disease in Sudanese patients presenting with chronic diarrhea. *Afr J Med Sci*. 3(8).
18. Cosnes, J., Nion-Larmurier, I. (2013). Les complications de la maladie cœliaque. *Pathologie Biologie*. 61(2):e21–e26.
19. Houng, R. S., Khaleghi, S., Cartee, A. K., et al. (2020). Community-based study of celiac disease autoimmunity progression in adults. *Gastroenterology*. 158(1):151–159.e3.
20. Lundin, K. E., Wijmenga, C. (2015). (2015). Coeliac disease and autoimmune disease-genetic overlap and screening. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 12(9):507–555.
21. Lauret, E., Rodrigo, L. (2013). Celiac disease and autoimmune-associated conditions. *Bio Med Res Int*. 1–17.

 https://doi.org/10.46389/rjd-2022-1076 © 2022 The Authors

22. Muhammad, H., Reeves, S., Jeanes, Y. M. (2019). Identifying and improving adherence to the gluten-free diet in people with coeliac disease. *Proc Nutr Soc*. 78(3):418–425.
23. Sugai, E., Nachman, F., Váquez, H., et al. (2014). Dynamics of celiac disease-specific serology after initiation of a gluten-free diet and use in the assessment of compliance with treatment. *Diges Liver Dis*. 42(5):352–358.
24. Nachman, F., Mauriño, E., Vázquez, H., et al. (2009). Quality of life in celiac disease patients. *Diges Liver Dis*. 41(1):15–25.
25. AGA Institute. (2006). AGA Institute medical position statement on the diagnosis and management of celiac disease. *Gastroenterology*. 131(6):1977–1980.
26. Nachman, F., Sugai, E., Vázquez, H., et al. (2011). Serological tests for celiac disease as indicators of long-term compliance with the gluten-free diet. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 23(6):473–480.
27. Castro-Antunes, M. M., Magalhães, R., Nobre, J. M. M., Silva, B. P., Silva, G. A. P. (2010). Celiac disease in first-degree relatives of patients. *J Pediatr (Rio J)*. 86(4):331–336.
28. Galli, G., Esposito, G., Lahner, E., et al. (2014). Histological recovery and gluten-free diet adherence: a prospective 1-year follow-up study of adult patients with coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 40(6):639–647.

© 2022 The Authors

V.1.3 Présentation de l'article 3

Original Research

Comparative profile of celiac disease between children and adults in the western Algeria region

Douniazad EL MEHADJI[1]*, Noria HARIR[1], DjamilaYEKROU[2], Charef LATROCHE[3], Karim Nedjadi BOUZIANE[3], Siheme OUALI[1], Walid Hassene Hamri[1], Zahira BENAISSA[1], Feriel SELLAM[1]

Article accepté: le 30 Aout 2022 10:33:49 (Zahedan Journal of Research in Medical Sciences)

Contexte

La maladie cœliaque (MC) ou entéropathie sensible au gluten est une maladie systémique inflammatoire chronique d'origine auto-immune qui touche des personnes génétiquement prédisposées. Elle peut être diagnostiquée à tout âge, elle est observée chez les enfants et les adultes, et la plupart des gens considèrent que la maladie chez les enfants et les adultes est fondamentalement la même. La maladie cœliaque pédiatrique est caractérisée par des caractéristiques digestives prédominantes avec un syndrome de malabsorption typique associé à des troubles digestifs, tandis que chez l'adulte est présentée par des formes atypiques caractérisées par des symptômes extra-digestifs. Cette partie du travail visait à décrire les principales différences et similitudes de la maladie cœliaque en fonction de l'âge et à mettre en évidence les caractéristiques cliniques, le diagnostic, les associations de la maladie, les complications et la réponse au régime sans gluten chez les enfants et les adultes. Ainsi, 223 patients MC ont recrutés et trois groupes ont été sélectionnés selon l'âge : nourrissons [< 2] ans, enfants ou adolescents [≥2] ans et Adultes [≥17] ans.

V.1.3.1 Résumé des résultats

- L'étude comportait 223 patients cœliaques, il s'agissait de : 40 (17.9%) nourrissons d'une tranche d'âge inférieure à 2 ans, et 109 (48.9%) enfants d'une tranche d'âge ≥ 2 ans et 74 (33.2%) adultes d'une tranche d'âge ≥ 17 ans.

- Une claire prédominance féminine avec un sexe ratio de 1.62.

- Une moyenne d'âge de (15.17±15.76 ans) chez tous les patients avec une excellente différence significative ($P < 10^{-3}$).

- La moyenne d'âge lors du diagnostic et lors du début du régime sans gluten était de (10.79±10.72 ans), avec une excellente différence significative ($P < 10^{-3}$).

- La médiane de l'indice de masse corporelle était de (15.79±2.47 kg/m^2) chez tous les patients avec une excellente différence significative de $P< 10^{-3}$ entre les trois groupes confondus.

- 48.9 % des patients présentaient des troubles digestifs principalement les enfants (25.1%) avec (P= 0.004).

- La distension abdominale et l'épigastralgie ont été notées comme étant fréquentes chez les adultes soit à (25.7 %) (P=0.001)

- Les manifestations extra digestives, étaient les principales caractéristiques chez les adultes, avec des différences significatives (P=0.026), (P=0.008) et (P=0.004) respectivement chez les trois groupes confondus.

- Le retard de croissance était constaté chez les enfants avec une fréquence de (32.1 %), et une différence significative de (P= 0.016).

- Les maladies développées étaient de nature auto-immune avec une différence significative (P= 0.001) pour tous les groupes d'âge confondus.

- Une excellente différence significative avec la positivité du dosage IgG atTG ($P< 10^{-3}$) pour tous les groupes d'âge.

- Une bonne adhésion au régime sans gluten a (63.2%) chez tous les patients, et une différence significative (P=0.001) a été notée chez les trois groupes.

ID: 126906, Comparative profile of celiac disease between children and adults in the western Algeria Region

Journal: Zahedan Journal of Research in Medical Sciences *(In Press)*

Section: General Section

Manuscript Type: Research Article

Manuscript Full Title: Comparative profile of celiac disease between children and adults in the western Algeria region.

Douniazad EL MEHADJI[1]*, Noria HARIR[1], DjamilaYEKROU[2], Charef LATROCHE[3], Karim Nedjadi BOUZIANE[3], Siheme OUALI[1], Walid Hassene Hamri[1], Zahira BENAISSA[1], Feriel SELLAM[1] .

Abstract

Objectives: To describe the main differences and similarities of celiac disease according to age and to highlight the clinical features, diagnosis, associations of the disease, complications and response to the gluten-free diet in children and adults. Methods: We conducted a retrospective study of a series of patients (n=223) diagnosed with CD during infancy (< 2 years) and childhood [≥2] versus a series of adult patients (≥ 17 years).

Results:

a total of 223 patients were included, of which 40 infants, 109 children and 74 were adults. The age of diagnosis was delayed in adults with an average age of 21.07±12.49 years versus 03.37± 3.93 years and, 6.53 ±3.77 years in infants and children respectively (p< 10-3). The clinical manifestations in infants and children were defined as digestive disorders mainly chronic diarrhea (p=0,004), similarly in adults. In contrast, the extra digestive manifestations were predominant in the latter, and anemia was the most frequent manifestation (51.4%) (p=0.026) followed by weight loss (52.7%) versus 12(3%) in infants and 37 (33.9%) in pediatric patients (p=0.04). In adults, we found a higher frequency of associated autoimmune diseases: Thyroidism (8.1 versus 4.6% in children), Crhon's disease (5.4% versus 0.0% in children) and lupus (0.9% versus 0.0%) (p < 0.001). Serology was

strongly positive in all three age groups but with no significant difference between them (p=0.184); there were a significant difference with the anti-transglutaminases of IgG assay (p<10-3). The partial grade of villous atrophy was dominant in all three groups. The good adherence of the diet was more noticeable in children than in adults (p=0.001). Conclusion: Celiac disease presents differences between adults and children, the atypical clinical presentation being dominant in the former, children presents a positive serology and a good adherence to the diet.

Keywords: diet adherence, clinical symptoms, comparative profile, Celiac disease, Children, Adults.

1. Background

Celiac disease (CD) or gluten-sensitive enteropathy is a chronic inflammatory systemic disease of autoimmune origin in genetically predisposed individuals (1). Celiac disease affects approximately 1-2% of the general population of all races and countries with a homogeneous distribution throughout the world and it diminishes with age (2,3). It leads to an important morbidity, but a very low mortality (4).

Celiac disease can be diagnosed at any age (5) , it is seen in both children and adults, and most people consider the disease in children and adults to be basically the same disease (4,6).

Pediatric celiac disease is characterized by predominantly digestive characteristics with a typical malabsorption syndrome associated with digestive disorders (7) , while adult celiac disease is presented by atypical forms characterized by extra digestive symptoms (5,8)

The current diagnostic strategy for celiac disease is based on a clinical suspicion and confirmed by serological and histological tests. Although the screening and diagnosis of CD is relatively well established (9,10).

The treatment of celiac disease is essentially based on the gluten-free diet and remains the only effective treatment (11).

1. Objectives

Through this study we aimed to describe the main differences and similarities of celiac disease according to age and to highlight the clinical features, diagnosis, associations of the disease, complications and response to the gluten-free diet in infants, children and adults.

2. Materials and methods

We conducted a cross-sectional, observational study of 223 patients diagnosed with celiac disease within the pediatrics department of the ORAN University Hospital Centre (CHU), and Gastroenterology Department of Tlemcen University Hospital Centre (CHU) (Western Algeria). Patients were recruited as well at the level of the National association of Celiac Protection at Sidi Bel Abbes region. Three groups were selected according to age: infant < 2 years, children or teen [≥2] years and Adults ≥17 years. Our epidemiological survey was conducted over a period of 2 years (2019-2021), the recruitment of data was established from the records of celiac patients and according to the following inclusion criteria: subjects were histologically and/or serologically diagnosed with the disease with a full respect of the confidentiality of data and patients. All celiac cases that have been lost to follow-up have been excluded, these criteria were applied to both sexes and to all age categories.

3.1 Statistic data

The description, processing and analysis of the statistical data in our sample were carried out via SPSS 22.0 (Statistical Package for the Social Sciences, IBM Corporation; Chicago, IL. August 2013), and were presented in rates and cross-tabulations. Results were expressed as frequencies, means and standard deviation. We used the Pearson's Chi-squaretest (χ^2) to evaluate a clinical symptoms and diseases associated with celiac disease according to age group and the Anova test to evaluate an anthropometric parameter according to age group. The criterion of statistical significance was $p<0.05$. The reference values for the comparison between age groups were made using the 95% confidence interval.

3. Results

Among the 223 celiac patients enrolled in this study, 40 (17.9%) were infants in the age range [< 2] and 109 (48.9%) were children [≥2] years and 74 (33.2%) were adults [≥17] years. There were a clear predominance of sex female with a sex ratio of 1.62.

The average age was (15.17±15.76) years in all patients such as (1.68±0.38) in infants, (7.04±3.68) in children and (34.44±12.66) in adults; respectively, a significance difference was noted $p < 10^{-3}$. The average age at diagnosis and age of gluten free diet was (10.79±10.72 years) and (9.23±9.93 years) in all patients; respectively. An excellent significance was noted $p < 10^{-3}$.

The median body mass index in our sample was of (15.79±2.47 kg/m2). It was at (15.13±1.99 kg/m2) in children group, at (16.74±3.03 kg/m2) in adults group, and at (15.86±1.90 kg/m2) in infants group with a significance of p < 10-3 in all age groups. The average hemoglobin level at diagnosis in all patients was of (10.63±1.89g/dl), (10.66±1.89g/dl) in the children group, (10.66±2.00 g/dl) in adults group and (10.52±1.73 g/dl) in infants group with no significance between the three age groups (p=0.92) (Table1).

The symptomatological diversification assessment found that the clinical features of the disease were defined by digestive disorders 109 (48.9%) in all patients: 56 (25.1%) in children group, 29 (13.0%) in adults group and 24(10.8%) in infants group. The most common digestive disorder noted in children group [≥2] were chronic diarrhea, abdominal bloating, Abdominal pain and vomiting in 59 (54.1%) (p= 0.004), 35 (32.1%) ($p < 10^{-3}$), 64 (63.3%) (p= 0.026) and 39 (35.6%) (p=0.183) respectively. However, Vomiting was presented to be frequent in infants group [<2] with (52.5%). Whereas, the abdominal distension and epigastralgia were the most digestive disorder noted in adults group with a frequency of 19 (25.7%) (p=0.001), 03(4.1%) (p=0.442); respectively.

Weight loss (52.7 %), anemia (51.4%), asthenia (37.8%), were the main extra digestive characteristics in adults group, with statistically significant differences of (p= 0.026), (p=0.008) and (p=0.004) respectively. However, stunting was the most extra digestive disorder noted in children group with a frequency of (32.1 %) and a significant difference of p= 0.016. Whereas, in infants group, the anemia was the most frequent extra digestive disorder in (39%) (Table2).

The comorbidity of celiac disease in our patients was noted. Anemia (16.5%) in children group, while the thyroidism (8.1%) in adults group. Other auto immune diseases were also noted in adults group as Crhon's disease (5.4%), Lupus (0.9%) with a significant difference of p= 0.001. However, allergy was present in infants group with a rate of (22.5%) (Table3).

Serological tests result of all patients with positive disease serology were respectively at (90.0%) and (80.7%) in infants and, children versus (89.2%) in adults group. No significant difference was recorded with the serology (p= 0.184). We also determined differences in the frequency of IgG atTG assay positivity ($< 10^{-3*}$) for all age groups. But the IgA assay positivity was dominant in all groups age.

Histological examination (at the time of diagnosis) according to the degree of severity of the lesion of the intestinal mucous membrane revealed that: 45.3% were grade partial of villous atrophy. It was predominant in adults at(48.6%) vs (47.5%) and. (42.2%) in infant and children group respectively. The total grade was dominant in adults (18.9%). There were no significance between the three age groups (p=0.097) (Table 4).

The gluten free diet adherence with good adherence was noted at 63.2% in all patients: at 62.5% and 74.3% in infants and children respectively versus (47.3%) in adults. There were a significant difference (p=0.001).

4. Discussion

In our study, we analyzed the differences between pediatric and adult celiac disease, and our results found that pediatric and adult celiac disease are characterized by a female predominance in all age groups with a sex ratio of 1.62. This predominance was also suggested by other studies (12,13). In our series the average age of celiac patients was 15.17±15.76 years and the mean age at diagnosis of the disease was 10.79±10.72 years and in adults with a median of 21.07±12.49 years, this was confirmed by other studies (14) , as the disease can be diagnosed at any age. Thus the starting age for the gluten-free diet was 9.23±9.93 years in all patients so: in infant the age was 1.80±0.68 years, this suggests that the development of the disease is related to the cessation of breast-feeding and the early introduction of cereals containing gluten. This was confirmed by the studies of Poddar (2013) (6) .

The median body mass index in our sample was (15.79±2.47 kg/m^2), all patients were malnourished [<16.5], this was similar with other studies findings conducted on Indian children and have shown that growth retardation was a frequent manifestation of the disease (6) , in a comparable way with adults our results found an increase in the rate of BMI [>16.5] comparable with studies by Dickey et al (15) , who found that few celiac patients were underweight at diagnosis .

The clinical symptomatology of the disease was characterized by classic forms that are defined by digestive disorders which were predominant in children (69%) mainly chronic diarrhea (54.1%), abdominal pain (63.3%) and abdominal bloating (32.1%), with a significant difference of ($p= 0.004$), ($p=0.026$) and ($p < 10^{-3}$) respectively, which is consistent with studies of Rodrigo et al (16) who noted that chronic diarrhea was the main feature of the disease in children . On the other hand, adults also expressed chronic diarrhea as the main symptom of the disease. Our results were confirmed by Sood et al (2003) (17) that chronic diarrhea was present in adults , so in contradiction with other studies (18). Therefore, our results underline that extra digestive manifestations are quite common in adults with celiac disease such as: weight loss (52.7%), Anemia (51.4%) and Asthenia (37.8%) with a significant difference of ($p=0.004$), ($p=0.026$) and ($p=0.026$) respectively. Our results were suggested by several compliance studies (6), although in infants group, the weight loss was the principal extra digestive manifestations($p=0.004$), in children the stature weight delay was dominant ($p= 0.016$), these data are similar to those of Vivas S et al.(2015) (18).

We noticed in our study that there were many diseases associated with celiac disease in children and adults, however in adults group, Crhon's disease and thyroidism seem to be more frequent as noted in the results of Doya LJ et al (2021) and Baharvand P et al (2020) (19,20). Rodrigo et al (16) suggested that most associated diseases in adults are of autoimmune origin. Unlike in infants group where allergy was followed by anemia as the main associated diseases, the Vivas et al (18) study suggests that anemia is one of the associated diseases in infants and in children. Anemia, thyroidism and type 1 diabetes were

the main associated comorbidities confirmed by the results of El Mehadji et al(21). Also the literature has reported that celiac disease is associated with autoimmune diseases mainly type 1 diabetes and thyroidism (22,23) .

The serological tests were necessary for the diagnosis of the disease, although our results found that serology was positive in (85.2%) of celiac patients. Our results were similar to those of (21,24), let us recall that even in infants, children and adults(90.0%), (80.7%) and (89.2%) respectively, the tests mainly (IgA and IgG a-tTG, IgA EmA, IgA AGA) were significantly higher for children than for adults, which underline an excellent predictive value to confirm the diagnosis(25,26). The study of Roujou et al (24) showed that anti endomysium and tissue transglutaminase IgA antibodies represent the most specific and sensitive markers with the exception of IgA deficient patients, the search for IgG is recommended. Our results were concordant to other studies (27) concerning the use of anti-transglutaminase assays but we found a significant difference with anti-transglutaminases of IgG was observed ($p< 10^{-3*}$) .

The histological test defined by a duodenal biopsy remains an examination of reference to confirm the diagnosis of CD. That is why all our patients underwent a biopsy with the presence of a villous atrophy of partial grade (Marsh=3) which was dominant in all patients, moreover the total grade (Marsh≥3) was present in adults more than in children. These results were also reported by (21,27).

The response to the gluten-free diet is also necessary to confirm the diagnosis of celiac disease (26), so a good adherence to the gluten-free diet was higher in children than in adults with a significant difference of (p=0.001). Our results were consistent with (28) .

Poor adherence to the gluten-free diet and/or lack of clinical and histological response favors the development of refractory sprue as confirmed by Leffler et al and Abdulkarim et al(28,29) .

5.1 Conclusion

Celiac disease in the western Algeria region presents many differences between children and adults. In adults the presentation of the disease is marked during childhood, it is characterized by the presence of atypical forms as well as typical, and comorbidity was in forms of autoimmune diseases in adults. Adherence to the gluten-free diet has been well established in children than in adults.

References

1. Guandalini S, Assiri A. Celiac Disease: A Review. JAMA Pediatrics 2014;168(3):272-8.
2. Barada K. Celiac disease in Middle Eastern and North African countries: A new burden? WJG 2010;16(12):1449.
3. Cummins AG, Roberts-Thomson IC. Prevalence of celiac disease in the Asia-Pacific region. Journal of Gastroenterology and Hepatology 2009;24(8):1347-51.
4. Hallert C, Gotthard R, Jansson G, Norrby K, Walan A. Similar prevalence of coeliac disease in children and middle-aged adults in a district of Sweden. Gut 1983;24(5):389-91.
5. A Fasano, C Catassi. Coeliac disease in children. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2005; 19(3):467-478.
6. Poddar U. Pediatric and adult celiac disease: similarities and differences. Indian J Gastroenterol 2013;32(5):283-8.

7. Savilahti E, Kolho K-L, Westerholm-Ormio M, Verkasalo M. Clinics of coeliac disease in children in the 2000s: Clinics of coeliac disease in children. Acta Paediatrica 2010; 99(7):1026-30.

8. Thomson ABR. Small intestinal disorders in the elderly. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology 2009;23(6):861-74.

9. Verkarre V, Brousse N. Le diagnostic histologique de la maladie cœliaque. Pathologie Biologie 2013;61(2):e13-9.

10. McNeish AS, Harms HK, Rey J, Shmerling DH, Visakorpi JK, Walker-Smith JA. The diagnosis of coeliac disease. A commentary on the current practices of members of the European Society for Paediatric Gastroenterology and Nutrition (ESPGAN). Archives of Disease in Childhood 1979;54(10):783-6.

11. AGA Institute. AGA Institute Medical Position Statement on the Diagnosis and Management of Celiac Disease. Gastroenterology 2006;131(6):1977-80.

12. Kivelä L, Kaukinen K, Lähdeaho M-L, Huhtala H, Ashorn M, Ruuska T, et al. Presentation of Celiac Disease in Finnish Children Is No Longer Changing: A 50-Year Perspective. J Pediatr 2015;167(5):1109-1115.e1.

13. Kang JY, Kang AHY, Green A, Gwee KA, Ho KY. Systematic review: worldwide variation in the frequency of coeliac disease and changes over time. Aliment Pharmacol Ther 2013;38(3):226-45.

14. Makharia GK, Baba CS, Khadgawat R, Lal S, Tevatia MS, Madan K, et al. Celiac disease: variations of presentations in adults. Indian J Gastroenterol 2007;26(4):162-6.

15. Dickey W, Kearney N. Overweight in Celiac Disease: Prevalence, Clinical Characteristics, and Effect of a Gluten-Free Diet. Am J Gastroenterology 2006;101(10):2356-9.

16. Rodrigo L, Fuentes-Álvarez D, Pérez-Martínez I, Alvarez N, Niño-García P, de-Francisco-García R, et al. Differences between pediatric and adult celiac disease. Revista española de enfermedades digestivas : organo oficial de la Sociedad Española de Patología Digestiva 2011;103:238-44.

17. Sood A, Midha V, Sood N, Malhotra V. Adult celiac disease in northern India. Indian J Gastroenterol 2003;22(4):124-6.

18. Vivas S. Age-related differences in celiac disease: Specific characteristics of adult presentation. WJGPT 2015;6(4):207.

19. Doya LJ, Naamah M, Karkamaz N, Hajo N, Bijow FW, Ibrahim A, et al. An unusual case of chronic abdominal pain: an association between Celiac disease and Crohn's disease. Oxford Medical Case Reports 2021;2021(4):omab008.

20. Baharvand P, Hormozi M, Aaliehpour A. Comparison of thyroid disease prevalence in patients with celiac disease and controls. Gastroenterol Hepatol Bed Bench 2020;13(1):44-9.

21. El Mehadji D zad, Zemri K, Mehida H, Harir N, Yekrou D, Nedjadi KB, et al. Epidemiological, Clinical, Histological, Serological and Therapeutic Study of Children Celiac Disease in Western Algeria Region. J Drug Delivery Ther 2020;10(5):6-10.

22. Lundin KEA, Wijmenga C. Coeliac disease and autoimmune disease—genetic overlap and screening. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology 2015;12(9):507-15.

23. Lauret E, Rodrigo L. Celiac Disease and Autoimmune-Associated Conditions. *BioMed research international,* 2013, 127589.

24. Roujon P, Sarrat A, Contin-Bordes C, Pellegrin I, Guidicelli G, Taupin J-L, et al. Diagnostic sérologique de la maladie cœliaque. Pathologie Biologie 2013;61(3):e39-46.

25. Nachman F, Mauriño E, Vázquez H, Sfoggia C, Gonzalez A, Gonzalez V, et al. Quality of life in celiac disease patients: Prospective analysis on the importance of clinical severity at diagnosis and the impact of treatment. Digestive and Liver Disease 2009;41(1):15-25.

26. Nachman F, Sugai E, Vázquez H, González A, Andrenacci P, Niveloni S, et al. Serological tests for celiac disease as indicators of long-term compliance with the gluten-free diet: European Journal of Gastroenterology & Hepatology 2011;1.

27. Castro-Antunes MM, Magalhães R, Nobre JMM, Silva BP, Silva GAP. Celiac disease in first-degree relatives of patients. J Pediatr (Rio J) 2010;86(4):331-6.

28. Leffler DA, Dennis M, Hyett B, Kelly E, Schuppan D, Kelly CP. Etiologies and Predictors of Diagnosis in Nonresponsive Celiac Disease. Clinical Gastroenterology and Hepatology 2007;5(4):445-50.

29. Abdulkarim AS, Burgart LJ, See J, Murray JA. Etiology of nonresponsive celiac disease: results of a systematic approach. Am J Gastroenterology 2002;97(8):2016-21.

Table 1: Clinical presentation according to age groups at celiac disease diagnosis.

Characteristics	All patients N=223 Mean ± SD (CI 95%)	Infant [<2] years N= 40 Mean ± SD (CI 95%)	Children [≥2] years N= 109 Mean ± SD (CI 95%)	Adult [≥17] years N=74 Mean ± SD (CI 95%)	P* Value	P**
Age	15.17±15.76 [13.09-17.25]	1.68±0.38 [1.56-1.81]	7.04±3.68 [6.34-7.74]	34.44±12.66 [31.51-37.38]	$< 10^{-3*}$	$<10^{-3**}$(Infant VS children) $<10^{-3**}$(Infant VS Adult) $<10^{-3**}$(Adult VS children)
- Age at 1 st diagnosis	10.79±10.72 [9.37-12.20]	03.37± 3.93 [2.11-4.63]	6.53 ±3.77 [5.81-7.24]	21.07±12.49 [18.18-23.97]	$< 10^{-3*}$	0.68(Infant VS children) $<10^{-3**}$(Infant VS Adult) $<10^{-3**}$(Adult VS children)
-Age of gluten free diet	9.23±9.93 [7.92-10.54]	1.80±0.68 [1.58-2.02]	5.94±3.37 [5.30-6.58]	18.09±12.52 [15.19-20.99]	$< 10^{-3*}$	0.08(Infant VS children) $<10^{-3**}$(Infant VS Adult) $<10^{-3**}$(Adult VS children)
- **BMI (Kg/m^2)** During the diagnosis	15.79±2.47 [15.47-16.12]	15.86±1.90 [15.25-16.47]	15.13±1.99 [14.75-15.51]	16.74±3.03 [16.03-17.44]	$< 10^{-3*}$	0.197(Infant VS children) 0.114(Infant VS Adult) $<10^{-3**}$(Adult VS children)
- **Hb (g/dL)** During the diagnosis	10.63±1.89 [10.38-10.88]	10.52±1.73 [9.97-11.08]	10.66±1.89 [10.30-11.01]	10.66±2.00 [10.19-11.12]	0.92	0.916(Infant VS children) 0.943(Infant VS Adult) 0.998(Adult VS children)

Significant p value ANOVA test at ($p<0.05$); **Significant p value tukey's post hoc , **BMI:** Body Mass Index, **Hb:** Hemoglobin, confidence interval, **SD:** Standard Deviation.

Table 2: Main findings of the symptomatology according to age at celiac disease diagnosis

Charactéristics	All patients N=223	Infant [<2] years N= 40	Children [≥2] years N= 109	Adult [≥17] years N=74	P* Value
Digestives disorders, N (%)					
Chronic diarrhea	142 (63.7%)	33 (82.5%)	59 (54.1%)	50 (67.6%)	0.004*
Abdominal bloating	55 (24.7%)	17 (42.5%)	35 (32.1%)	03 (4.1%)	$< 10^{-3}$*
Abdominal pain	142 (63.7%)	19 (47.5%)	64 (63.3%)	54 (73.0%)	0.026*
Constipation	28 (12.6%)	06 (15.0%)	19 (17.4%)	03 (4.1%)	0.024*
Vomiting	90 (40.4%)	21 (52.5%)	39 (35.8%)	30 (40.5%)	0.183
Abdominal distention	30 (13.5%)	03 (7.5%)	08 (7.3%)	19 (25.7%)	0.001*
Epigastralgia	06 (2.7%)	00 (0.0%)	03 (2.8%)	03 (4.1%)	0.442
Extra digestives, N (%)					
Anemia	87 (39%)	12(30%)	37 (33.9%)	38 (51.4%)	0.026*
Anorexia	23 (10.3%)	06 (15.0%)	11 (10.1%)	06 (8.1%)	0.511
Asthenia	56 (25.1%)	07 (17.5%)	21 (19.3%)	28 (37.8%)	0.008*
Staturo ponderal delay	56 (25.1%)	11 (27.5%)	35 (32.1%)	10 (13.5%)	0.016*
Weight loss	90 (40.4%)	19 (47.5%)	32 (29.4%)	39 (52.7%)	0.004*
Pallor	63 (28.3%)	12 (30.0%)	25 (22.9%)	26 (35.1%)	0.191
Weakness and muscle cramps	23 (10.3%)	01 (2.5%)	06 (5.5%)	16 (21.6%)	$< 10^{-3}$*
Depressed state	05 (2.2%)	00 (0.0%)	01 (0.9%)	04 (5.4%)	0.075
Skin rash	13 (5.8%)	03 (7.5%)	02 (1.8%)	08 (10.8%)	0.035*
splenomegaly	02 (0.9%)	00 (0.0%)	00 (0.0%)	02 (2.7%)	0.131
Oral aphthosis	07 (3.1%)	02 (5.0%)	02 (1.8%)	03 (4.1%)	0.530

Table 3: Celiac patients according the comorbidity.

Characteristics	All patients N=223	Infant [<2] years N= 40	Children [≥2] years N= 109	Adult [≥17] years N=74	P* Value
Comorbidity, N (%)					
Allergy	15 (6.7%)	09 (22.5%)	06 (5.5%)	00 (00.0%)	
Anemia	28 (12.6%)	08 (20.0%)	18 (16.5%)	02 (2.7%)	
Asthma	04 (1.8%)	01 (2.5%)	03 (2.8%)	00 (0.0%)	
Type 1 diabetes	05 (2.2%)	01 (2.5%)	04 (3.7%)	00 (00.0%)	**0.001***
Lupus	02 (0.9%)	00 (00.0%)	00 (00.0%)	02 (0.9%)	
Crohn's disease	04 (1.8%)	00 (00.0%)	00 (00.0%)	04 (5.4%)	
Oesteoporosis	02 (0.9%)	00 (0.0%)	01 (0.9%)	01 (1.4%)	
Thyroidism	13 (5.8%)	02 (5.0%)	05 (4.6%)	06 (8.1%)	

Notes: Values are given as N (%) ;*significant p value at ($p<0.05$).

Table 4 : Main diagnostic criteria.

Charactéristics	All patients N=223	Children [<2] years N= 40	Children [≥2] years N= 109	Adult [≥17] years N=74	P* Value
Serological tests, N(%)					
Positive	190 (85.2%)	36 (90.0%)	88 (80.7%)	66 (89.2%)	0.184
Negative	33 (14.8%)	04 (10.0%)	21 (19.3%)	8 (10.8%)	
IgA atTG assay positivity(U/ml)	161 (72.2%)	29 (72.5%)	77 (70.6%)	55 (74.3%)	0.091
IgG atTG assay positivity(U/ml)	43 (19.3%)	15 (37.5%)	28 (25.7%)	00 (0.0%)	$< 10^{-3*}$
IgA AGA assay positivity(U/ml)	86 (38.6%)	21 (52.5%)	40 (36.7%)	25 (33.8%)	0.145
IgA EmA assay positivity(U/ml)	20 (9.0%)	05 (12.5%)	08 (7.3%)	07 (9.5%)	0.609
Histological tests, N(%)					
Partial to subtotal	15 (6.7%)	05 (12.5%)	10 (9.2%)	00 (0.0%)	
Partial	101 (45.3%)	19 (47.5%)	46 (42.2%)	36 (48.6%)	
Subtotal	69 (30.9%)	11 (27.5%)	36 (33.0%)	22 (29.7%)	0.097
Subtotal to total	02 (0.9%)	00 (0.0%)	00 (0.0%)	02 (2.7%)	
Total	36 (16.1%)	05 (12.5%)	17 (15.6%)	14 (18.9%)	
Gluten-free diet adherence					
Good adhesion	141 (63.2%)	25 (62.5%)	81 (74.3%)	35 (47.3%)	**0.001***
Poor adhesion	82 (36.8%)	15 (37.5%)	28 (25.7%)	39 (52.7%)	

Notes: Values are given as N (%); **a-tTG IgA and IgG:** IgA and IgG type anti-transglutaminase antibodies; **IgA AGA:** IgA type antigliadin antibodies; **EmA-IgA:** IgA type endomysial antibodies; *significant p value at ($p<0.05$).

V.2 Le volet expérimental

V.2.1 Résultats épidémiologiques

V.2.1.1 Répartition des échantillons selon le sexe et l'âge

Nous avons mené une étude cas-témoins portant sur un total de 40 sujets pédiatriques des deux sexes (20 cas cœliaques et 20 témoins sains). **Le tableau XVIII** présente la répartition de nos échantillons selon les caractéristiques de base (Sexe et Age).

Parmi les 20 enfants cœliaques, 12 étaient de sexe féminin soit (60%) et 8 étaient de sexe masculin avec un taux de (40%), ce qui souligne un sex-ratio Femme /Homme de 1.5. En revanche chez les témoins (20 enfants sains) ; 13 enfants de sexe féminin soit (65%) et 7 de sexe masculin (35%) avec un sex-ratio de 1.85 et (P=0.744).

Il s'agit d'une moyenne d'âge de 10 ans ± 3.856 chez les enfants cœliaques, et de 8.05±3.316 ans pour les enfants témoins. Il n'y'avait pas une différence significative entre l'âge moyen des deux groupes : cas-témoins (P= 0.095).

Tableau XVIII: Répartition des cas-témoins selon les caractéristiques de base (sexe et Age).

	Cas (Patients cœliaque) N=20 (%)	**Témoins N=20 (%)**	**Valeur p**
Sexe			
Féminin Masculin	12(60%) 8(40%)	13(65%) 7(35%)	0.744
Age			
Moyenne ± écart type	10±3.856	8.05±3.316	0.095

V.2.1.2 Répartition des patients cœliaques selon les caractéristiques cliniques

Les résultats des caractéristiques cliniques des enfants cœliaques sont résumés dans le **tableau XIX**. Ces résultats montrent une symptomatologie définie par des troubles digestifs chez (75%) chez les enfants cœliaques, ainsi qu'une sérologie positive chez la plupart des cas soit (95 %). Le grade III et IV de l'atrophie villositaire était dominant soit à une estimation de (45%). La mise en évidence d'une prise ne charge diététique caractérisée par un régime sans gluten était présente chez (95 %) des patients cœliaques.

Tableau XIX: Répartition des patients cœliaques selon les caractéristiques cliniques.

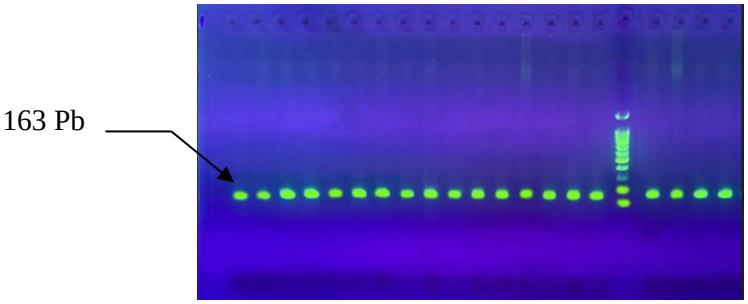
Caractéristiques Cliniques		**Cas (patients cœliaques**
Symptomatologie	Manifestations extra-digestives	5 (25%)
	Troubles digestifs	15 (75%)
Sérologie	Positive	19 (95%)
	Négative	1 (5%)
Grade de l'atrophie villositaire	Grade II	1 (5%)
	Grade III	9 (45%)
	Grade IV	9 (45%)
	Grade V	1 (5%)
Prise en charge	Régime sans gluten	19 (95%)
	Régime libre	1 (5%)

V.2.2 Résultats Moléculaires

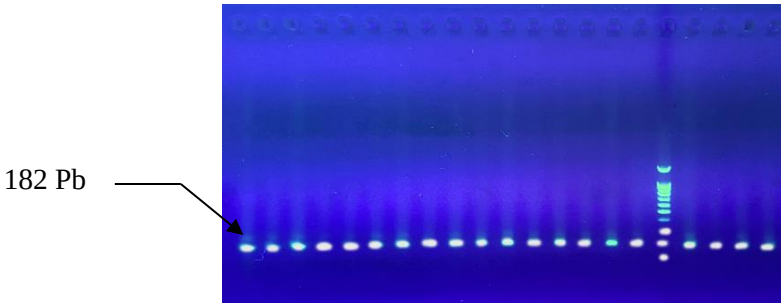
V.2.2.1 Corrélations génétiques

A. Résultats d'amplification (PCR)

Les résultats de l'analyse moléculaire ont été obtenus à partir de la détermination des produits de PCR. La figure 30 représente les résultats de l'amplification des séquences de l'IL6 (rs1800795) (-174 G/C) et (rs 1800796) (-572 G/C) respectivement par la réaction PCR **(Figure 30 (a, b))**.



(a) : Profil électrophorétique des cas cœliaques(-174G/C)



(**b) :** profil électrophorétique des cas (-572G/C)

Figure 30 : Le profil électrophorétique des produits de la PCR des cas cœliaques d'IL-6 (rs1800795) (-174G/C) et (rs1800796) (-572 G/C).

B. Résultats de la digestion enzymatique

La région du polymorphisme **(-174 G/C) (rs1800795)** a été identifiée à l'aide de l'enzyme de restriction NLa III. Le profil généré par RFLP comprenait trois fragments : Une bande unique à 163 pb a identifié les individus homozygotes GG, deux bandes à 111 et 52 pb sont pour les individus homozygotes CC, et trois bandes à 163, 111 et 52 pb identifiaient un hétérozygote GC. Le **tableau XVI** représente les polymorphismes d'IL-6(-174G/C) (rs1800795) et leurs identifiants.

La région du polymorphisme du **(-572 G/C) (rs1800796)** a été identifiée à l'aide de l'enzyme de restriction BsrBI **(Tableau XVII)**. Le profil généré par la RFLP comprenait les segments suivants : les fragments de121 bp + 61 bp pour homozygotes (GG), et les fragments 182 bp+121 bp+61 bp pour hétérozygote (GC).

Afin de confirmer les résultats de la digestion, 20 échantillons ont été visualisés par électrophorèse sur gel d'agarose

Les figures 31 et 32 montrent le profil généré des fragments par la RFLP des (-174 G/C) (rs 1800795) et (rs1800796) (-572 G/C), respectivement.

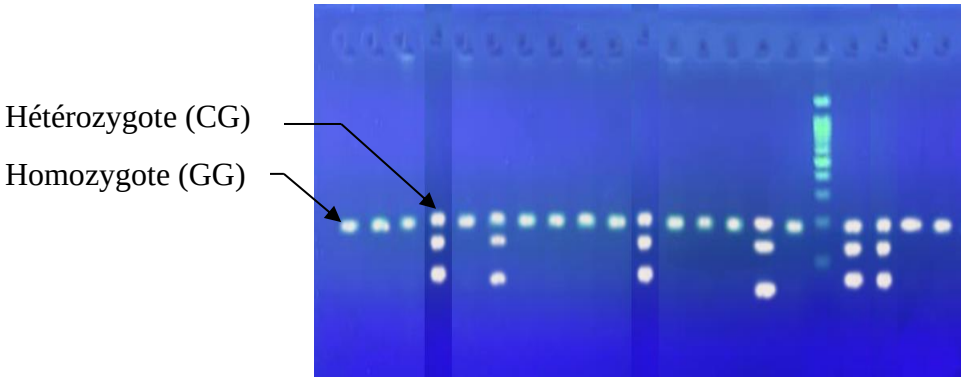


Figure 31 : Le profil généré des fragments par la RFLP d'IL 6 (-174 G/C) (rs1800795).

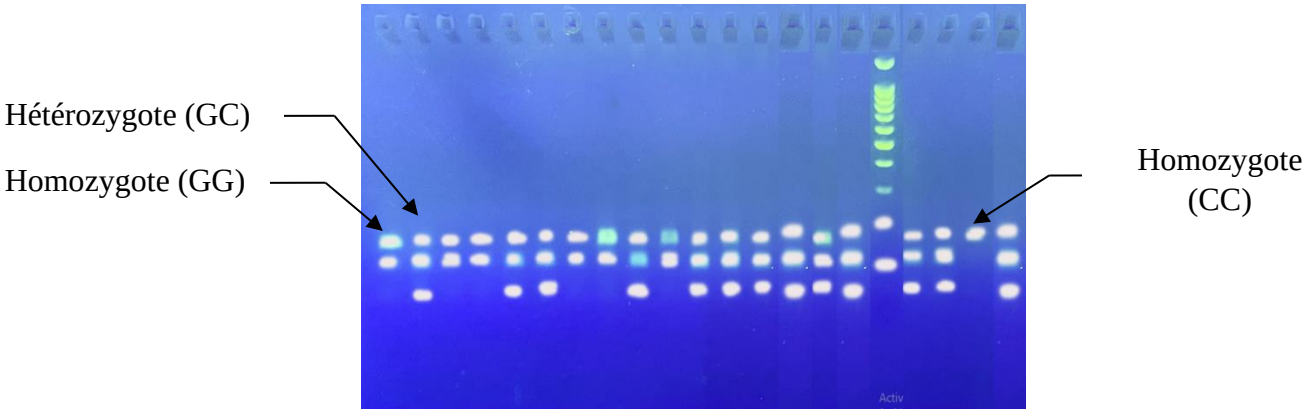


Figure 32 : Le profil généré des fragments par la RFLP d'IL 6 (-572 G/C) (rs1800796).

V.2.3 Résultats de la détermination du génotype des patients cœliaques et des individus sains

Tous les SNP étudiés notamment (rs1800795) (-174G/C) et (rs1800796) (-572 G/C) étaient en équilibre de Hardy-Weinberg (HWE), chez les enfants cœliaques et les témoins sains.

Aucune différence significative n'a été observée dans la distribution des fréquences alléliques et génotypiques des deux SNP IL6 (ASI) respectivement entre les patients atteints de la maladie cœliaque et les témoins (P> 0.05).

L'analyse statistique de la distribution des SNP (IL-6) (ASI) des deux variants étudiés a montrée :

- ✓ **La fréquence allélique du SNP (rs 1800795) (-174G/C)** : **l'allèle G** était l'allèle majeur chez les patients cœliaques de même chez les témoins soit à (85 %) et (87.5%) respectivement avec P=0.745.

- ✓ **Le génotype GG** était le plus fréquent chez les enfants cœliaques soit à (70%) et à (75%) chez les témoins.

- ✓ **Le génotype CG** était fréquent chez les patients cœliaques avec un taux de (30%) vs (25%) chez les témoins.

Il n'y avait pas une différence significative des génotypes CG, GG entre le groupe des enfants cœliaques et les témoins avec (P= 0.723). L'équilibre de Hardy-Weinberg pour ce variant était estimé de (P = 1). Les résultats sont résumés dans le **tableau XX**.

Tableau XX: Distribution alléliques et génotypiques du SNP rs1800795 (-174G/C) chez les patients atteints de MC et les témoins sains.

Variants (Polymorphismes)	**Allèles / Génotypes**	**Cas (patients cœliaques) N=20(%)**	**Témoins N=20(%)**	**Valeur P**
Il 6 (ASI) (rs1800795) (-174 G/C) Allèle C(référence)	**C**	6(30%)	5(25%)	0.745
	G	34(85%)	35(87.5%)	
	CG	6(30%)	5(25%)	0.723
	GG	14(70%)	15(75%)	
	Equilibre de Hardy-Weinberg (valeur P)			
	//	1	1	//

- ✓ **La fréquence allélique du SNP (rs 1800796) (-572G/C)** : **l'allèle G** était l'allèle majeur et le plus fréquent chez les patients cœliaques et les témoins soit à (62.5%) et (60%) respectivement que celle de l'allèle C. Il n'existe pas une différence significative entre les groupes : enfants cœliaques vs témoins et la fréquence allélique du SNP (rs1800796) (-572G/C) (P=0.818).

- ✓ **La fréquence génotypique du SNP (rs 1800796) (-572 G/C) : le génotype GG** était fréquent chez les patients cœliaques soit une fréquence de (30%) tandis que chez les témoins (25%). **Le génotype GC** était le plus dominant chez les enfants cœliaques à (65%) et a (70%) chez les témoins. **Le génotype CC** était d'une fréquence égale chez les patients cœliaques et les témoins soit à (5%). Il n'y avait

pas de différence significative entre les deux groupes et les trois groupes génotypiques (P=0.938). **(Tableau XXI)**.

A travers l'analyse des trois génotypes soit : (GG, GC, CC) ; le génotype GC était le génotype le plus fréquent pour le variant (rs1800796) chez les patients cœliaques et les témoins. L'équilibre de Hardy-Weinberg pour ce variant était de 1.

Le génotype GC+CC était noté à (75%) chez les témoins et a (70%) chez les patients cœliaques. Aucune différence significative de ce génotype n'a été notée entre les cas et les témoins (P=0.723).

Même fréquence de distribution pour **le génotype GG+GC** entre les enfants cœliaques et les témoins soit à (95%), sans avec aucune différence significative (P=1). L'équilibre de Hardy-Weinberg pour ce variant était de 1.

Pour les combinaisons des génotypes : **(GC+CC et GG+GC)** ; le plus fréquent était GG+GC noté chez les cas cœliaques et les témoins **(Tableau XXI)**.

Tableau XXI: Distribution alléliques et génotypiques du SNP rs1800796 (-572G/C) chez les patients atteints de MC et les témoins sains.

Variants (Polymorphismes)	Allèles / Génotypes	Cas (Patients cœliaques) N=20 (%)	Témoins N=20(%)	Valeur P
IL 6(ASI) (rs1800796) (-572 G/C) Allèle G(référence)	G	25(62.5%)	24(60%)	0.818
	C	15(37.5%)	16(40%)	
	GG	6(30%)	5(25%)	0.938
	GC	13(65%)	14(70%)	
	CC	1(5%)	1(5%)	
	GG	6(30%)	5(25%)	0.723
	GC+CC	14(70%)	15(75%)	
	CC	1(5%)	1(5%)	1
	GG+GC	19(95%)	19(95%)	
Equilibre de Hardy – Weinberg (Valeur P)				
		1	1	

Il n'y avait pas des différences significatives dans la fréquence des génotypes ou des allèles du SNP (rs 1800795) et (rs1800796) entre les patients cœliaques et les sujets sains.

V.2.4 Corrélations entre les génotypes d'IL-6(ASI) et les caractéristiques cliniques (enfants cœliaques et témoins sains)

D'après l'analyse statistique de corrélation on a constaté que :

Les caractéristiques de base des patients cœliaques et des témoins, y compris l'âge et le sexe, aussi les caractéristiques cliniques des enfants cœliaques (telles que : la symptomatologie clinique, la sérologie, le grade de l'atrophie villositaire et la prise en charge diététique) ont été utilisées pour évaluer l'impact des deux polymorphismes du gène de l'IL-6.

V.2.4.1 L'âge, l'âge d'apparition de la maladie et le sexe :

A. (rs1800795) (-174G/C) : génotypes CG/GG

La moyenne d'âge était à 6.83 ans ± 2.73 pour le génotype (CG) et a 11.35 ans ± 3.49 pour le génotype GG**.** Il n'existait pas une différence significative entre les deux génotypes et l'âge (P= 0.468).

La moyenne d'âge d'apparition de la maladie était de 3.08 ans ±2.65 chez le groupe (CG) et a 5.03 ans ±3.77 chez les cœliaques porteurs du génotype (GG). Aucune différence significative n'a été notée entre les deux groupes génotypiques (P=0.260).

De même, il n'existait pas une différence significative entre le sexe et les deux groupes génotypiques.

B. (rs 1800796) (-572 G/C) : génotypes GG/GC/CC

La moyenne d'âge était de 12.58 ans pour le génotype GG, et de 9.81 ans pour le génotype (GC) et de 7 ans pour le CC. Aucune différence significative n'a été notée entre les trois groupes génotypiques (P=1.281).

La moyenne d'âge d'apparition de la maladie était plus élevé 14.75 ans chez les sujets porteurs de génotype (GG), 8.92 ans (GC) et 5.5 ans (CC). Aucune différence significative (P=5.062).

Une prédominance féminine a été notée pour les trois groupes génotypiques soit à (53.8%) (GG), (66.7%) (GG) et à (100%) (CC). (P=0.612).

V.2.4.2 Symptomatologie clinique, sérologie, grade de l'atrophie villositaire et la prise en charge diététique

A. (rs1800795) (-174G/C) : génotypes CG/GG

Quatorze patients cœliaques (71.4%) étaient du génotype GG et souffraient de troubles digestifs (principalement diarrhée chronique, douleurs abdominales et vomissements), et 5 (83.3%) du génotype CG soufraient des manifestations extra digestives (principalement l'anémie et le retard staturo-pondéral) avec aucune différence significative.

La sérologie positive était plus élevée chez les enfants cœliaques porteurs de génotype GG soit à (92.9%) et pour le génotype CG a (100%) (P=0.502).

Pour le grade de l'atrophie villositaire, nos résultats ont montré que le grade II était présent chez les cas porteurs du génotype CG :((16.7%), (P=0.117)), Le grade III était plus fréquent pour le génotype GG : ((50%), (P=0.492)), le grade IV était plus fréquent pour le génotype GG : ((57.1%), (P=0.769)) et le grade V était plus fréquent chez les enfants cœliaques porteurs du génotype GG : ((92.9%), (P=0.502)).

La prise en charge diététique (régime sans gluten) était abordée à (100%) chez les patients cœliaques porteurs de génotype GG suivi par une fréquence de (83.3%) pour le génotype CG. (P=0.117).

B. (rs 1800796) (-572 G/C) : génotypes GG/GC/CC

La symptomatologie clinique tel que, les troubles digestifs, étaient plus fréquentes chez les enfants cœliaques exprimant le génotype GC (76.9%) suivi par le génotype GG soit à (66.7%). Cependant les manifestations extra-digestives étaient plus élevées chez les cœliaques porteurs du génotype GG (33.3%). Aucune association significative n'a été trouvée entre la symptomatologie et le SNP (rs 1800796) avec (P=0.748).

La sérologie de la maladie cœliaque était fortement positive chez les patients présentant le génotype GC (100%) et le génotype CC (100%) suivi par le génotype GG soit à (83.3%). Il n'y avait pas de différence significative (P=0.293).

Le grade de l'atrophie villositaire : grade II (le génotype GC (7.7%), (P=0.753)) ; le grade III ((61.5%), (P=0.122) pour le génotype (GC) ; le grade IV (le génotype CC (100%)

suivi par GG (66.7%) et le GC (30.8%), (P=0.181)) ; le grade V (était noté uniquement chez un patient porteur du génotype GG soit à (16.7%) (P=0.293).

Le régime sans gluten était abordé chez la totalité des patients cœliaques porteurs du génotype GG et du génotype CC suivi par (92.3%) du génotype GC. Aucune différence significative entre rs1800796 et la prise en charge diététique n'a été notée (P=0.753).

CHAPITRE VI

DISCUSSION

VI Discussion

VI.1 Le volet épidémiologique

Au terme de notre étude, la maladie cœliaque est caractérisée par une nette prédominance féminine, qui a été également notée par d'autres études **(Kivelä *et al.*, 2015a)** avec un sex-ratio de 1.57 **(Abed *et al.*, 2019)**. La maladie cœliaque peut se diagnostiquée à toute âge mais elle se présente par des formes atypiques chez les adolescents et les adultes **(Fasano & Catassi, 2005).** L'âge moyen de l'apparition de la maladie chez notre population infantile était de 3.44 ± 3.34 ans, ce qui concorde avec les résultats de **(Abed *et al.*, 2019)**. Néanmoins le diagnostic de la maladie repose essentiellement sur une recombinaison des critères histologiques, sérologiques, cliniques et la réponse au régime sans gluten **(McNeish *et al.*, 1979 ; Verkarre & Brousse, 2013)**. Cela était indiqué et confirmé par nos résultats.

La littérature suggère que la symptomatologie clinique de la maladie apparait chez l'enfant lors de l'introduction du gluten et plus précisément à l'âge du début de la diversification alimentaire ainsi que lors de l'arrêt d'allaitement maternel **(Abed *et al.*, 2019 ; Garnier-Lengliné *et al.*, 2013).**

Nos résultats cliniques objectivent une fréquence de (73.2%) des formes classiques (typiques) et (26.8%) atypiques caractérisées par des manifestations gastro-intestinales ou extra intestinales ; ce qui rejoint les données de la littérature **(Ludvigsson *et al.*, 2013 ; McNeish *et al.*, 1979).** Les troubles digestifs étaient les plus fréquents dans notre étude : la diarrhée chronique (64.8%), les douleurs abdominales (52.4%) et les vomissements (37.6%), ce qui est en concordance avec les résultats d'une étude menée au Soudan notant que la diarrhée chronique était la principale caractéristique de la MC chez l'enfant **(Ahmed *et al.*, 2018)**. Cependant de façon comparable dans la région de l'Est Algérien les enfants cœliaques présentaient les douleurs abdominales comme les principaux symptômes **(Abed *et al.*, 2019).** La cœliaque se définis par une diversité des symptômes soit typiques et / ou atypiques, ces données confirment nos résultats **(Abed *et al.*, 2019 ; I. D. Hill *et al.*, 2005b)**. En outre, on a constaté particulièrement les symptômes d'amaigrissement (38.4%), d'anémie (30%), d'un retard staturo-pondéral (35.6%), suivi d'une pâleur cutanéo-muqueuse (24.8%) associées à des troubles digestifs ; cela confirme que la maladie cœliaque peut se manifester à partir des manifestations intestinaux ou extra intestinaux **(Saeed *et al.*, 2019)** chez l'enfant et l'adolescent.

La maladie cœliaque favorise l'apparition de nombreuses pathologies notamment l'anémie qui a été estimée a (73.6%) dans notre série ; ces données sont similaires à celles de **(Albrady, 2018 ; Boukezoula, Smaali, *et al.*, 2018)**. Nos résultats confirment également que les pathologies associées à la MC sont des complications de cette dernière que ce soit nutritionnels (amaigrissement, retard staturo pondéral), ou hématologiques (anémie) **(Cosnes & Nion-Larmurier, 2013)**. Dans notre étude, nous avons souligné une association significative avec des maladies auto-immunes principalement le diabète de type I et la thyroïdite ; ce qu'était en concordance avec les études de **(Lundin & Wijmenga, 2015 ; Lauret & Rodrigo, 2013)**.

L'examen histologique reste l'examen de référence pour un diagnostic de quasi-certitude. Notre série a souligné une atrophie villositaire de grade partiel et classification 3 selon Marsh chez la plupart des patients, ce qui était en concordance avec les résultats de l'étude de Anturnes et al **(Castro-Antunes, Magalh&atildees, *et al.*, 2010)**.

Les tests sérologiques sont considérés comme les plus fiables pour la détection de la maladie et même sont recommandées dans le dépistage **(AGA Institute, 2006)**, la positivité de la sérologie est primordiale pour que le diagnostic doit acquis. Dans notre série, nous avons constaté que (77.6%) des enfants présentaient une sérologie positive, ainsi qu'un lien significatif entre le grade histologique et la sérologie (P=0.001). Cependant, nos résultats sont contradictoires avec l'étude menée dans la région de l'Est Algérien **(Abed *et al.*, 2019)**. De même on a révélé une excellente corrélation des auto-anticorps anti-transglutaminase et anti endomysium, ($P<10^{-3}$) ce qui confirme leurs spécificités et sensibilités comme démontré par les résultats de **(Roujon, Sarrat, *et al.*, 2013a)**.

Le traitement de la maladie est basé sur la diététique, nos résultats montraient que tous les patients ont bénéficiés d'un régime sans gluten, comme a été mentionné dans plusieurs études **(AGA Institute, 2006 ; Farrell & Kelly, 2002b)**. L'observance du RSG a été évaluée selon l'auto-déclaration des patients d'où on a signalé des écarts du régime et également en fonction de la présence des signes cliniques.

Dans notre deuxième article, nous nous sommes particulièrement intéressés à évaluer la conformité au régime sans gluten (RSG). Nos résultats ont été confirmés par plusieurs études, qui ont rapporté que le taux d'observance d'un RSG varie entre 45 % et 90 % chez les patients atteints de la MC de différentes ethnies **(Muhammad *et al.*, 2019)**. Une corrélation significative entre les deux groupes et l'âge actuel (22.89±5.64.vs21.52 ±3.81,

P=0.008), ce qui confirme que l'observance du RSG peut être influencée par l'âge au moment du diagnostic selon l'étude de **(Muhammad *et al.*, 2019)**.

Nos résultats ont démontré que cette conformité au RSG induit une amélioration substantielle et significative de l'état de santé des patients par l'augmentation de l'IMC après 2 ans de régime ($P<10^{-3}$) ; également par le taux d'hémoglobine ($P<10^{-3}$) chez les patients qui ont bien suivi le régime. L'étude de **(Sugai *et al.*, 2010)** confirme nos résultats, en revanche, d'après **(Nachman *et al.*, 2009b)** cette observance reste difficile à maintenir à long terme vue la qualité de vie de chaque patient.

On note une différence significative (P=0.001) entre les tests sérologiques et la bonne compliance au régime, cette différence était également soulignée par les études de **(AGA Institute, 2006)** et **(Nachman *et al.*, 2009b, 2011a)**.

Egalement nos résultats confirment une réduction significative (P=0.001) du taux de positivité des autoanticorps anti-transglutaminase d'isotype IgA et IgG dans le groupe B. Cette réduction due aux modifications qualitatives et quantitatives est entraînée par le régime sans gluten. De même, l'étude de **(Muhammad *et al.*, 2019)** confirme cette relation entre la bonne compliance au régime et la positivité de la sérologie.

D'après l'examen histologique (biopsie duodéno-jéjunale), on a constaté une prédominance d'atrophie villositaire de grade 3 selon la classification de Marsh chez (61.26%) de nos patients. Ce grade d'atrophie était également noté dans l'étude de **(Castro-Antunes, Magalh&atildees, *et al.*, 2010)**, où 43.18% des patients cœliaques écartés du régime alimentaire avaient une atrophie villositaire de grade 4. De plus, un excellent niveau de signification ($P<10^{-3}$) entre le grade d'atrophie villositaire et les deux groupes d'observance au régime a été souligné dans notre étude. Ainsi la récupération histologique dépend de la bonne compliance du régime alimentaire, comme également confirmé par les études de **(Galli *et al.*, 2014)**.

Notre troisième série d'études a montré que la maladie cœliaque chez l'enfant et l'adulte est caractérisée toujours par une prédominance féminine dans tous les groupes d'âge, avec un sex-ratio de 1.62. Cette prédominance a également été suggérée par d'autres études **(J. Y. Kang *et al.*, 2013 ; Kivelä *et al.*, 2015b)**. La moyenne d'âge de nos patients cœliaques était de 15.17±15.76 ans, ce qui a été confirmée par d'autres études tels que l'étude de

(Makharia *et al.*, 2007). Nos données ainsi que ceux de la littérature confirment que la MC peut être diagnostiquée à tout âge.

La moyenne d'indice de masse corporelle dans notre échantillon était de (15.79±2.47 kg/m2), tous les patients étaient malnutris [<16.5], cela était similaire aux résultats des autres études ; notamment des études menées sur des enfants Indiens qui ont montré que le retard de croissance était une manifestation fréquente de la maladie **(Poddar, 2013)**. De manière comparable avec les adultes, nos résultats ont trouvé une augmentation du taux d'IMC [>16.5] après un régime sans gluten. Cette augmentation était, également, indiquée dans l'étude de **(Dickey & Kearney, 2006)**, qui ont trouvés que peu de patients cœliaques adultes étaient en surpoids au moment du diagnostic.

La symptomatologie clinique de la maladie était caractérisée par des formes classiques définies par des troubles digestifs principalement chez les enfants (69%), notamment la diarrhée chronique (54.1%), les douleurs abdominales (63.3%) et le ballonnement abdominal (32.1%), avec une différence significative de (P=0.004), (P=0.026) et ($P<10^{-3}$) respectivement ; ce qui est cohérent avec l'étude de **(Rodrigo *et al.*, 2011)** qui ont noté que la diarrhée chronique était la principale manifestation clinique de la maladie chez les enfants. D'autre part, chez les adultes, nos résultats ont été confirmés par **(Sood *et al.*, 2003)** selon lesquels la diarrhée chronique était présente chez les adultes, mais en contradiction avec d'autres études de **(Vivas, 2015)**.

Cependant, nos résultats soulignent que les manifestations extra digestives sont assez fréquentes chez les adultes cœliaques, marquées essentiellement par : la perte du poids (52.7%), l'anémie (51.4%) et l'asthénie (37.8%) avec une différence significative respectivement de : (P=0.004), (P=0.026) et (P=0.026) chez les trois groupes confondus. Nos résultats ont été soutenus par plusieurs études de conformité tels que l'étude **(Poddar, 2013)**, bien que dans le groupe des nourrissons, la perte de poids était la principale manifestation extra digestive (P=0.004), le retard staturo-pondéral était dominant chez les enfants avec (P=0.016), ces données sont similaires à celles de **(Vivas, 2015)**.

Nous avons remarqué dans notre étude qu'il y avait de nombreuses maladies associées à la maladie cœliaque : chez l'adulte ; la maladie de Crhon et la thyroïdie qui semblent être identiques aux résultats de **(Baharvand *et al.*, 2020 ; Doya *et al.*, 2021)**. Alors que **(Rodrigo *et al.*, 2011)** ont suggérés que la plupart des maladies qui sont d'origine auto-immune chez

l'enfant et les nourrissons étaient l'allergie et l'anémie, ce qui rejoignent nos résultats et ceux de **(Vivas, 2015)**, **(El Mehadji *et al.*, 2020)**.

Les tests immuno-sérologiques étaient nécessaires pour le diagnostic de la maladie, bien que nos résultats ont montré que la sérologie était positive chez (85.2%) des patients cœliaques similairement à ceux de **(Roujon, Sarrat, *et al.*, 2013b)**, rappelons que même chez les nourrissons, les enfants et les adultes, la positivité était de (90.0%), (80.7%) et (89.2%) respectivement. Les tests, principalement (IgA et IgG a-tTG, IgA EMA, IgA AGA), étaient significativement plus élevés chez les enfants que chez les adultes, ce qui souligne une excellente valeur prédictive pour confirmer le diagnostic dans notre échantillon comme a été rapporté par **(Nachman *et al.*, 2009a, 2011b)**. De plus, l'étude de **(Roujon, Sarrat, *et al.*, 2013b)** a montré que les anticorps IgA anti-endomysium et anti-transglutaminase tissulaire représentent les marqueurs les plus spécifiques et les plus sensibles à l'exception des patients déficients en IgA et dont la recherche d'IgG est recommandée. Nos résultats étaient en concordance avec ces études. Une différence significative avec les IgG anti-transglutaminase a été observée ($P<10^{-3}$) chez tous nos patients cœliaques. L'étude de **(Castro-Antunes, Magalh&atildees, *et al.*, 2010)** a souligné l'importance d'utilisation des tests anti-transglutaminase dans le diagnostic et le dépistage de la maladie cœliaque.

Nos patients ont subi une biopsie duodéno-jéjunale avec la présence d'une atrophie villositaire de grade partiel (Marsh=3) qui était dominant chez tous les patients, de plus le grade total (Marsh≥3) était présent chez les adultes plus que chez les enfants. Ces résultats ont également étaient rapportés par **(Castro-Antunes, Magalhães, *et al.*, 2010 ; El Mehadji *et al.*, 2020)**.

La réponse au régime sans gluten est également nécessaire pour confirmer le diagnostic de la maladie cœliaque d'après **(Nachman *et al.*, 2011a)**. En effet nos résultats objectivent une bonne adhésion au régime sans gluten, cette bonne adhérence était plus élevée chez les enfants que chez les adultes avec une différence significative de (P=0.001). Nos résultats étaient cohérents avec **(Leffler *et al.*, 2007)**. Cependant une mauvaise adhésion au régime sans gluten et/ou l'absence de réponse clinique et histologique favorisent le développement de la sprue réfractaire chez l'adulte, comme l'ont confirmé **(Abdulkarim *et al.*, 2002 ; Leffler *et al.*, 2007)**.

VI.2 Le volet immunogénétique

La maladie cœliaque est une affection intestinale à médiation auto-immune, fait intervenir les lymphocytes T, induite par le gluten et chez des personnes génétiquement sensibles **(Schuppan, 2000)**. Les facteurs génétiques, y compris les gènes HLA de classe II, sont les plus importants facteurs dans le développement de la MC. Alors que d'autres facteurs peuvent être impliqués dans ce développement, tels que les gènes codant pour plusieurs molécules de réponse immunitaire qui sont impliquées dans la sensibilité de la maladie cœliaque **(Trynka *et al.*, 2010)**.

Dans la MC, les lésions des muqueuses intestinales sont causées par l'activité du système immunitaire et de l'immunité acquise. Des études précédentes ont montré que les cytokines produites par les cellules T CD4, suivis d'une inflammation immunologique de la muqueuse joue un rôle dans la pathogenèse de cette maladie **(Kapoor *et al.*, 2013 ; Romaldini *et al.*, 2002)**.

Les cytokines sont des intermédiaires de nature protéique importants de l'immunité. En cas de déséquilibre ou de carence, elles peuvent être à l'origine des maladies auto-immunes **(Nemec *et al.*, 2008)**. Des études ont montré que les gènes codant pour les cytokines inflammatoires peuvent être considérés comme un facteur prédisposant aux lésions causées par les médiateurs immunitaires dans la MC **(Ishihara & Hirano, 2002)** dont l'interleukine 6 (IL-6) est une cytokine multifonctionnelle ayant une activité à la fois pro-inflammatoire et anti-inflammatoire, en fonction du contexte de la réponse immunitaire. Elle joue un rôle majeur dans la progression de nombreuses maladies inflammatoires chroniques notamment la maladie cœliaque **(Aliyu *et al.*, 2022)**.

Certains polymorphismes de La région promotrice de l'IL-6 tels que le SNP (rs1800795) et (rs 1800796) aux positions (-174G/C) et (-572G/C) respectivement affecte l'expression de l'IL-6 **(Barisani *et al.*, 2006)**.

Ce polymorphisme a été étudié également dans les maladies inflammatoires systémiques et auto-immunes comme la polyarthrite rhumatoïde, le lupus érythémateux systémique et la sclérose en plaques **(Li *et al.*, 2014 ; Yan *et al.*, 2012)**. Par rapport au génotype CC de l'IL-6 (-572G/C), le génotype GG (allèle G) est responsable d'une plus grande production d'IL-6 **(Fishman *et al.*, 1998 ; Jerrard-Dunne *et al.*, 2004)**.

Dans notre étude, il n'y avait pas une différence statistique entre le groupe des patients cœliaques et le groupe de contrôle en ce qui concerne les caractéristiques de base y compris le sexe et l'âge soit a (P=0.744) et (P=0.095) respectivement, ces paramètres ont été utilisés pour évaluer l'impact des deux polymorphismes du gène d'IL-6. Ces résultats ont été confirmés par l'étude de **(Babusikova *et al.*, 2017)**.

Les caractéristiques cliniques de nos patients cœliaques y compris : les troubles digestifs étaient les plus fréquent (75%), la sérologie était positive chez (95%), le grade de l'atrophie villositaire III et IV avec (45%) et le régime sans gluten été abordé chez la plupart des patients avec une fréquence de (95%). Ces résultats ont été confirmés par nos études épidémiologiques **(El Mehadji *et al.*, 2020)** et l'étude de **(Ludvigsson *et al.*, 2013)**.

Dans notre série, les distributions alléliques du polymorphisme en position (-174) ont montré que l'allèle G était le plus fréquent chez les patients cœliaques avec une fréquence de (85%), même pour le groupe des témoins soit à (87.5%). En accord avec nos résultats une autre étude portant sur 25 patients a montré que les patients présentaient l'allèle G comme un allèle dominant dans les maladies inflammatoires systémiques **(Barrett *et al.*, 2003)**. Le site d'un risque potentiel d'association avec le SNP (rs1800795) était plus noté chez les patients, mais avec aucune différence significative entre les patients cœliaques et le groupe de contrôle sain (P=0.745). L'étude de **(Barartabar *et al.*, 2018)** et de **(Dema *et al.*, 2009)** ont confirmés nos résultats. Pour ce polymorphisme (rs1800795), les fréquences génotypiques : CG, GG dont le génotype GG était le plus fréquent chez nos patients cœliaques soit a (70%), cela été confirmé par plusieurs études concernant ce polymorphisme dans la région promotrice de l'IL-6 **(Dema *et al.*, 2009 ; Zupin *et al.*, 2014)**. Il n'y avait pas de différence significative dans la fréquence des génotypes du SNP (rs1800795) entre les patients cœliaques et les sujets sains soit (P=0.723). Ces résultats ont été confirmés par ceux de **(Barartabar *et al.*, 2018)**.

De plus, il n'y a pas d'association entre la susceptibilité à la MC et le polymorphisme IL-6 (rs1800795), ce qui rejoint les résultats de l'étude de Woolley **(Woolley *et al.*, 2005)**.

En Algérie, des études récentes de **(Belanteur & Attal, 2019)** ont mis en évidence l'association du variant (-174 G/C) de l'IL-6 avec la maladie cœliaque dans une population algérienne mais pas avec une différence significative ce qui rejoint nos résultats.

Dans le cas du rs1800796 (-572 G/C), les distributions génotypiques et alléliques étaient présentes mais ne présentaient pas de relation significative avec l'âge et le sexe entre le groupe MC et lu groupe témoin. Nos résultats étaient en concordance avec les résultats de **(Barartabar *et al.*, 2018)**.

En ce qui concerne le polymorphisme (rs1800796) (-572G/C), notre étude confirme que dans la maladie cœliaque la fréquence de l'allèle G du rs 1800796 en position (-572 G/C) était beaucoup plus élevée (62.5%) que celle de l'allèle C (37.5%), également pour les témoins sains. Ces résultats confirment celle de **(Barartabar *et al.*, 2018)** d'où ils ont confirmé que l'allèle G est responsable d'une production plus importante d'IL-6 **(Fishman *et al.*, 1998 ; Jerrard-Dunne *et al.*, 2004)**. Cependant nos résultats été on contradictoire à celle de **(Akbulut *et al.*, 2017)** qui ont été suggérées que l'allèle c'était l'allèle majeur pour le SNP rs1800796 dans une population cœliaque nous avons également constaté qu'il n'y'avait aucune différence significative (P=0.818) entre la fréquence allélique de ce polymorphisme et le groupe des patients cœliaques ainsi que les témoins. Ces résultats ont été similaires à celle de **(Babusikova *et al.*, 2017)**.

Les distributions génotypiques du variant (rs1800796) d'IL-6 en position (-572G/C) : on a constaté trois génotypes notamment : GG, GC, CC ; par rapport au génotype GC était le plus fréquent chez nos patients cœliaques (65%) et même pour les témoins (70%) ; cette dominance liée au allèle G ; allèle majeur du SNP (rs 1800796) suivi par le génotype GG chez les cas cœliaques et les témoins malgré qu'il n'existait pas d'une différence significative entre les distributions génotypiques (les trois génotypes) et les deux groupes étudiés (cas cœliaques vs témoins) (P=0.938). Nos résultats été confirmée par l'étude de **(Babusikova *et al.*, 2017)**. Ainsi l'étude de (**Barartabar *et al.*, 2018)** d'où le génotype CG était le plus fréquents dans ces études était en contradictoire avec nos résultats.

Dans notre série, on a mis en évidence les combinaisons génotypiques du (rs1800796) : GC+CC et GG+GC d'où on a constaté que le génotype GG+GC était le plus fréquent chez les patients cœliaques et les témoins mais il n'y avait aucune association significative avec les deux groupes (cas vs témoins) (P=1). L'étude de **(Babusikova *et al.*, 2017 ; Rincon, 2012)** confirment que le génotype GG+GC été plus fréquent dans les maladies inflammatoires et auto-immunes.

En ce qui concerne les corrélations génotypiques, il n'existait pas une différence significative entre les SNP : (rs1800795) et (rs1800796) et l'âge d'apparition de la maladie.

Cependant, l'âge d'apparition de la maladie était plus élevé chez les sujets porteurs du génotype GG pour les deux variants, nos résultats était similaire à celle de **(Babusikova *et al.*, 2017)**.

L'étude de **(Akbulut *et al.*, 2017)** a suggéré qu'il n'y'avait pas de différence significative entre la symptomatologie clinique quoi que ce soit typique et/ou atypique de la maladie cœliaque et les SNP (rs1800795) et (rs 1800796), de même pour le grade de l'atrophie villositaire selon la classification de Marsh. Nos résultats ont confirmé cette étude. En revanche, Kapoor et al ont rapporté que les valeurs d'IL-6 étaient significativement plus élevées dans la MC et s'avéraient être un marqueur fiable de l'activité de la maladie **(Kapoor *et al.*, 2013)**.

Le régime sans gluten était abordé chez la totalité de nos patients, mais il n'existait aucune différence significative entre les SNP étudiés et l'adhérence au régime sans gluten.

CONCLUSIONS

ET

PERSPECTIVES

CONCLUSIONS

La maladie cœliaque est une pathologie auto immune d'une étiologie multifactorielle et d'un diagnostic pluridisciplinaire.

Les données de notre étude ont globalement été en parfaite corrélation avec les données théoriques, ce qui ramène à conclure que :

- Sur le plan épidémiologique

La maladie cœliaque dans la région de l'Ouest Algérien chez les enfants est caractérisée par une prédominance féminine et une présentation clinique qui se définis toujours par des formes typiques et/ou atypiques avec une symptomatologie intestinale chez les enfants et /ou extra intestinales respectivement.

L'épreuve histologique reste l'examen de référence ainsi que les tests immuno-sérologiques sont les plus spécifiques et les plus fiables pour obtenir un diagnostic de quasi-certitude.

Également, la maladie cœliaque dans la région de l'Ouest Algérien présente de nombreuses différences entre les enfants et les adultes. Chez les adultes, la présentation de la maladie est marquée pendant l'enfance, elle est caractérisée par la présence des formes atypiques ainsi que typiques, et la comorbidité était dans les formes de maladies auto-immunes chez les adultes.

Le traitement de la maladie est basé sur la diététique c'est pour cela le régime d'exclusion du gluten reste l'élément majeur pour le succès de la prise en charge diététique ainsi l'adhésion au régime sans gluten a été bien établie chez les enfants que chez les adultes et la réduction des niveaux d'anticorps sont influencés par le degré de cette adhésion au régime alimentaire par les patients malgré le fait que ce régime est difficile à maintenir à long terme dans certaines situations sociales chez nos patients.

- Sur le plan immunogénétique

Les résultats de l'étude des associations entre les polymorphismes fonctionnels du gène de l'interleukine 6 et la maladie cœliaque apportent que :

L'allèle G était l'allèle majeur chez les enfants cœliaques de même que chez les témoins pour les deux variants (rs1800795) (-174) et (1800796) (-572).

Le génotype GG était le plus fréquent chez les enfants cœliaques suivi par le génotype CG pour le SNP (rs1800795) (-174).

Il n'y avait pas une différence significative des génotypes CG et GG (du variants rs1800795) entre le groupe des enfants cœliaques et le groupe des témoins (P=0.723).

Le génotype GC était fréquent chez les patients cœliaques suivi par le génotype GG pour le variant (rs1800796) (-572).

De même, aucune différence significative n'a été observée dans la distribution des fréquences alléliques et génotypiques des deux SNP IL6 (ASI) : (rs 1800795) et (rs1800796) respectivement entre les patients atteints de la maladie cœliaque et les témoins (P> 0.05).

En ce qui concerne les corrélations génotypiques, aucune association significative entre les SNP : (rs1800795) et (rs1800796) et l'âge d'apparition de la maladie, la symptomatologie clinique, l'histologie et le régime sans gluten.

PERSPECTIVES

Une étude prospective doit être effectuée à long terme dans différentes régions de notre pays pour valider et comparer les différentes caractéristiques de la maladie cœliaque chez l'enfant, ainsi que chez l'adulte de même étudier les facteurs prédisposant la population algérienne à cette pathologie. De même, il devient nécessaire de mieux connaître les mesures objectives pour évaluer l'adhésion au régime alimentaire afin de maintenir une meilleure réponse et une prise en charge diététique efficace chez nos patients.

D'autres études avec un plus grand nombre de patients et d'autres polymorphismes du gène de l'interleukine-6 sont nécessaires pour définir les différences de susceptibilité génétique à la MC afin de clarifier le mécanisme de causalité et de l'effet de l'interleukine 6 sur l'atteinte et le développement de la MC chez la population Algérienne.

Une meilleure compréhension des différents mécanismes qui modulent l'expression de l'IL-6 fournira la solution tant attendue avec un excellent profil de sécurité et d'efficacité pour le traitement des maladies auto-immunes et inflammatoires dans lesquelles l'IL-6 est à l'origine de leur pathogenèse.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

Abadie, V., Sollid, L. M., Barreiro, L. B., & Jabri, B. (2011). Integration of Genetic and Immunological Insights into a Model of Celiac Disease Pathogenesis. *Annual Review of Immunology*, *29*(1), 493-525. https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-040210-092915

Abdulkarim, A. S., Burgart, L. J., See, J., & Murray, J. A. (2002). Etiology of nonresponsive celiac disease: Results of a systematic approach. *The American Journal of Gastroenterology*, *97*(8), 2016-2021. https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2002.05917.

Abed, N., Cherouat, N. el houda, Mohammedi, H., Rouabah, A., & Rouabah, L. (2019). Characteristics of Celiac Disease in Childhood of Eastern Algeria. *Advanced Research in Life Sciences*, *3*(1), 5-10. https://doi.org/10.2478/arls-2019-0003

AboutKidsHealth. (2020). https://www.aboutkidshealth.ca:443/fr/article?contentid=1467&language=French

Abreu, M. T. (2010). Toll-like receptor signalling in the intestinal epithelium: How bacterial recognition shapes intestinal function. *Nature Reviews Immunology*, *10*(2), Article 2. https://doi.org/10.1038/nri2707

Aflatoonian, M., Moghimi, M., Akbarian-Bafghi, M. J., Morovati-Sharifabad, M., Jarahzadeh, M. H., & Neamatzadeh, H. (2019). ASSOCIATION OF TNF- α-308G>A POLYMORPHISM WITH SUSCEPTIBILITY TO CELIAC DISEASE : A SYSTEMATIC REVIEW AND META-ANALYSIS. *Arquivos De Gastroenterologia*, *56*(1), 88-94. https://doi.org/10.1590/S0004-2803.201900000-20

AGA Institute. (2006). AGA Institute Medical Position Statement on the Diagnosis and Management of Celiac Disease. *Gastroenterology*, *131*(6), 1977-1980. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2006.10.003

Ahmed, A. K., Abd Elhafiz, R. M., Almubarak, A. S., & Ali, M. A. (2018). Frequency rate of celiac disease in Sudanese patients presenting with chronic diarrhea. *African Journal of Medical Sciences*, *3*(8).

Airaksinen, L., Cerqueira, J. XM., Huhtala, H., Saavalainen, P., Yohannes, D. A., Mäki, M., Kurppa, K., Kilpeläinen, E., Shcherban, A., Palotie, A., Kaukinen, K., & Lindfors, K. (2021). Dissecting the contribution of single nucleotide polymorphisms in CCR9 and CCL25 genomic regions to the celiac disease phenotype. *Journal of Translational Autoimmunity*, *4*, 100128. https://doi.org/10.1016/j.jtauto.2021.100128

Akbulut, U., Çebi, A., Sag, E., Ikbal, M., & Çakir, M. (2017). Interleukin-6 and interleukin-17 gene polymorphism association with celiac disease in children. *TURKISH*

JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY, *28*(6). https://doi.org/10.5152/tjg.2017.17092

Albrady, A. (2018). Clinical Profile of Celiac Disease: Patient Epidemiological Prospective. *Annals of Medical and Health Sciences Research*, *8*(1), 5.

Alessio, M. G., Tonutti, E., Brusca, I., Radice, A., Licini, L., Sonzogni, A., Florena, A., Schiaffino, E., Marus, W., Sulfaro, S., Villalta, D., & Medicine, for the S. G. on A. D. of the I. S. of L. (2012). Correlation Between IgA Tissue Transglutaminase Antibody Ratio and Histological Finding in Celiac Disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, *55*(1), 44. https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e3182470249

Aliyu, M., Zohora, F. T., Anka, A. U., Ali, K., Maleknia, S., Saffarioun, M., & Azizi, G. (2022). Interleukin-6 cytokine : An overview of the immune regulation, immune dysregulation, and therapeutic approach. *International Immunopharmacology*, *111*, 109130. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2022.109130

Amr, K., El-Awady, R., & Raslan, H. (2016). Assessment of the -174G/C (rs1800795) and -572G/C (rs1800796) Interleukin 6 Gene Polymorphisms in Egyptian Patients with Rheumatoid Arthritis. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, *4*(4), 574-577. https://doi.org/10.3889/oamjms.2016.110

Amroun, H., Djoudi, H., Busson, M., Allat, R., El Sherbini, S. M., Sloma, I., Ramasawmy, R., Brun, M., Dulphy, N., Krishnamoorthy, R., Toubert, A., Charron, D., Abbadi, M. C., & Tamouza, R. (2005). Early-Onset Ankylosing Spondylitis Is Associated With a Functional MICA Polymorphism. *Human Immunology*, *66*(10), 1057-1061. https://doi.org/10.1016/j.humimm.2005.09.004

Arentz-Hansen, H., Fleckenstein, B., Molberg, Ø., Scott, H., Koning, F., Jung, G., Roepstorff, P., Lundin, K. E. A., & Sollid, L. M. (2004). The Molecular Basis for Oat Intolerance in Patients with Celiac Disease. *PLOS Medicine*, *1*(1), e1. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0010001

Arentz-Hansen, H., Körner, R., Molberg, Ø., Quarsten, H., Vader, W., Kooy, Y. M. C., Lundin, K. E. A., Koning, F., Roepstorff, P., Sollid, L. M., & McAdam, S. N. (2000). The Intestinal T Cell Response to α-Gliadin in Adult Celiac Disease Is Focused on a Single Deamidated Glutamine Targeted by Tissue Transglutaminase. *Journal of Experimental Medicine*, *191*(4), 603-612. https://doi.org/10.1084/jem.191.4.603

Arentz–Hansen, H., Mcadam, S. N., Molberg, Ø., Fleckenstein, B., Lundin, K. E. A., Jørgensen, T. J. D., Jung, G., Roepstorff, P., & Sollid, L. M. (2002). Celiac lesion T cells recognize epitopes that cluster in regions of gliadins rich in proline residues. *Gastroenterology*, *123*(3), 803-809. https://doi.org/10.1053/gast.2002.35381

B

B, D., A, M., M, F.-A., C, M., I, P., Ma, F., Eg, de la C., E, U., & C, N. (2009). The IL6-174G/C polymorphism is associated with celiac disease susceptibility in girls. *Human Immunology*, *70*(3). https://doi.org/10.1016/j.humimm.2009.01.010

Babusikova, E., Jurecekova, J., Jesenak, M., & Evinova, A. (2017). Association of Gene Polymorphisms in Interleukin 6 in Infantile Bronchial Asthma. *Archivos de Bronconeumología (English Edition)*, *53*(7), 381-386. https://doi.org/10.1016/j.arbr.2016.11.006

Baharvand, P., Hormozi, M., & Aaliehpour, A. (2020). Comparison of thyroid disease prevalence in patients with celiac disease and controls. *Gastroenterology and Hepatology From Bed to Bench*, *13*(1), 44-49.

Bahram, S., Bresnahan, M., Geraghty, D., & Spies, T. (1994). A second lineage of mammalian major histocompatibility complex class I genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *91*(14), 6259-6263. https://doi.org/10.1073/pnas.91.14.6259

Balakireva, A. V., & Zamyatnin, A. A. (2016). Properties of Gluten Intolerance: Gluten Structure, Evolution, Pathogenicity and Detoxification Capabilities. *Nutrients*, *8*(10), Article 10. https://doi.org/10.3390/nu8100644

Barartabar, Z., Nikzamir, A., Sirati-Sabet, M., Aghamohammadi, E., Chaleshi, V., Rostami Nejad, M., Asadzadeh-Aghdaei, H., & Reza Zali, M. (2018). The relationship between 174 G/C and -572 G/C of IL-6 gene polymorphisms and susceptibility of celiac disease in the Iranian population. *Gastroenterology Review*, *13*(4), 293-298. https://doi.org/10.5114/pg.2018.79808

Bardi, R., Ju, L. Y., Jenhani, S., Ayed, K., Chammakhi, S., & Charron, D. (1991). Association of type 1 diabetes mellitus with the HLA-DQA1∗0301 allele in a Tunisian population. *Research in Immunology*, *142*(3), 211-216. https://doi.org/10.1016/0923-2494(91)90060-V

Barisani, D., Ceroni, S., Meneveri, R., Cesana, B. M., & Bardella, M. T. (2006). IL-10 polymorphisms are associated with early-onset celiac disease and severe mucosal damage in patients of Caucasian origin. *Genetics in Medicine*, *8*(3), Article 3. https://doi.org/10.1097/01.gim.0000204464.87540.39

Barre, A., Delplanque, A., Simplicien, M., Benoist, H., & Rougé, P. (2017). Sécurité du maïs pour les patients souffrant de maladie cœliaque ? *Revue Française d'Allergologie*, *57*(5), 375-381. https://doi.org/10.1016/j.reval.2017.06.001

Barret, M., Rahmi, G., Malamut, G., Samaha, E., Abbes, L., & Cellier, C. (2014). Évaluation endoscopique des patients atteints de maladie coeliaque. *Acta Endoscopica*, *44*(3), 82-88. https://doi.org/10.1007/s10190-013-0363-8

Barrett, S., Collins, M., Kenny, C., Ryan, E., Keane, C. o., & Crowe, J. (2003). Polymorphisms in tumour necrosis factor-α, transforming growth factor-β,

interleukin-10, interleukin-6, interferon-γ, and outcome of hepatitis C virus infection. *Journal of Medical Virology*, *71*(2), 212-218. https://doi.org/10.1002/jmv.10472

Bascuñán, K. A., Vespa, M. C., & Araya, M. (2017). Celiac disease: Understanding the gluten-free diet. *European Journal of Nutrition*, *56*(2), 449-459. https://doi.org/10.1007/s00394-016-1238-5

Belanteur, K., & Attal, N. (2019). *Etude immunogénétique de la maladie coeliaque dans une population algérienne : Etude Cas-Témoins* [Thesis]. https://doi.org/10/A/2019/9

Benmamar, D., Martinez-Laso, J., Varela, P., Bekhoucha, F., Morales, P., & Arnaiz-Villena, A. (1993). Evolutionary relationships of HLA-DR8 alleles and description of a new subtype (DRB1∗0806) in the Algerian population. *Human Immunology*, *36*(3), 172-178. https://doi.org/10.1016/0198-8859(93)90122-H

Bessahraoui, M., Nedjadi, K. B., Naceur, M., Niar, S., Bouchetara, A., Bouhamidi, M., Benmensour, A., Boudraa, G., & Touhami, M. (2008). Frequence De La Maladie Coeliaque De L'enfant Dans L'ouest Algerien. *Archives of Disease in Childhood*, *93*(Suppl 2), ps75-ps75.

Bethune, M. T., Siegel, M., Howles-Banerji, S., & Khosla, C. (2009). Interferon-γ Released by Gluten-Stimulated Celiac Disease-Specific Intestinal T Cells Enhances the Transepithelial Flux of Gluten Peptides. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *329*(2), 657-668. https://doi.org/10.1124/jpet.108.148007

Bhagat, G., Naiyer, A. J., Shah, J. G., Harper, J., Jabri, B., Wang, T. C., Green, P. H. R., & Manavalan, J. S. (2008). Small intestinal CD8+TCRγδ+NKG2A+ intraepithelial lymphocytes have attributes of regulatory cells in patients with celiac disease. *Journal of Clinical Investigation*, *118*(1), 281-293. https://doi.org/10.1172/JCI30989

Bigare, M.-A. (2016). *La maladie cœliaque de l'adulte : Pourquoi et quand la dépister ? Une revue de la littérature*. https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01508657

Boetsch, G., & Gibert, M. (2000). HLA. *Encyclopédie berbère*, *23*, Article 23. https://doi.org/10.4000/encyclopedieberbere.1599

Bolognesi, E., Karell, K., Percopo, S., Coto, I., Greco, L., Mantovani, V., Suoraniemi, E., Partanen, J., Mustalahti, K., Mäki, M., & Momigliano-Richiardi, P. (2003). Additional factor in some HLA DR3/DQ2 haplotypes confers a fourfold increased genetic risk of celiac disease. *Tissue Antigens*, *61*(4), 308-316. https://doi.org/10.1034/j.1399-0039.2003.00028.x

Boukezoula, F., Abla, K., & Zidoune, M. N.-E. (2015). La maladie coeliaque à Tébessa (Algérie) : Evolution de la prévalence entre 2000 et 2014. *Annales des sciences de la santé*, *1*(1), Article 1.

Boukezoula, F., Saoussene, S., & MNE, Z. (2018). Prevalence of Anemia in a Population with Celiac Disease in Tébessa (Algeria). *International Journal of Nutritional Sciences*, *3*, 1-4.

Boukezoula, F., Smaali, S., & Zidoune, M. (2018). *Prevalence of Anemia in a Population with Celiac Disease in Tébessa (Algeria)*. 5.

Bousquet, A. (2015). *La maladie cœliaque, du diagnostic à sa prise en charge : Un nouvel espoir thérapeutique?*

Boutaleb, A. F. (2015). *Maladie coeliaque de l'adulte formes atypiques et extra-intentinales* [Université d'Alger1 Departement de Medecine]. https://www.ccdz.cerist.dz/admin/notice.php?id=000000000000000819983000632

Bouziat, R., Hinterleitner, R., J.Brown, J., Stencel-Baerenwald, J. E., Ikizler, M., Mayassi, T., Meisel, M., Kim, S. M., Discepolo, V., Pruijssers, A. J., Ernest, J. D., Iskarpatyoti, J. A., Costes, L. M. M., Lawrence, I., Palanski, B. A., Varma, M., Zurenski, M. A., Khomandiak, S., McAllister, N., … Jabri, B. (2017). Reovirus infection triggers inflammatory responses to dietary antigens and development of celiac disease. *Science*, *356*(6333), 44-50. https://doi.org/10.1126/science.aah5298

Brandtzaeg, P., Kiyono, H., Pabst, R., & Russell, M. W. (2008). Terminology: Nomenclature of mucosa-associated lymphoid tissue. *Mucosal Immunology*, *1*(1), Article 1. https://doi.org/10.1038/mi.2007.9

Braud, V., Yvonne Jones, E., & McMichael, A. (1997). The human major histocompatibility complex class Ib molecule HLA-E binds signal sequence-derived peptides with primary anchor residues at positions 2 and 9. *European Journal of Immunology*, *27*(5), 1164-1169. https://doi.org/10.1002/eji.1830270517

Brett, P. M., Yiannakou, J. Y., Morris, M. A., Vaughan, R., Curtis, D., & Ciclitira, P. J. (1999). Common HLA alleles, rather than rare mutants, confer susceptibility to coeliac disease. *Annals of Human Genetics*, *63*(Pt 3), 217-225. https://doi.org/10.1046/j.1469-1809.1999.6330217.x

Bruneau, J., Cheminant, M., Khater, S., Canioni, D., Sibon, D., Trinquand, A., Macintyre, E., Hermine, O., Cerf-Bensussan, N., Cellier, C., Malamut, G., & Jo Molina, T. (2018). Rôle du pathologiste dans le diagnostic de la maladie cœliaque et de ses complications. *Revue Francophone des Laboratoires*, *2018*(498), 30-38. https://doi.org/10.1016/S1773-035X(18)30022-4

C

Caio, G., & Volta, U. (2012). Coeliac disease : Changing diagnostic criteria? *Gastroenterology and Hepatology From Bed to Bench*, *5*(3), 119-122.

Caminero, A., Meisel, M., Jabri, B., & Verdu, E. F. (2019). Mechanisms by which gut microorganisms influence food sensitivities. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, *16*(1), Article 1. https://doi.org/10.1038/s41575-018-0064-z

Castro-Antunes, M. M., Magalhães, R., Nobre, J. M. M., Duarte, B. P., & Silva, G. A. P. (2010). Celiac disease in first-degree relatives of patients. *Jornal de Pediatria*, *86*, 331-336. https://doi.org/10.1590/S0021-75572010000400014

Castro-Antunes, M. M., Magalhães, R., Nobre, J. M. M., Silva, B. P., & Silva, G. A. P. (2010). Celiac disease in first-degree relatives of patients. *Jornal de Pediatria*, *86*(4), 331-336. https://doi.org/10.2223/JPED.2013

Catassi, C., Rätsch, I. M., Gandolfi, L., Pratesi, R., Fabiani, E., El Asmar, R., Frijia, M., Bearzi, I., & Vizzoni, L. (1999). Why is coeliac disease endemic in the people of the Sahara? *Lancet (London, England)*, *354*(9179), 647-648. https://doi.org/10.1016/s0140-6736(99)02609-4

Cellier, C., Patey, N., Mauvieux, L., Jabri, B., Delabesse, E., Cervoni, J., Burtin, M., Guy–Grand, D., Bouhnik, Y., Modigliani, R., Barbier, J., Macintyre, E., Brousse, N., & Cerf–Bensussan, N. (1998). Abnormal intestinal intraepithelial lymphocytes in refractory sprue. *Gastroenterology*, *114*(3), 471-481. https://doi.org/10.1016/S0016-5085(98)70530-X

Cenit, M. C., Olivares, M., Codoñer-Franch, P., & Sanz, Y. (2015). Intestinal Microbiota and Celiac Disease : Cause, Consequence or Co-Evolution? *Nutrients*, *7*(8), Article 8. https://doi.org/10.3390/nu7085314

Cerf-Bensussan, N. (2022). Maladie cœliaque : De la pathogénie aux perspectives thérapeutiques. *Perfectionnement en Pédiatrie*, *5*(3), 235-236. https://doi.org/10.1016/j.perped.2022.07.014

Cerf-Bensussan, N., & Jabri, B. (2001). La maladie cœliaque : Une maladie auto-immune induite par un antigène alimentaire. *médecine/sciences*, *17*(11), Article 11. https://doi.org/10.1051/medsci/200117111129

Cerf-Bensussan, N., Jarry, A., Brousse, N., Lisowska-Grospierre, B., Guy-Grand, D., & Griscelli, C. (1987). A monoclonal antibody (HML-1) defining a novel membrane molecule present on human intestinal lymphocytes. *European Journal of Immunology*, *17*(9), 1279-1285. https://doi.org/10.1002/eji.1830170910

Chalaris, A., Garbers, C., Rabe, B., Rose-John, S., & Scheller, J. (2011). The soluble Interleukin 6 receptor: Generation and role in inflammation and cancer. *European Journal of Cell Biology*, *90*(6), 484-494. https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2010.10.007

Chieppa, M., Rescigno, M., Huang, A. Y. C., & Germain, R. N. (2006). Dynamic imaging of dendritic cell extension into the small bowel lumen in response to epithelial cell TLR engagement. *Journal of Experimental Medicine*, *203*(13), 2841-2852. https://doi.org/10.1084/jem.20061884

Chorzelski, T. P., Sulej, J., Tchorzewska, H., Jablonska, S., Beutner, E. H., & Kumar, V. (1983). IgA class endomysium antibodies in dermatitis herpetiformis and coeliac disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *420*, 325-334. https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1983.tb22220.x

Clot, F., & Babron, M.-C. (2000). Genetics of Celiac Disease. *Molecular Genetics and Metabolism*, *71*(1), 76-80. https://doi.org/10.1006/mgme.2000.3045

Collin, P., Mäki, M., Keyriläinen, O., Hällström, O., Reunala, T., & Pasternack, A. (1992). Selective IgA Deficiency and Coeliac Disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, *27*(5), 367-371. https://doi.org/10.3109/00365529209000089

Corazza, G. R., & Gasbarrini, G. (1995). 7 Coeliac disease in adults. *Baillière's Clinical Gastroenterology*, *9*(2), 329-350. https://doi.org/10.1016/0950-3528(95)90034-9

Cosnes, J., & Nion-Larmurier, I. (2013). Les complications de la maladie cœliaque. *PDathologie Biologie*, *61*(2), e21-e26. https://doi.org/10.1016/j.patbio.2011.03.004

Costil, V., Morin, M.-C., L'équipe diététique de l'hôpital Lariboisière, Létard, J.-C., Tarrerias, A.-L., Devulder, F., Houcke, P., Gay, G., Canard, J.-M., Coulom, P., Pingannaud, M.-P., Bonnaud, G., Boustière, C., Constantini, D., Helbert, T., Lapuelle, J., Lévy, P., Papazian, A., & Richard-Molard, B. (2012). Régime sans gluten. *Hegel*, *4*(4), 33-38. https://doi.org/10.4267/2042/48711

Czerucka, D. (2021). *Dialogue entre le microbiote intestinal et les réponses immunitaires de l'hôte pour lutter contre les infections*. Biocodex Microbiota Institute. https://www.biocodexmicrobiotainstitute.com/fr/pro/dialogue-entre-le-microbiote-intestinal-et-les-reponses-immunitaires-de-lhote-pour-lutter-contre-les

D

de la Concha, E. G., Fernández-Arquero, M., Vigil, P., Rubio, A., Maluenda, C., Polanco, I., Fernandez, C., & Figueredo, M. A. (2000). Celiac disease and TNF promoter polymorphisms. *Human Immunology*, *61*(5), 513-517. https://doi.org/10.1016/S0198-8859(99)00187-1

de Albuquerque Maranhão, R. M., Martins Esteves, F. A., Crovella, S., Segat, L., & Eleutério Souza, P. R. (2015). Tumor necrosis factor-α and interleukin-6 gene polymorphism association with susceptibility to celiac disease in Italian patients. *Genetics and Molecular Research: GMR*, *14*(4), 16343-16352. https://doi.org/10.4238/2015.December.9.2

Dema, B., Martínez, A., Fernández-Arquero, M., Maluenda, C., Polanco, I., Figueredo, M. A., de la Concha, E. G., Urcelay, E., & Núñez, C. (2009). The IL6-174G/C polymorphism is associated with celiac disease susceptibility in girls. *Human Immunology*, *70*(3), 191-194. https://doi.org/10.1016/j.humimm.2009.01.010

Derrieux, C., Trinquand, A., Bruneau, J., Verkarre, V., Lhermitte, L., Alcantara, M., Villarese, P., Meresse, B., Sibon, D., Hermine, O., Brousse, N., Molina, T., Cellier, C., Cerf-Bensussan, N., Malamut, G., & Macintyre, E. (2019). A Single-Tube, EuroClonality-Inspired, TRG Clonality Multiplex PCR Aids Management of Patients with Enteropathic Diseases, including from Formaldehyde-Fixed, Paraffin-Embedded Tissues. *The Journal of Molecular Diagnostics: JMD*, *21*(1), 111-122. https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2018.08.006

Dewar, D. H., Donnelly, S. C., McLaughlin, S. D., Johnson, M. W., Ellis, H. J., & Ciclitira, P. J. (2012). Celiac disease : Management of persistent symptoms in patients on a

gluten-free diet. *World Journal of Gastroenterology : WJG*, *18*(12), 1348-1356. https://doi.org/10.3748/wjg.v18.i12.1348

Di Niro, R., Mesin, L., Zheng, N.-Y., Stamnaes, J., Morrissey, M., Lee, J.-H., Huang, M., Iversen, R., du Pré, M. F., Qiao, S.-W., Lundin, K. E. A., Wilson, P. C., & Sollid, L. M. (2012). High abundance of plasma cells secreting transglutaminase 2–specific IgA autoantibodies with limited somatic hypermutation in celiac disease intestinal lesions. *Nature Medicine*, *18*(3), Article 3. https://doi.org/10.1038/nm.2656

Dicke, W. K., Weijers, H. A., & Kamer, J. H. v. D. (1953). Coeliac Disease The Presence in Wheat of a Factor Having a Deleterious Effect in Cases of Coeliac Disease. *Acta Paediatrica*, *42*(1), 34-42. https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.1953.tb05563.x

Dickey, W., & Kearney, N. (2006). Overweight in Celiac Disease : Prevalence, Clinical Characteristics, and Effect of a Gluten-Free Diet. *The American Journal of Gastroenterology*, *101*(10), 2356-2359. https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2006.00750.x

Dieterich, W., Laag, E., Schöpper, H., Volta, U., Ferguson, A., Gillett, H., Riecken, E. O., & Schuppan, D. (1998). Autoantibodies to tissue transglutaminase as predictors of celiac disease. *Gastroenterology*, *115*(6), 1317-1321. https://doi.org/10.1016/s0016-5085(98)70007-1

Dixit, R., Lebwohl, B., Ludvigsson, J. F., Lewis, S. K., Rizkalla-Reilly, N., & Green, P. H. R. (2014). Celiac Disease Is Diagnosed Less Frequently in Young Adult Males. *Digestive Diseases and Sciences*, *59*(7), 1509-1512. https://doi.org/10.1007/s10620-014-3025-6

Djoulah, S., Sanchez-Mazas, A., Khalil, I., Benhamamouch, S., Degos, L., Deschamps, I., & Hors, J. (1994). HLA-DRB1, DQA1 and DQB1 DNA polymorphisms in healthy Algerian and genetic relationships with other populations. *Tissue Antigens*, *43*(2), 102-109. https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.1994.tb02308.x

Doya, L. J., Naamah, M., Karkamaz, N., Hajo, N., Bijow, F. W., Ibrahim, A., & Issa, R. (2021). An unusual case of chronic abdominal pain : An association between Celiac disease and Crohn's disease. *Oxford Medical Case Reports*, *2021*(4), omab008. https://doi.org/10.1093/omcr/omab008

Dubois, P. C. A., Trynka, G., Franke, L., Hunt, K. A., Romanos, J., Curtotti, A., Zhernakova, A., Heap, G. A. R., Adány, R., Aromaa, A., Bardella, M. T., van den Berg, L. H., Bockett, N. A., de la Concha, E. G., Dema, B., Fehrmann, R. S. N., Fernández-Arquero, M., Fiatal, S., Grandone, E., … van Heel, D. A. (2010). Multiple common variants for celiac disease influencing immune gene expression. *Nature Genetics*, *42*(4), 295-302. https://doi.org/10.1038/ng.543

E

El Mehadji, D. zad, Zemri, K., Mehida, H., Harir, N., Yekrou, D., Nedjadi, K. B., Latroch, C., Ouali, S., & Benaissa, Z. (2020). Epidemiological, Clinical, Histological, Serological and Therapeutic Study of Children Celiac Disease in Western Algeria Region. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, *10*(5), 6-10. https://doi.org/10.22270/jddt.v10i5.4344

Escudero-Hernández, C., Plaza-Izurieta, L., Garrote, J. A., Bilbao, J. R., & Arranz, E. (2017). Association of the IL-15 and IL-15Rα genes with celiac disease. *Cytokine*, *99*, 73-79. https://doi.org/10.1016/j.cyto.2017.07.009

Espinoza-Herrera, J., Martínez, L. M., Serna-Saldívar, S. O., & Chuck-Hernández, C. (2021). Methods for the Modification and Evaluation of Cereal Proteins for the Substitution of Wheat Gluten in Dough Systems. *Foods*, *10*(1), Article 1. https://doi.org/10.3390/foods10010118

F

Fabris, A., Segat, L., Catamo, E., Morgutti, M., Vendramin, A., & Crovella, S. (2011). HLA-G 14 bp Deletion/Insertion Polymorphism in Celiac Disease. *Official Journal of the American College of Gastroenterology | ACG*, *106*(1), 139. https://doi.org/10.1038/ajg.2010.340

Falchuk, Z. M., Rogentine, G. N., & Strober, W. (1972a). Predominance of histocompatibility antigen HL-A8 in patients with gluten-sensitive enteropathy. *The Journal of Clinical Investigation*, *51*(6), 1602-1605. https://doi.org/10.1172/JCI106958

Falchuk, Z. M., Rogentine, G. N., & Strober, W. (1972b). Predominance of histocompatibility antigen HL-A8 in patients with gluten-sensitive enteropathy. *The Journal of Clinical Investigation*, *51*(6), 1602-1605. https://doi.org/10.1172/JCI106958

Faria, A. M. C., & Weiner, H. L. (2005). Oral tolerance. *Immunological Reviews*, *206*(1), 232-259. https://doi.org/10.1111/j.0105-2896.2005.00280.x

Farrell, R. J., & Kelly, C. P. (2002a). Celiac Sprue. *New England Journal of Medicine*, *346*(3), 180-188. https://doi.org/10.1056/NEJMra010852

Farrell, R. J., & Kelly, C. P. (2002b). Celiac sprue. *The New England Journal of Medicine*, *346*(3), 180-188. https://doi.org/10.1056/NEJMra010852

Fasano, A. (2005). Clinical presentation of celiac disease in the pediatric population. *Gastroenterology*, *128*(4 Suppl 1), S68-73. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2005.02.015

Fasano, A., & Catassi, C. (2005). Coeliac disease in children. *Best Practice & Research. Clinical Gastroenterology*, *19*(3), 467-478. https://doi.org/10.1016/j.bpg.2005.01.008

Ferguson, A., & Murray, D. (1971). Quantitation of intraepithelial lymphocytes in human jejunum. *Gut*, *12*(12), 988-994. https://doi.org/10.1136/gut.12.12.988

Fishman, D., Faulds, G., Jeffery, R., Mohamed-Ali, V., Yudkin, J. S., Humphries, S., & Woo, P. (1998). The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *The Journal of Clinical Investigation*, *102*(7), 1369-1376. https://doi.org/10.1172/JCI2629

Forkel, M., & Mjösberg, J. (2016). Dysregulation of Group 3 Innate Lymphoid Cells in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. *Current Allergy and Asthma Reports*, *16*(10), 73. https://doi.org/10.1007/s11882-016-0652-3

Francavilla, R., Ercolini, D., Piccolo, M., Vannini, L., Siragusa, S., De Filippis, F., De Pasquale, I., Di Cagno, R., Di Toma, M., Gozzi, G., Serrazanetti, D. I., De Angelis, M., & Gobbetti, M. (2014). Salivary Microbiota and Metabolome Associated with Celiac Disease. *Applied and Environmental Microbiology*, *80*(11), 3416-3425. https://doi.org/10.1128/AEM.00362-14

Frexinos, J., & Buscail, L. (2004). *Hépato-gastro-entérologie proctologie : Pour le praticien*. Elsevier Masson.

Fukata, M., Vamadevan, A. S., & Abreu, M. T. (2009). Toll-like receptors (TLRs) and Nod-like receptors (NLRs) in inflammatory disorders. *Seminars in Immunology*, *21*(4), 242-253. https://doi.org/10.1016/j.smim.2009.06.005

G

Gaboriau-Routhiau, V., & Cerf-Bensussan, N. (2016). Microbiote intestinal et développement du système immunitaire. *médecine/sciences*, *32*(11), Article 11. https://doi.org/10.1051/medsci/20163211011

Gabriel, S., Ziaugra, L., & Tabbaa, D. (2009). SNP Genotyping Using the Sequenom MassARRAY iPLEX Platform. *Current Protocols in Human Genetics*, *60*(1), 2.12.1-2.12.18. https://doi.org/10.1002/0471142905.hg0212s60

Galli, G., Esposito, G., Lahner, E., Pilozzi, E., Corleto, V. D., Di Giulio, E., Aloe Spiriti, M. A., & Annibale, B. (2014). Histological recovery and gluten-free diet adherence : A prospective 1-year follow-up study of adult patients with coeliac disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, *40*(6), 639-647. https://doi.org/10.1111/apt.12893

Garnier-Lengliné, H., Malamut, G., Cerf-Bensussan, N., & Ruemmele, F. M. (2013). [Treatment perspectives]. *Pathologie-Biologie*, *61*(3), e61-64. https://doi.org/10.1016/j.patbio.2011.03.008

Garrote, J. A., Arranz, E., Gómez-González, E., León, A. J., Farré, C., Calvo, C., Bernardo, D., Fernández-Salazar, L., & Blanco-Quirós, A. (2005). IL6, IL10 and TGFB1 gene polymorphisms in coeliac disease : Differences between DQ2 positive and negative patients. *Allergologia et Immunopathologia*, *33*(5), 245-249. https://doi.org/10.1157/13080926

Gasbarrini, G., Miele, L., Corazza, G. R., & Gasbarrini, A. (2010). When Was Celiac Disease Born? : The Italian Case From the Archeologic Site of Cosa. *Journal of Clinical Gastroenterology*, *44*(7), 502. https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e3181d345a5

Gelinas, A. D., Davies, D. R., Edwards, T. E., Rohloff, J. C., Carter, J. D., Zhang, C., Gupta, S., Ishikawa, Y., Hirota, M., Nakaishi, Y., Jarvis, T. C., & Janjic, N. (2014). Crystal Structure of Interleukin-6 in Complex with a Modified Nucleic Acid Ligand. *Journal of Biological Chemistry*, *289*(12), 8720-8734. https://doi.org/10.1074/jbc.M113.532697

Gkt, H., & A, M. (2018). Mortality in coeliac disease : A population-based cohort study from a single centre in Southern Derbyshire, UK. *BMJ Open Gastroenterology*, *5*(1). https://doi.org/10.1136/bmjgast-2018-000201

Godat, S., Velin, D., Aubert, V., Nydegger, A., Schoepfer, A., & Maillard, M. (2013). Maladie cœliaque : État des lieux. *Revue médicale suisse*, *9*, 1584-1589.

Goto, Y., & Kiyono, H. (2012). Epithelial barrier : An interface for the cross-communication between gut flora and immune system. *Immunological Reviews*, *245*(1), 147-163. https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2011.01078.x

Green, P. H. R., & Cellier, C. (2007). Celiac Disease. *New England Journal of Medicine*, *357*(17), 1731-1743. https://doi.org/10.1056/NEJMra071600

Groh, V., Bahram, S., Bauer, S., Herman, A., Beauchamp, M., & Spies, T. (1996). Cell stress-regulated human major histocompatibility complex class I gene expressed in gastrointestinal epithelium. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *93*(22), 12445-12450. https://doi.org/10.1073/pnas.93.22.12445

Guandalini, S., & Assiri, A. (2014). Celiac Disease: A Review. *JAMA Pediatrics*, *168*(3), 272-278. https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2013.3858

H

HAAS, S. V. (1924). THE VALUE OF THE BANANA IN THE TREATMENT OF CELIAC DISEASE. *American Journal of Diseases of Children*, *28*(4), 421-437. https://doi.org/10.1001/archpedi.1924.04120220017004

Hadjivassiliou, M., Gibson, A., Davies-Jones, G. A. B., Lobo, A. J., Stephenson, T. J., & Milford-Ward, A. (1996). Does cryptic gluten sensitivity play a part in neurological illness? *The Lancet*, *347*(8998), 369-371. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(96)90540-1

Hahn, A., Thiessen, N., Pabst, R., Buettner, M., & Bode, U. (2010). Mesenteric lymph nodes are not required for an intestinal immunoglobulin A response to oral cholera toxin. *Immunology*, *129*(3), 427-436. https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2009.03197.x

Hayat, M., Cairns, A., Dixon, M. F., & O'Mahony, S. (2002). Quantitation of intraepithelial lymphocytes in human duodenum: What is normal? *Journal of Clinical Pathology*, *55*(5), 393-394.

Heap, G. A., & van Heel, D. A. (2009). Genetics and pathogenesis of coeliac disease. *Seminars in Immunology*, *21*(6), 346-354. https://doi.org/10.1016/j.smim.2009.04.001

HEINRICH, P. C., BEHRMANN, I., HAAN, S., HERMANNS, H. M., MÜLLER-NEWEN, G., & SCHAPER, F. (2003). Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. *Biochemical Journal*, *374*(1), 1-20. https://doi.org/10.1042/bj20030407

Hervonen, K., Karell, K., Holopainen, P., Collin, P., Partanen, J., & Reunala, T. (2000). Concordance of Dermatitis Herpetiformis and Celiac Disease in Monozygous Twins. *Journal of Investigative Dermatology*, *115*(6), 990-993. https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.2000.00172.x

Hiby, S. e., King, A., Sharkey, A., & Loke, Y. w. (1999). Molecular studies of trophoblast HLA-G: Polymorphism, isoforms, imprinting and expression in preimplantation embryo. *Tissue Antigens*, *53*(1), 1-13. https://doi.org/10.1034/j.1399-0039.1999.530101.x

Hill, I. (2004). NIH Consensus Development Conference on Celiac Disease. *Bethesda: US National Institutes of Health*, 27-31.

Hill, I. D., Dirks, M. H., Liptak, G. S., Colletti, R. B., Fasano, A., Guandalini, S., Hoffenberg, E. J., Horvath, K., Murray, J. A., Pivor, M., & Seidman, E. G. (2005a). Guideline for the Diagnosis and Treatment of Celiac Disease in Children : Recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, *40*(1), 1.

Hill, I. D., Dirks, M. H., Liptak, G. S., Colletti, R. B., Fasano, A., Guandalini, S., Hoffenberg, E. J., Horvath, K., Murray, J. A., Pivor, M., & Seidman, E. G. (2005b). Guideline for the Diagnosis and Treatment of Celiac Disease in Children : Recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, *40*(1), 1-19.

Hirano, T., Taga, T., Matsuda, T., Hibi, M., Suematsu, S., Tang, B., Murakami, M., & Kishimoto, T. (1990). Interleukin 6 and its receptor in the immune response and hematopoiesis. *The International Journal of Cell Cloning*, *8*(S1), 155-167. https://doi.org/10.1002/stem.5530080714

Hofmann, S. R., Laass, M. W., Fehrs, A., Schuppan, D., Zevallos, V. F., Salminger, D., Mäbert, K., & Hedrich, C. M. (2018). IL10 promoter haplotypes may contribute to altered cytokine expression and systemic inflammation in celiac disease. *Clinical Immunology*, *190*, 15-21. https://doi.org/10.1016/j.clim.2018.02.010

Holopainen, P., Arvas, M., Sistonen, P., Mustalahti, K., Collin, P., Mäki, M., & Partanen, J. (1999). CD28/CTLA4 gene region on chromosome 2q33 confers genetic susceptibility to celiac disease. A linkage and family-based association study. *Tissue Antigens*, *53*(5), 470-475. https://doi.org/10.1034/j.1399-0039.1999.530503.x

Hong, D. S., Angelo, L. S., & Kurzrock, R. (2007). Interleukin-6 and its receptor in cancer. *Cancer*, *110*(9), 1911-1928. https://doi.org/10.1002/cncr.22999

Horwitz, D. A., Fahmy, T. M., Piccirillo, C. A., & La Cava, A. (2019). Rebalancing Immune Homeostasis to Treat Autoimmune Diseases. *Trends in Immunology*, *40*(10), 888-908. https://doi.org/10.1016/j.it.2019.08.003

Houissa, R., Gueguen, A., Chadli, A., Ben Aissa, R., Hors, J., & Salmon, D. (1981). Les marqueurs HLA dans une population tunisienne. *Revue Française de Transfusion et Immuno-hématologie*, *24*(2), 163-168. https://doi.org/10.1016/S0338-4535(81)80039-6

Houngbadji, M. S. (2018). MALADIE CŒLIAQUE DE L'ENFANT : A PROPOS D'UN CAS. *Revue Africaine et Malgache de Recherche Scientifique/Sciences de la Santé*, *5*(2), Article 2. http://publication.lecames.org/index.php/sante/article/view/1252

Hovhannisyan, Z., Weiss, A., Martin, A., Wiesner, M., Tollefsen, S., Yoshida, K., Ciszewski, C., Curran, S. A., Murray, J. A., David, C. S., Sollid, L. M., Koning, F., Teyton, L., & Jabri, B. (2008). The role of HLA-DQ8 β57 polymorphism in the anti-gluten T-cell response in coeliac disease. *Nature*, *456*(7221), Article 7221. https://doi.org/10.1038/nature07524

I

Iliev, I. D., Mileti, E., Matteoli, G., Chieppa, M., & Rescigno, M. (2009). Intestinal epithelial cells promote colitis-protective regulatory T-cell differentiation through dendritic cell conditioning. *Mucosal Immunology*, *2*(4), Article 4. https://doi.org/10.1038/mi.2009.13

Ishihara, K., & Hirano, T. (2002). IL-6 in autoimmune disease and chronic inflammatory proliferative disease. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, *13*(4), 357-368. https://doi.org/10.1016/S1359-6101(02)00027-8

Iwasaki, A. (2007). Mucosal Dendritic Cells. *Annual Review of Immunology*, *25*(1), 381-418. https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.25.022106.141634

Iwasaki, A., & Kelsall, B. L. (2000). Localization of Distinct Peyer's Patch Dendritic Cell Subsets and Their Recruitment by Chemokines Macrophage Inflammatory Protein (Mip)-3α, Mip-3β, and Secondary Lymphoid Organ Chemokine. *Journal of Experimental Medicine*, *191*(8), 1381-1394. https://doi.org/10.1084/jem.191.8.1381

Iwasaki, A., & Kelsall, B. L. (2001). Unique Functions of CD11b+, CD8α+, and Double-Negative Peyer's Patch Dendritic Cells1. *The Journal of Immunology*, *166*(8), 4884-4890. https://doi.org/10.4049/jimmunol.166.8.4884

J

Jabri, B., De Serre, N. P., Cellier, C., Evans, K., Gache, C., Carvalho, C., Mougenot, J., Allez, M., Jian, R., Desreumaux, P., Colombel, J., Matuchansky, C., Cugnenc, H., Lopez–Botet, M., Vivier, E., Moretta, A., Roberts, A. I., Ebert, E. C., Guy–Grand, D., … Cerf–Bensussan, N. (2000). Selective expansion of intraepithelial

lymphocytes expressing the HLA-E–specific natural killer receptor CD94 in celiac disease. *Gastroenterology*, *118*(5), 867-879. https://doi.org/10.1016/S0016-5085(00)70173-9

Jabri, B., & Sollid, L. M. (2009). Tissue-mediated control of immunopathology in coeliac disease. *Nature Reviews Immunology*, *9*(12), Article 12. https://doi.org/10.1038/nri2670

Jaensson, E., Uronen-Hansson, H., Pabst, O., Eksteen, B., Tian, J., Coombes, J. L., Berg, P.-L., Davidsson, T., Powrie, F., Johansson-Lindbom, B., & Agace, W. W. (2008). Small intestinal CD103+ dendritic cells display unique functional properties that are conserved between mice and humans. *Journal of Experimental Medicine*, *205*(9), 2139-2149. https://doi.org/10.1084/jem.20080414

Jerrard-Dunne, P., Sitzer, M., Risley, P., Buehler, A., von Kegler, S., & Markus, H. S. (2004). Inflammatory Gene Load Is Associated With Enhanced Inflammation and Early Carotid Atherosclerosis in Smokers. *Stroke*, *35*(11), 2438-2444. https://doi.org/10.1161/01.STR.0000144681.46696.b3

Johansson-Lindbom, B., Svensson, M., Pabst, O., Palmqvist, C., Marquez, G., Förster, R., & Agace, W. W. (2005). Functional specialization of gut CD103+ dendritic cells in the regulation of tissue-selective T cell homing. *Journal of Experimental Medicine*, *202*(8), 1063-1073. https://doi.org/10.1084/jem.20051100

Junt, T., Scandella, E., & Ludewig, B. (2008). Form follows function : Lymphoid tissue microarchitecture in antimicrobial immune defence. *Nature Reviews Immunology*, *8*(10), Article 10. https://doi.org/10.1038/nri2414

K

Kalliomäki, M., Satokari, R., Lähteenoja, H., Vähämiko, S., Grönlund, J., Routi, T., & Salminen, S. (2012). Expression of Microbiota, Toll-like Receptors, and Their Regulators in the Small Intestinal Mucosa in Celiac Disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, *54*(6), 727-732. https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e318241cfa8

Kamada, N., Seo, S.-U., Chen, G. Y., & Núñez, G. (2013). Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease. *Nature Reviews Immunology*, *13*(5), Article 5. https://doi.org/10.1038/nri3430

Kang, J. Y., Kang, A. H. Y., Green, A., Gwee, K. A., & Ho, K. Y. (2013). Systematic review: Worldwide variation in the frequency of coeliac disease and changes over time. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, *38*(3), 226-245. https://doi.org/10.1111/apt.12373

Kang, S., Tanaka, T., Narazaki, M., & Kishimoto, T. (2019). Targeting Interleukin-6 Signaling in Clinic. *Immunity*, *50*(4), 1007-1023. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.03.026

Kapoor, A., Patwari, A. K., Kumar, P., Jain, A., & Narayan, S. (2013). Serum Soluble Interleukin-2 Receptor, Interleukin-6 and Tumor Necrosis Factor Alpha as Markers of Celiac Disease Activity. *The Indian Journal of Pediatrics*, *80*(2), 108-113. https://doi.org/10.1007/s12098-012-0830-9

Kaukinen, K., Collin, P., Laurila, K., Kaartinen, T., Partanen, J., & Mäki, M. (2007). Resurrection of gliadin antibodies in coeliac disease. Deamidated gliadin peptide antibody test provides additional diagnostic benefit. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, *42*(12), 1428-1433. https://doi.org/10.1080/00365520701452217

Kelsall, B. (2008). Recent progress in understanding the phenotype and function of intestinal dendritic cells and macrophages. *Mucosal Immunology*, *1*(6), Article 6. https://doi.org/10.1038/mi.2008.61

Kemppainen, T., Heikkinen, M., Ristikankare, M., Kosma, V.-M., & Julkunen, R. (2009). Effect of unkilned and large amounts of oats on nutritional state of celiac patients in remission. *E-SPEN, the European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism*, *4*(1), e30-e34. https://doi.org/10.1016/j.eclnm.2008.10.001

Keuning, J. J., Peña, A. S., Van Hooff, J. P., Van Leeuwen, A., & Van Rood, J. J. (1976). HLA-DW3 ASSOCIATED WITH CŒLIAC DISEASE. *The Lancet*, *307*(7958), 506-508. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(76)90294-4

Kishimoto, T. (2010). IL-6 : From its discovery to clinical applications. *International Immunology*, *22*(5), 347-352. https://doi.org/10.1093/intimm/dxq030

Kivelä, L., Kaukinen, K., Lähdeaho, M.-L., Huhtala, H., Ashorn, M., Ruuska, T., Hiltunen, P., Visakorpi, J., Mäki, M., & Kurppa, K. (2015a). Presentation of Celiac Disease in Finnish Children Is No Longer Changing : A 50-Year Perspective. *The Journal of Pediatrics*, *167*(5), 1109-1115.e1. https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2015.07.057

Kivelä, L., Kaukinen, K., Lähdeaho, M.-L., Huhtala, H., Ashorn, M., Ruuska, T., Hiltunen, P., Visakorpi, J., Mäki, M., & Kurppa, K. (2015b). Presentation of Celiac Disease in Finnish Children Is No Longer Changing: A 50-Year Perspective. *The Journal of Pediatrics*, *167*(5), 1109-1115.e1. https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2015.07.057

Korponay-Szabó, I. R., Dahlbom, I., Laurila, K., Koskinen, S., Woolley, N., Partanen, J., Kovács, J. B., Mäki, M., & Hansson, T. (2003). Elevation of IgG antibodies against tissue transglutaminase as a diagnostic tool for coeliac disease in selective IgA deficiency. *Gut*, *52*(11), 1567-1571. https://doi.org/10.1136/gut.52.11.1567

Kumar, V., Jarzabek-Chorzelska, M., Sulej, J., Karnewska, K., Farrell, T., & Jablonska, S. (2002). Celiac Disease and Immunoglobulin A Deficiency: How Effective Are the Serological Methods of Diagnosis? *Clinical and Vaccine Immunology*, *9*(6), 1295-1300. https://doi.org/10.1128/CDLI.9.6.1295-1300.2002

Kurashima, Y., Goto, Y., & Kiyono, H. (2013). Mucosal innate immune cells regulate both gut homeostasis and intestinal inflammation. *European Journal of Immunology*, *43*(12), 3108-3115. https://doi.org/10.1002/eji.201343782

L

Lamacchia, C., Camarca, A., Picascia, S., Di Luccia, A., & Gianfrani, C. (2014). Cereal-Based Gluten-Free Food: How to Reconcile Nutritional and Technological Properties of Wheat Proteins with Safety for Celiac Disease Patients. *Nutrients*, *6*(2), Article 2. https://doi.org/10.3390/nu6020575

Lamireau, T., & Clouzeau, H. (2013). Épidemiologie de la maladie cœliaque. *Pathologie Biologie*, *61*(2), e1-e4. https://doi.org/10.1016/j.patbio.2011.03.005

Lauret, E., & Rodrigo, L. (2013). Celiac Disease and Autoimmune-Associated Conditions. *BioMed Research International*, *2013*. https://doi.org/10.1155/2013/127589

Lecerf, J.-M., & DELZENNE, N. (2021). *Microbiote intestinal et santé humaine*. Elsevier Health Sciences.

Lee, S. (2010). *L'intestin grêle*. Société canadienne du cancer. https://cancer.ca/fr/cancer-information/cancer-types/small-intestine/what-is-small-intestine-cancer/the-small-intestine

Leffler, D. A., Dennis, M., Hyett, B., Kelly, E., Schuppan, D., & Kelly, C. P. (2007). Etiologies and Predictors of Diagnosis in Nonresponsive Celiac Disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, *5*(4), 445-450. https://doi.org/10.1016/j.cgh.2006.12.006

Leonard, M. M., Sapone, A., Catassi, C., & Fasano, A. (2017). Celiac Disease and Nonceliac Gluten Sensitivity: A Review. *JAMA*, *318*(7), 647-656. https://doi.org/10.1001/jama.2017.9730

Lepers, S., Couignoux, S., Colombel, J.-F., & Dubucquoi, S. (2004). La maladie cœliaque de l'adulte : Aspects nouveaux. *La Revue de Médecine Interne*, *25*(1), 22-34. https://doi.org/10.1016/j.revmed.2003.10.001

Li, X., Chai, W., Ni, M., Xu, M., Lian, Z., Shi, L., Bai, Y., & Wang, Y. (2014). The Effects of Gene Polymorphisms in Interleukin-4 and Interleukin-6 on the Susceptibility of Rheumatoid Arthritis in a Chinese Population. *BioMed Research International*, *2014*, e265435. https://doi.org/10.1155/2014/265435

Lionetti, E., & Catassi, C. (2015). The Role of Environmental Factors in the Development of Celiac Disease : What Is New? *Diseases*, *3*(4), Article 4. https://doi.org/10.3390/diseases3040282

Lohi, S., Mustalahti, K., Kaukinen, K., Laurila, K., Collin, P., Rissanen, H., Lohi, O., Bravi, E., Gasparin, M., Reunanen, A., & Mäki, M. (2007). Increasing prevalence of coeliac disease over time. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, *26*(9), 1217-1225. https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2007.03502.x

Losowsky, M. S. (2008). A History of Coeliac Disease. *Digestive Diseases*, *26*(2), 112-120. https://doi.org/10.1159/000116768

Louka, A. s., & Sollid, L. m. (2003). HLA in coeliac disease: Unravelling the complex genetics of a complex disorder. *Tissue Antigens*, *61*(2), 105-117. https://doi.org/10.1034/j.1399-0039.2003.00017.x

Lozupone, C. A., Stombaugh, J. I., Gordon, J. I., Jansson, J. K., & Knight, R. (2012). Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature*, *489*(7415), Article 7415. https://doi.org/10.1038/nature11550

Ludvigsson, J. F., Leffler, D. A., Bai, J. C., Biagi, F., Fasano, A., Green, P. H. R., Hadjivassiliou, M., Kaukinen, K., Kelly, C. P., Leonard, J. N., Lundin, K. E. A., Murray, J. A., Sanders, D. S., Walker, M. M., Zingone, F., & Ciacci, C. (2013). The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. *Gut*, *62*(1), 43-52. https://doi.org/10.1136/gutjnl-2011-301346

Ludvigsson, J. F., & Ludvigsson, J. (2001). Coeliac disease in the father affects the newborn. *Gut*, *49*(2), 169-175. https://doi.org/10.1136/gut.49.2.169

Lundin, K. E. A., Gjertsen, H. A., Scott, H., Sollid, L. M., & Thorsby, E. (1994). Function of DQ2 and DQ8 as HLA susceptibility molecules in celiac disease. *Human Immunology*, *41*(1), 24-27. https://doi.org/10.1016/0198-8859(94)90079-5

Lundin, K. E. A., & Wijmenga, C. (2015). Coeliac disease and autoimmune disease-genetic overlap and screening. *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology*, *12*(9), 507-515. https://doi.org/10.1038/nrgastro.2015.136

M

M, J.-M. (2017). Maladie cœliaque : Partenariat pour traitement ciblé. *Revue Francophone des Laboratoires*, *490*(2017), 11. https://doi.org/10.1016/S1773-035X(17)30058-8

Macpherson, A. J., & Smith, K. (2006). Mesenteric lymph nodes at the center of immune anatomy. *The Journal of Experimental Medicine*, *203*(3), 497-500. https://doi.org/10.1084/jem.20060227

Magalhaes, J. G., Tattoli, I., & Girardin, S. E. (2007). The intestinal epithelial barrier: How to distinguish between the microbial flora and pathogens. *Seminars in Immunology*, *19*(2), 106-115. https://doi.org/10.1016/j.smim.2006.12.006

Makharia, G. K., Baba, C. S., Khadgawat, R., Lal, S., Tevatia, M. S., Madan, K., & Dattagupta, S. (2007). Celiac disease: Variations of presentations in adults. *Indian Journal of Gastroenterology: Official Journal of the Indian Society of Gastroenterology*, *26*(4), 162-166.

Mäki, M., Mustalahti, K., Kokkonen, J., Kulmala, P., Haapalahti, M., Karttunen, T., Ilonen, J., Laurila, K., Dahlbom, I., Hansson, T., Höpfl, P., & Knip, M. (2003). Prevalence of Celiac disease among children in Finland. *The New England Journal of Medicine*, *348*(25), 2517-2524. https://doi.org/10.1056/NEJMoa021687

Makovicky, P., Makovicky, P., Caja, F., Rimarova, K., Samasca, G., & Vannucci, L. (2020). Celiac disease and gluten-free diet: Past, present, and future. *Gastroenterology and Hepatology From Bed to Bench*, *13*(1), 1-7.

Malamut, G. (2012a). La maladie cœliaque. *Médecine & Nutrition*, *48*(4), Article 4. https://doi.org/10.1051/mnut/201248402

Malamut, G. (2012b). La maladie cœliaque. *Médecine & Nutrition*, *48*(4), Article 4. https://doi.org/10.1051/mnut/201248402

Malamut, G., Meresse, B., Cellier, C., & Cerf-Bensussan, N. (2009). La maladie cœliaque en 2009 : Un futur sans régime ? *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, *33*(8), 635-647. https://doi.org/10.1016/j.gcb.2009.07.007

Maria Rescigno. (2010). Intestinal Dendritic Cells. *Advances in Immunology*, *107*, 109-138. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381300-8.00004-6

Mårild, K., Stephansson, O., Montgomery, S., Murray, J. A., & Ludvigsson, J. F. (2012). Pregnancy Outcome and Risk of Celiac Disease in Offspring: A Nationwide Case-Control Study. *Gastroenterology*, *142*(1), 39-45.e3. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.09.047

Marín, R., Ruiz-Cabello, F., Pedrinaci, S., Méndez, R., Jiménez, P., Geraghty, D. E., & Garrido, F. (2003). Analysis of HLA-E expression in human tumors. *Immunogenetics*, *54*(11), 767-775. https://doi.org/10.1007/s00251-002-0526-9

Marsh, M. N. (1992). Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine: A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity (‘celiac sprue’). *Gastroenterology*, *102*(1), 330-354.

Marsh, S. G. E., Albert, E. D., Bodmer, W. F., Bontrop, R. E., Dupont, B., Erlich, H. A., Fernández-Viña, M., Geraghty, D. E., Holdsworth, R., Hurley, C. K., Lau, M., Lee, K. W., Mach, B., Maiers, M., Mayr, W. R., Müller, C. R., Parham, P., Petersdorf, E. W., Sasazuki, T., … Trowsdale, J. (2010). Nomenclature for factors of the HLA system, 2010. *Tissue Antigens*, *75*(4), 291-455. https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2010.01466.x

Matysiak-Budnik, T., Cerf-Bensussan, N., & Cellier, C. (2006). Maladie cœliaque : Prise en charge initiale et suivi. *Hépato-Gastro & Oncologie Digestive*, *13*(5), 369-377.

McDevitt, H. (1995). Evolution of MHC Class II Allelic Diversity. *Immunological Reviews*, *143*(1), 113-122. https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.1995.tb00672.x

McManus, R., Moloney, M., Borton, M., Finch, A., Chuan, Y.-T., Lawlor, E., Weir, D. G., & Kelleher, D. (1996). Association of celiac disease with microsatellite polymorphisms close to the tumor necrosis factor genes. *Human Immunology*, *45*(1), 24-31. https://doi.org/10.1016/0198-8859(95)00144-1

McNeish, A. S., Harms, H. K., Rey, J., Shmerling, D. H., Visakorpi, J. K., & Walker-Smith, J. A. (1979). The diagnosis of coeliac disease. A commentary on the current practices of members of the European Society for Paediatric Gastroenterology and Nutrition (ESPGAN). *Archives of Disease in Childhood*, *54*(10), 783-786. https://doi.org/10.1136/adc.54.10.783

Mörbe, U. M., Jørgensen, P. B., Fenton, T. M., von Burg, N., Riis, L. B., Spencer, J., & Agace, W. W. (2021). Human gut-associated lymphoid tissues (GALT); diversity, structure, and function. *Mucosal Immunology*, *14*(4), Article 4. https://doi.org/10.1038/s41385-021-00389-4

Morgan, X. C., Tickle, T. L., Sokol, H., Gevers, D., Devaney, K. L., Ward, D. V., Reyes, J. A., Shah, S. A., LeLeiko, N., Snapper, S. B., Bousvaros, A., Korzenik, J., Sands, B. E., Xavier, R. J., & Huttenhower, C. (2012). Dysfunction of the intestinal microbiome in inflammatory bowel disease and treatment. *Genome Biology*, *13*(9), R79. https://doi.org/10.1186/gb-2012-13-9-r79

Morón, B., Cebolla, Á., Manyani, H., Álvarez-Maqueda, M., Megías, M., Thomas, M. del C., López, M. C., & Sousa, C. (2008). Sensitive detection of cereal fractions that are toxic to celiac disease patients by using monoclonal antibodies to a main immunogenic wheat peptide. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *87*(2), 405-414. https://doi.org/10.1093/ajcn/87.2.405

Mouterde, O., Hariz, M. B., & Dumant, C. (2008). Le nouveau visage de la maladie cœliaque. *Archives de Pédiatrie*, *15*(5), 501-503. https://doi.org/10.1016/S0929-693X(08)71811-6

Mowat, A. M., & Agace, W. W. (2014). Regional specialization within the intestinal immune system. *Nature Reviews Immunology*, *14*(10), Article 10. https://doi.org/10.1038/nri3738

Muhammad, H., Reeves, S., & Jeanes, Y. M. (2019). Identifying and improving adherence to the gluten-free diet in people with coeliac disease. *The Proceedings of the Nutrition Society*, *78*(3), 418-425. https://doi.org/10.1017/S002966511800277X

Murray, J. A., Watson, T., Clearman, B., & Mitros, F. (2004). Effect of a gluten-free diet on gastrointestinal symptoms in celiac disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *79*(4), 669-673. https://doi.org/10.1093/ajcn/79.4.669

N

Nachman, F., Mauriño, E., Vázquez, H., Sfoggia, C., Gonzalez, A., Gonzalez, V., del Campo, M. P., Smecuol, E., Niveloni, S., Sugai, E., Mazure, R., Cabanne, A., & Bai, J. C. (2009a). Quality of life in celiac disease patients. *Digestive and Liver Disease*, *41*(1), 15-25. https://doi.org/10.1016/j.dld.2008.05.011

Nachman, F., Mauriño, E., Vázquez, H., Sfoggia, C., Gonzalez, A., Gonzalez, V., del Campo, M. P., Smecuol, E., Niveloni, S., Sugai, E., Mazure, R., Cabanne, A., & Bai, J. C. (2009b). Quality of life in celiac disease patients: Prospective analysis on the importance of clinical severity at diagnosis and the impact of treatment. *Digestive and Liver Disease*, *41*(1), 15-25. https://doi.org/10.1016/j.dld.2008.05.011

Nachman, F., Sugai, E., Vázquez, H., González, A., Andrenacci, P., Niveloni, S., Mazure, R., Smecuol, E., Moreno, M. L., Hwang, H. J., Pinto Sánchez, M. I., Mauriño, E., & Bai, J. C. (2011a). Serological tests for celiac disease as indicators of long-term

compliance with the gluten-free diet. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, *23*(6), 473-480. https://doi.org/10.1097/MEG.0b013e328346e0f1

Nachman, F., Sugai, E., Vázquez, H., González, A., Andrenacci, P., Niveloni, S., Mazure, R., Smecuol, E., Moreno, M. L., Hwang, H. J., Pinto Sánchez, M. I., Mauriño, E., & Bai, J. C. (2011b). Serological tests for celiac disease as indicators of long-term compliance with the gluten-free diet: *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 1. https://doi.org/10.1097/MEG.0b013e328346e0f1

Naiyer, A. J., Hernandez, L., Ciaccio, E. J., Papadakis, K., Manavalan, J. S., Bhagat, G., & Green, P. H. R. (2009). Comparison of Commercially Available Serologic Kits for the Detection of Celiac Disease. *Journal of Clinical Gastroenterology*, *43*(3), 225. https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e31816200e5

Nemec, P., Pavkova-Goldbergova, M., Stouracova, M., Vasku, A., Soucek, M., & Gatterova, J. (2008). Polymorphism in the tumor necrosis factor-α gene promoter is associated with severity of rheumatoid arthritis in the Czech population. *Clinical Rheumatology*, *27*(1), 59-65. https://doi.org/10.1007/s10067-007-0653-7

Niess, J. H., & Adler, G. (2010). Enteric Flora Expands Gut Lamina Propria CX3CR1+ Dendritic Cells Supporting Inflammatory Immune Responses under Normal and Inflammatory Conditions. *The Journal of Immunology*, *184*(4), 2026-2037. https://doi.org/10.4049/jimmunol.0901936

O

Oberhuber, G., Vogelsang, H., Stolte, M., Muthenthaler, S., Kummer, A. J., & Radaszkiewicz, T. (1996). Evidence that intestinal intraepithelial lymphocytes are activated cytotoxic T cells in celiac disease but not in giardiasis. *The American Journal of Pathology*, *148*(5), 1351-1357.

Ocmant, A., & Mascart, F. (2007). Effective Detection of Celiac Disease Using Salivary Anti-transglutaminase. *The American Journal of Medicine*, *120*(10), e15. https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2006.09.029

P

Pais, W. P., Duerksen, D. R., Pettigrew, N. M., & Bernstein, C. N. (2008). How many duodenal biopsy specimens are required to make a diagnosis of celiac disease? *Gastrointestinal Endoscopy*, *67*(7), 1082-1087. https://doi.org/10.1016/j.gie.2007.10.015

Paladini, F., Belfiore, F., Cocco, E., Carcassi, C., Cauli, A., Vacca, A., Fiorillo, M. T., Mathieu, A., Cascino, I., & Sorrentino, R. (2009). HLA-E gene polymorphism associates with ankylosing spondylitis in Sardinia. *Arthritis Research & Therapy*, *11*(6), R171. https://doi.org/10.1186/ar2860

Partanen, J., Milner, C., Campbell, R. D., Mäki, M., Lipsanen, V., & Koskimies, S. (1993). HLA-linked heat-shock protein 70 (HSP70–2) gene polymorphism and celiac

disease. *Tissue Antigens*, *41*(1), 15-19. https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.1993.tb01971.x

Patey-Mariaud De Serre, N., Verkarre, V., Cellier, C., Cerf-Bensussan, N., Schmitz, J., & Brousse, N. (2000). [Etiological diagnosis of villous atrophy]. *Gastroenterologie Clinique Et Biologique*, *24*(4), 436-446.

Pérez-Rodríguez, M., Corell, A., Argüello, J. r., Cox, S. t., McWhinnie, A., Marsh, S. g. e., & Madrigal, J. a. (2000). A new MICA allele with ten alanine residues in the exon 5 microsatellite. *Tissue Antigens*, *55*(2), 162-165. https://doi.org/10.1034/j.1399-0039.2000.550209.x

Persson, E. K., Scott, C. L., Mowat, A. McI., & Agace, W. W. (2013). Dendritic cell subsets in the intestinal lamina propria: Ontogeny and function. *European Journal of Immunology*, *43*(12), 3098-3107. https://doi.org/10.1002/eji.201343740

Piancatelli, D., Ben El Barhdadi, I., Oumhani, K., Sebastiani, P., Colanardi, A., & Essaid, A. (2017). HLA Typing and Celiac Disease in Moroccans. *Medical Sciences*, *5*(1), 2. https://doi.org/10.3390/medsci5010002

Pietra, G., Romagnani, C., Manzini, C., Moretta, L., & Mingari, M. C. (2010). The Emerging Role of HLA-E-Restricted $CD8^+$ T Lymphocytes in the Adaptive Immune Response to Pathogens and Tumors. *BioMed Research International*, *2010*, e907092. https://doi.org/10.1155/2010/907092

Poddar, U. (2013). Pediatric and adult celiac disease: Similarities and differences. *Indian Journal of Gastroenterology*, *32*(5), 283-288. https://doi.org/10.1007/s12664-013-0339-9

Poddighe, D., Turganbekova, A., Baymukasheva, D., Saduakas, Z., Zhanzakova, Z., & Abdrakhmanova, S. (2020). Genetic predisposition to celiac disease in Kazakhstan: Potential impact on the clinical practice in Central Asia. *PLOS ONE*, *15*(1), e0226546. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226546

Q

Qiao, S.-W., Bergseng, E., Molberg, Ø., Jung, G., Fleckenstein, B., & Sollid, L. M. (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. *The Journal of Immunology*, *175*(1), 254-261. https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.1.254

R

Raache, R., Belanteur, K., Amroun, H., Benyahia, A., Heniche, A., Azzouz, M., Mimouni, S., Gervais, T., Latinne, D., Boudiba, A., Attal, N., & Abbadi, M. C. (2012). Association of Major Histocompatibility Complex Class 1 Chain-Related Gene A Dimorphism with Type 1 Diabetes and Latent Autoimmune Diabetes in Adults in the Algerian Population. *Clinical and Vaccine Immunology*, *19*(4), 557-561. https://doi.org/10.1128/CVI.05473-11

Rampertab, S. D., Pooran, N., Brar, P., Singh, P., & Green, P. H. R. (2006). Trends in the Presentation of Celiac Disease. *The American Journal of Medicine*, *119*(4), 355.e9-355.e14. https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2005.08.044

Rath, T., Billmeier, U., Waldner, M. J., Atreya, R., & Neurath, M. F. (2015). From physiology to disease and targeted therapy: Interleukin-6 in inflammation and inflammation-associated carcinogenesis. *Archives of Toxicology*, *89*(4), 541-554. https://doi.org/10.1007/s00204-015-1461-5

Reeves, G. E. M., Squance, M. L., Duggan, A. E., Murugasu, R. R., Wilson, R. J., Wong, R. C., Gibson, R. A., Steele, R. H., Pollock, W. K., & Group, the M. C. S. (2006). Diagnostic accuracy of coeliac serological tests: A prospective study. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, *18*(5), 493.

Rezende, R. M., Cox, L. M., & Weiner, H. L. (2019). Mucosal tolerance therapy in humans: Past and future. *Clinical and Experimental Neuroimmunology*, *10*(S1), 20-31. https://doi.org/10.1111/cen3.12500

Rincon, M. (2012). Interleukin-6 : From an inflammatory marker to a target for inflammatory diseases. *Trends in Immunology*, *33*(11), 571-577. https://doi.org/10.1016/j.it.2012.07.003

Risch, N. (1987). Assessing the role of HLA-linked and unlinked determinants of disease. *American Journal of Human Genetics*, *40*(1), 1.

Rodrigo, L., Fuentes-Álvarez, D., Pérez-Martínez, I., Alvarez, N., Niño-García, P., de-Francisco-García, R., Riestra, S., Bousoño-García, C., Alonso-Arias, R., & Lopez Vazquez, A. (2011). Differences between pediatric and adult celiac disease. *Revista española de enfermedades digestivas : organo oficial de la Sociedad Española de Patología Digestiva*, *103*, 238-244. https://doi.org/10.4321/S1130-01082011000500003

Romaldini, C. C., Barbieri, D., Okay, T. S., Raiz, R. J., & Cançado, E. L. R. (2002). Serum Soluble Interleukin-2 Receptor, Interleukin-6, and Tumor Necrosis Factor-α Levels in Children with Celiac Disease: Response to Treatment. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, *35*(4), 513.

Rostom, A., Dubé, C., Cranney, A., Saloojee, N., Sy, R., Garritty, C., Sampson, M., Zhang, L., Yazdi, F., Mamaladze, V., Pan, I., MacNeil, J., Mack, D., Patel, D., & Moher, D. (2005). The diagnostic accuracy of serologic tests for celiac disease: A systematic review. *Gastroenterology*, *128*(4, Supplement 1), S38-S46. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2005.02.028

Rostom, A., Murray, J. A., & Kagnoff, M. F. (2006). American Gastroenterological Association (AGA) Institute Technical Review on the Diagnosis and Management of Celiac Disease. *Gastroenterology*, *131*(6), 1981-2002. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2006.10.004

Roujon, P., Guidicelli, G., Moreau, J.-F., & Taupin, J.-L. (2013). Immunogénétique de la maladie cœliaque. *Pathologie Biologie*, *61*(2), e5-e11. https://doi.org/10.1016/j.patbio.2011.03.006

Roujon, P., Sarrat, A., Contin-Bordes, C., Pellegrin, I., Guidicelli, G., Taupin, J.-L., Moreau, J.-F., & Blanco, P. (2013a). Diagnostic sérologique de la maladie cœliaque. *Pathologie Biologie*, *61*(3), e39-e46. https://doi.org/10.1016/j.patbio.2011.03.013

Roujon, P., Sarrat, A., Contin-Bordes, C., Pellegrin, I., Guidicelli, G., Taupin, J.-L., Moreau, J.-F., & Blanco, P. (2013b). Diagnostic sérologique de la maladie cœliaque. *Pathologie Biologie*, *61*(3), e39-e46. https://doi.org/10.1016/j.patbio.2011.03.013

Royer, M., Croxatto, O., Biempica, L., & Balcazar Morrison, A. J. (1955). [Duodenal biopsy by aspiration under radioscopic control]. *Prensa Medica Argentina*, *42*(33), 2515-2519.

Rubio-Tapia, A., Hill, I. D., Kelly, C. P., Calderwood, A. H., & Murray, J. A. (2013). ACG Clinical Guidelines: Diagnosis and Management of Celiac Disease. *Official Journal of the American College of Gastroenterology | ACG*, *108*(5), 656. https://doi.org/10.1038/ajg.2013.79

S

Saeed, A., Assiri, A. M., & Cheema, H. A. (2019). *Celiac Disease in Children*. *2*(1), 6.

Salazar-Gonzalez, R. M., Niess, J. H., Zammit, D. J., Ravindran, R., Srinivasan, A., Maxwell, J. R., Stoklasek, T., Yadav, R., Williams, I. R., Gu, X., McCormick, B. A., Pazos, M. A., Vella, A. T., Lefrancois, L., Reinecker, H.-C., & McSorley, S. J. (2006). CCR6-Mediated Dendritic Cell Activation of Pathogen-Specific T Cells in Peyer's Patches. *Immunity*, *24*(5), 623-632. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2006.02.015

Santaolalla, R., Fukata, M., & Abreu, M. T. (2011). Innate immunity in the small intestine. *Current opinion in gastroenterology*, *27*(2), 125-131. https://doi.org/10.1097/MOG.0b013e3283438dea

Scheller, J., Chalaris, A., Schmidt-Arras, D., & Rose-John, S. (2011). The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, *1813*(5), 878-888. https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2011.01.034

Schuppan, D. (2000). Current concepts of celiac disease pathogenesis. *Gastroenterology*, *119*(1), 234-242. https://doi.org/10.1053/gast.2000.8521

Schuppan, D., Junker, Y., & Barisani, D. (2009). Celiac Disease: From Pathogenesis to Novel Therapies. *Gastroenterology*, *137*(6), 1912-1933. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.09.008

Senda, T., Dogra, P., Granot, T., Furuhashi, K., Snyder, M. E., Carpenter, D. J., Szabo, P. A., Thapa, P., Miron, M., & Farber, D. L. (2019). Microanatomical dissection of human intestinal T-cell immunity reveals site-specific changes in gut-associated

lymphoid tissues over life. *Mucosal Immunology*, *12*(2), Article 2. https://doi.org/10.1038/s41385-018-0110-8

Sender, R., Fuchs, S., & Milo, R. (2016). Are We Really Vastly Outnumbered? Revisiting the Ratio of Bacterial to Host Cells in Humans. *Cell*, *164*(3), 337-340. https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.01.013

Shan, L., Molberg, Ø., Parrot, I., Hausch, F., Filiz, F., Gray, G. M., Sollid, L. M., & Khosla, C. (2002). Structural Basis for Gluten Intolerance in Celiac Sprue. *Science*, *297*(5590), 2275-2279. https://doi.org/10.1126/science.1074129

Shibata, T., Tahara, T., Hirata, I., & Arisawa, T. (2009). Genetic polymorphism of interleukin-17A and -17F genes in gastric carcinogenesis. *Human Immunology*, *70*(7), 547-551. https://doi.org/10.1016/j.humimm.2009.04.030

Shiner, M. (1956). Duodenal biopsy. *Lancet (London, England)*, *270*(6906), 17-19. https://doi.org/10.1016/s0140-6736(56)91854-2

Shortman, K., & Liu, Y.-J. (2002). Mouse and human dendritic cell subtypes. *Nature Reviews Immunology*, *2*(3), Article 3. https://doi.org/10.1038/nri746

Skovbjerg, H., Koch, C., Anthonsen, D., & Sjöström, H. (2004). Deamidation and cross-linking of gliadin peptides by transglutaminases and the relation to celiac disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, *1690*(3), 220-230. https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2004.06.009

Smarrazzo, A., Misak, Z., Costa, S., Mičetić-Turk, D., Abu-Zekry, M., Kansu, A., Abkari, A., Bouziane-Nedjadi, K., Ben Hariz, M., Roma, E., Velmishi, V., Legarda Tamara, M., Attard, T., Djurisic, V., Greco, L., & Magazzù, G. (2017). Diagnosis of celiac disease and applicability of ESPGHAN guidelines in Mediterranean countries: A real life prospective study. *BMC Gastroenterology*, *17*(1), 17. https://doi.org/10.1186/s12876-017-0577-x

Smigoc Schweiger, D., Goricar, K., Hovnik, T., Mendez, A., Bratina, N., Brecelj, J., Vidan-Jeras, B., Battelino, T., & Dolzan, V. (2019). Dual Role of PTPN22 but Not NLRP3 Inflammasome Polymorphisms in Type 1 Diabetes and Celiac Disease in Children. *Frontiers in Pediatrics*, *7*. https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fped.2019.00063

Smits, S. L., van Leeuwen, M., van der Eijk, A. A., Fraaij, P. L., Escher, J. C., Simon, J. H., & Osterhaus, A. D. (2010). Human Astrovirus Infection in a Patient with New-Onset Celiac Disease. *Journal of Clinical Microbiology*, *48*(9), 3416-3418. https://doi.org/10.1128/JCM.01164-10

Solheim, B. G., Ek, J., Thune, P. O., Baklien, K., Bratlie, A., Rankin, B., Thoresen, A. B., & Thorsby, E. (1976). HLA Antigens in Dermatitis Herpetiformis and Coeliac Disease. *Tissue Antigens*, *7*(1), 57-59. https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.1976.tb01031.x

Sollid, L. M. (2002). Coeliac disease: Dissecting a complex inflammatory disorder. *Nature Reviews Immunology*, *2*(9), Article 9. https://doi.org/10.1038/nri885

Sollid, L. M., & Jabri, B. (2011). Celiac disease and transglutaminase 2: A model for posttranslational modification of antigens and HLA association in the pathogenesis of autoimmune disorders. *Current Opinion in Immunology*, *23*(6), 732-738. https://doi.org/10.1016/j.coi.2011.08.006

Sollid, L. M., Markussen, G., Ek, J., Gjerde, H., Vartdal, F., & Thorsby, E. (1989). Evidence for a primary association of celiac disease to a particular HLA-DQ alpha/beta heterodimer. *Journal of Experimental Medicine*, *169*(1), 345-350. https://doi.org/10.1084/jem.169.1.345

Sood, A., Midha, V., Sood, N., & Malhotra, V. (2003). Adult celiac disease in northern India. *Indian Journal of Gastroenterology: Official Journal of the Indian Society of Gastroenterology*, *22*(4), 124-126.

Steinle, A., Li, P., Morris, D. L., Groh, V., Lanier, L. L., Strong, R. K., & Spies, T. (2001). Interactions of human NKG2D with its ligands MICA, MICB, and homologs of the mouse RAE-1 protein family. *Immunogenetics*, *53*(4), 279-287. https://doi.org/10.1007/s002510100325

Stene, L. C., Honeyman, M. C., Hoffenberg, E. J., Haas, J. E., Sokol, R. J., Emery, L., Taki, I., Norris, J. M., Erlich, H. A., Eisenbarth, G. S., & Rewers, M. (2006). Rotavirus Infection Frequency and Risk of Celiac Disease Autoimmunity in Early Childhood: A Longitudinal Study. *Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG*, *101*(10), 2333-2340.

Stepniak, D., Vader, L. W., Kooy, Y., van Veelen, P. A., Moustakas, A., Papandreou, N. A., Eliopoulos, E., Drijfhout, J. W., Papadopoulos, G. K., & Koning, F. (2005). T-cell recognition of HLA-DQ2-bound gluten peptides can be influenced by an N-terminal proline at p-1. *Immunogenetics*, *57*(1), 8-15. https://doi.org/10.1007/s00251-005-0780-8

St-Jacques, R. (2017). *Les Intestins—Et le système digestif.* http://www.corpshumain.ca/Intestin.php

Stokes, P. L., Ferguson, R., Holmes, G. K. T., & Cooke, W. T. (1976). Familial Aspects of Coeliac Disease. *QJM: An International Journal of Medicine*, *45*(4), 567-582. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.qjmed.a067481

Stokes, P. L., Holmes, G. K. T., Asquith, P., Mackintosh, P., & Cooke, W. T. (1972). HISTOCOMPATIBILITY ANTIGENS ASSOCIATED WITH ADULT CŒLIAC DISEASE. *The Lancet*, *300*(7769), 162-164. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(72)91330-X

Sugai, E., Nachman, F., Váquez, H., González, A., Andrenacci, P., Czech, A., Niveloni, S., Mazure, R., Smecuol, E., Cabanne, A., Mauriño, E., & Bai, J. C. (2010). Dynamics of celiac disease-specific serology after initiation of a gluten-free diet and use in the assessment of compliance with treatment. *Digestive and Liver Disease: Official Journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*, *42*(5), 352-358. https://doi.org/10.1016/j.dld.2009.07.011

Sulkanen, S., Halttunen, T., Laurila, K., Kolho, K.-L., Korponay-Szabó, I. R., Sarnesto, A., Savilahti, E., Collin, P., & Mäki, M. (1998). Tissue transglutaminase autoantibody enzyme-linked immunosorbent assay in detecting celiac disease. *Gastroenterology*, *115*(6), 1322-1328. https://doi.org/10.1016/S0016-5085(98)70008-3

T

Tanaka, T., Narazaki, M., & Kishimoto, T. (2014). IL-6 in Inflammation, Immunity, and Disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *6*(10), a016295. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a016295

Terry, C. F., Loukaci, V., & Green, F. R. (2000). Cooperative Influence of Genetic Polymorphisms on Interleukin 6 Transcriptional Regulation *. *Journal of Biological Chemistry*, *275*(24), 18138-18144. https://doi.org/10.1074/jbc.M000379200

Thomas, A. G., Phillips, A. D., & Walker-Smith, J. A. (1992). The value of proximal small intestinal biopsy in the differential diagnosis of chronic diarrhoea. *Archives of Disease in Childhood*, *67*(6), 741-744. https://doi.org/10.1136/adc.67.6.741

Tollefsen, S., Arentz-Hansen, H., Fleckenstein, B., Molberg, Ø., Ráki, M., Kwok, W. W., Jung, G., Lundin, K. E. A., & Sollid, L. M. (2006). HLA-DQ2 and -DQ8 signatures of gluten T cell epitopes in celiac disease. *The Journal of Clinical Investigation*, *116*(8), 2226-2236. https://doi.org/10.1172/JCI27620

Tosi, R., Vismara, D., Tanigaki, N., Ferrara, G. B., Cicimarra, F., Buffolano, W., Follo, D., & Auricchio, S. (1983). Evidence that celiac disease is primarily associated with a DC locus allelic specificity. *Clinical Immunology and Immunopathology*, *28*(3), 395-404. https://doi.org/10.1016/0090-1229(83)90106-X

Trier, J. S. (1998). Diagnosis of celiac sprue. *Gastroenterology*, *115*(1), 211-216. https://doi.org/10.1016/S0016-5085(98)70383-X

Trynka, G., Wijmenga, C., & van Heel, D. A. (2010). A genetic perspective on coeliac disease. *Trends in Molecular Medicine*, *16*(11), 537-550. https://doi.org/10.1016/j.molmed.2010.09.003

Trynka, G., Zhernakova, A., Romanos, J., Franke, L., Hunt, K. A., Turner, G., Bruinenberg, M., Heap, G. A., Platteel, M., Ryan, A. W., Kovel, C. de, Holmes, G. K. T., Howdle, P. D., Walters, J. R. F., Sanders, D. S., Mulder, C. J. J., Mearin, M. L., Verbeek, W. H. M., Trimble, V., … Wijmenga, C. (2009). Coeliac disease-associated risk variants in TNFAIP3 and REL implicate altered NF-κB signalling. *Gut*, *58*(8), 1078-1083. https://doi.org/10.1136/gut.2008.169052

Tye-Din, J. A., Stewart, J. A., Dromey, J. A., Beissbarth, T., van Heel, D. A., Tatham, A., Henderson, K., Mannering, S. I., Gianfrani, C., Jewell, D. P., Hill, A. V. S., McCluskey, J., Rossjohn, J., & Anderson, R. P. (2010). Comprehensive, Quantitative Mapping of T Cell Epitopes in Gluten in Celiac Disease. *Science Translational Medicine*, *2*(41), 41ra51-41ra51. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3001012

U

Uciechowski, P., & Dempke, W. C. M. (2020). Interleukin-6: A Masterplayer in the Cytokine Network. *Oncology*, *98*(3), 131-137. https://doi.org/10.1159/000505099

Ul Haq, M. R. (2020). *Opioid Food Peptides: Significant Exorphins from Food Sources*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-15-6102-3

V

Vader, L. W., Stepniak, D. T., Bunnik, E. M., Kooy, Y. M. C., De Haan, W., Drijfhout, J. W., Van Veelen, P. A., & Koning, F. (2003). Characterization of cereal toxicity for celiac disease patients based on protein homology in grains 1 1The authors thank Drs. R. R. P. de Vries and R. Offringa for critical reading of the manuscript, A. de Ru for mass spectrometric analysis, and W. Benckhuijsen for peptide synthesis. *Gastroenterology*, *125*(4), 1105-1113. https://doi.org/10.1016/S0016-5085(03)01204-6

Vader, W., Kooy, Y., van Veelen, P., de Ru, A., Harris, D., Benckhuijsen, W., Peña, S., Mearin, L., Drijfhout, J. W., & Koning, F. (2002). The gluten response in children with celiac disease is directed toward multiple gliadin and glutenin peptides. *Gastroenterology*, *122*(7), 1729-1737. https://doi.org/10.1053/gast.2002.33606

Vahedi, K., Bouhnik, Y., & Matuchansky, C. (2001). [Celiac disease of the adult]. *Gastroenterologie Clinique Et Biologique*, *25*(5), 485-494.

van de Wal, Y., Kooy, Y. M., van Veelen, P. A., Peña, S. A., Mearin, L. M., Molberg, Ø., Lundin, K. E., Sollid, L. M., Mutis, T., Benckhuijsen, W. E., Drijfhout, J. W., & Koning, F. (1998). Small intestinal T cells of celiac disease patients recognize a natural pepsin fragment of gliadin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *95*(17), 10050-10054. https://doi.org/10.1073/pnas.95.17.10050

van Heel, D. A., Franke, L., Hunt, K. A., Gwilliam, R., Zhernakova, A., Inouye, M., Wapenaar, M. C., Barnardo, M. C. N. M., Bethel, G., Holmes, G. K. T., Feighery, C., Jewell, D., Kelleher, D., Kumar, P., Travis, S., Walters, J. R., Sanders, D. S., Howdle, P., Swift, J., … Wijmenga, C. (2007). A genome-wide association study for celiac disease identifies risk variants in the region harboring IL2 and IL21. *Nature Genetics*, *39*(7), Article 7. https://doi.org/10.1038/ng2058

Verdu, E. F. (2019). *Microbiote et maladie Cœliaque*. Biocodex Microbiota Institute. https://www.biocodexmicrobiotainstitute.com/fr/pro/microbiote-et-maladie-coeliaque

Verkarre, V., Asnafi, V., Lecomte, T., Serre, N. P. M.-D., Leborgne, M., Grosdidier, E., Bihan, C. L., Macintyre, E., Cellier, C., Cerf-Bensussan, N., & Brousse, N. (2003). Refractory coeliac sprue is a diffuse gastrointestinal disease. *Gut*, *52*(2), 205-211. https://doi.org/10.1136/gut.52.2.205

Verkarre, V., & Brousse, N. (2013). Le diagnostic histologique de la maladie cœliaque. *Pathologie Biologie*, *61*(2), e13-e19. https://doi.org/10.1016/j.patbio.2011.03.003

Vivas, S. (2015). Age-related differences in celiac disease: Specific characteristics of adult presentation. *World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics*, *6*(4), 207. https://doi.org/10.4292/wjgpt.v6.i4.207

Volk, N., & Lacy, B. (2017). Anatomy and Physiology of the Small Bowel. *Gastrointestinal Endoscopy Clinics of North America*, *27*(1), 1-13. https://doi.org/10.1016/j.giec.2016.08.001

Volta, U., Caio, G., Stanghellini, V., & De Giorgio, R. (2014). The changing clinical profile of celiac disease: A 15-year experience (1998-2012) in an Italian referral center. *BMC Gastroenterology*, *14*(1), 194. https://doi.org/10.1186/s12876-014-0194-x

W

Weber, A.-L. (2012). *La maladie coeliaque : Physiopathologie et traitement. « Guide » de conseils pour le pharmacien d'officine* (p. non renseigné) [Other, Université de Lorraine]. https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01733878

Weitz, J. C., Montalva, R., Alarcón, T., & Contreras, L. (2003). [Antitransglutaminase antibodies determination for the diagnosis of celiac disease]. *Revista Medica De Chile*, *131*(1), 31-36.

West, J., Logan, R. F. A., Hill, P. G., & Khaw, K.-T. (2007). The iceberg of celiac disease: What is below the waterline? *Clinical Gastroenterology and Hepatology: The Official Clinical Practice Journal of the American Gastroenterological Association*, *5*(1), 59-62. https://doi.org/10.1016/j.cgh.2006.10.020

Whyte, L., Kotecha, S., Watkins, W., & Jenkins, H. (2014). Coeliac disease is more common in children with high socio-economic status. *Acta Paediatrica*, *103*(3), 289-294. https://doi.org/10.1111/apa.12494

Winchester, R. (1994). The Molecular Basis of Susceptibility to Rheumatoid Arthritis. In F. J. Dixon (Éd.), *Advances in Immunology* (Vol. 56, p. 389-466). Academic Press. https://doi.org/10.1016/S0065-2776(08)60456-3

Woods, A., Brull, D. J., Humphries, S. E., & Montgomery, H. E. (2000). Genetics of inflammation and risk of coronary artery disease: The central role of interleukin-6. *European Heart Journal*, *21*(19), 1574-1583. https://doi.org/10.1053/euhj.1999.2207

Woolley, N., Mustalahti, K., Mäki, M., & Partanen, J. (2005). Cytokine Gene Polymorphisms and Genetic Association with Coeliac Disease in the Finnish Population. *Scandinavian Journal of Immunology*, *61*(1), 51-56. https://doi.org/10.1111/j.0300-9475.2005.01525.x

Y

Yan, J., Liu, J., Lin, C. Y., ANZGene, Csurhes, P. A., Pender, M. P., McCombe, P. A., & Greer, J. M. (2012). Interleukin-6 Gene Promoter-572 C Allele May Play a Role in Rate of Disease Progression in Multiple Sclerosis. *International Journal of Molecular Sciences*, *13*(10), Article 10. https://doi.org/10.3390/ijms131013667

Z

Zehhaf, F. (2021). *Lymphome du grele sur maladie coeliaque* [UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT]. http://ao.um5s.ac.ma/xmlui/handle/123456789/3/browse?value=ZEHHAF%2C+Firdaous&type=author

Zupin, L., Catamo, E., Polesello, V., Crovella, S., & Segat, L. (2015). Interleukin-18 gene promoter polymorphisms and celiac disease in Italian patients. *Molecular Biology Reports*, *42*(2), 525-533. https://doi.org/10.1007/s11033-014-3796-z

Zupin, L., Polesello, V., Catamo, E., Crovella, S., & Segat, L. (2014). Interleukin-10 gene promoter polymorphisms in celiac patients from north-eastern Italy. *Human Immunology*, *75*(7), 656-661. https://doi.org/10.1016/j.humimm.2014.04.011

Annexes

LISTE DES ANNEXES

Annexe I : Critères de diagnostic selon le guide ligne ESPGHAN (mise à jour 2020).

Annexe II : Questionnaire de base.

Annexe III : Consentement éclairé.

Annexe IV : Guide du Kit d'extraction d'ADN Kit GF-1 Blood.

Annexe V : Guide du kit de mix de PCR (Mix Master Ready to Load).

Annexe I

Annexe I

New Guidelines for the Diagnosis of Paediatric Coeliac Disease

ESPGHAN

Coeliac Disease (CD) is underdiagnosed due to the varied presentation of clinical signs and symptoms. This advice guide provides new and updated summary guidance from the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) on diagnosing children and adolescents with CD.

What's new in the 2020 guidelines?

- For initial testing, the combination of total IgA and IgA class antibodies against transglutaminase 2 (TGA-IgA) is recommended as this is most accurate and cost-effective. EMA-IgA or DGP-IgG need not be tested initially
- The no-biopsy approach for CD diagnosis is confirmed to be safe in children with high TGA-IgA values ≥10 times the upper limit of normal with accurate, appropriate tests and positive endomysial antibodies (EMA-IgA) in a second serum sample
- Children with positive TGA-IgA but lower titers (<10 times upper limit of normal) should undergo biopsies to decrease the risk of false positive diagnosis.
- HLA testing and presence of symptoms are not obligatory criteria for a serology based diagnosis without biopsies.

Consider testing for CD with the following symptoms, signs and conditions:

Gastrointestinal



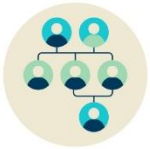
- chronic or intermittent diarrhea/ constipation/abdominal pain
- distended abdomen
- recurrent nausea and/or vomiting

Extraintestinal symptoms



- weight loss/failure-to-thrive
- delayed puberty, amenorrhea
- irritability, chronic fatigue
- neuropathy
- arthritis/arthralgia
- chronic iron-deficiency anaemia
- decreased bone mineralization (osteopenia/osteoporosis), repetitive fractures
- recurrent aphthous stomatitis
- dermatitis herpetiformis–type rash
- dental enamel defects
- abnormal liver biochemistry

Specific conditions



- first-degree relatives with CD
- autoimmune conditions: T1DM, thyroid disease, liver disease
- Down syndrome
- Turner syndrome
- Williams-Beuren syndrome
- IgA deficiency

Abbreviations
IgA: Immunoglobulin type A
TGA-IgA: IgA against type-2 transglutaminase
EMA-IgA: IgA against endomysium
IgG: Immunoglobulin type G
DGP-IgG: IgG against Deamidated Gliadin Peptide
HLA: Human leukocyte antigen
ULN: Upper limit of normal

CD diagnosis can be accurately and safely established with or without duodenal biopsies if the following recommendations are observed:

Initial testing

Testing for total IgA and TGA-IgA should be used for children with suspected CD, after checking that the child is consuming normal quantities of gluten. In children with normal serum IgA values for age, TGA-IgA should be used, regardless of age. In children with low total IgA concentrations (low for age or <0.2 g/L above the age of 3 years), an IgG-based test (DGP, EMA or TGA) should be performed as a second step. If initial testing suggests coeliac disease, the child should be referred to a pediatric gastroenterologist/coeliac disease specialist.

Biopsy

A biopsy should be performed on children with positive TGA-IgA but lower titers (<10 times upper limit of normal). Patients should have ≥4 biopsies from the distal duodenum and ≥1 from the bulb, during a gluten-containing diet.

Evaluation of biopsies should be performed on optimally orientated biopsies. In cases of differing results between TGA-IgA-results and histopathology, re-cutting of biopsies and/or second opinion from an experienced pathologist should be requested.



No biopsy

A no-biopsy approach is appropriate for children with TGA-IgA values ≥10 times the upper limit of normal with appropriate tests and positive endomysial antibodies (EMA-IgA) in a second serum sample.

Asymptomatic children:
CD can eventually be diagnosed without duodenal biopsies in asymptomatic children, using the same criteria as in patients with symptoms.

TGA-IgA cut-off for diagnosis of CD with no biopsy
TGA- IgA serum concentration of ≥10xULN should be obligatory. Only antibody tests with calibrator curve-based calculation, and having the 10xULN value within their measurement range, should be used. All patients who are IgA deficient and who are positive for an IgG based serological test should be biopsied.

ESPGHAN recommends that the decision whether or not to perform duodenal biopsies in patients with high TGA-IgA should be made during a shared decision making process. This should be between the paediatric gastroenterologist/coeliac disease specialist, the parent(s)/ carer(s) and, if appropriate, the child.

HLA-testing

HLA-testing is not required in patients with positive TGA-IgA, if they qualify for CD diagnosis with biopsies or if they have high serum TGA-IgA ≥10xULN and EMA-IgA positivity. A negative test for HLA-DQ2 and/or -DQ8 indicates a very low risk of CD, while a positive result does not confirm the diagnosis. If no risk alleles are found, CD is unlikely.

Diagnosis

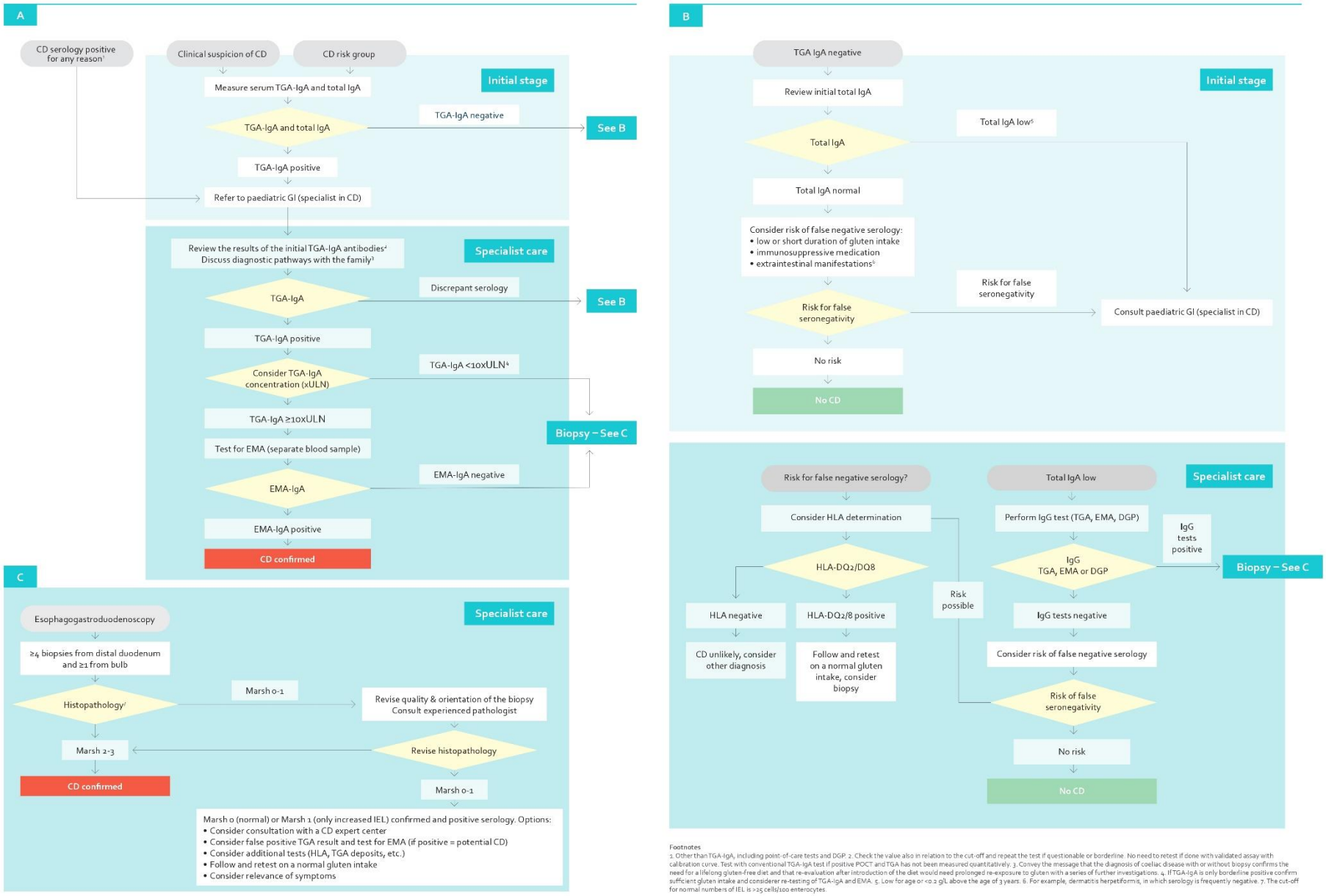
Coeliac Disease: A paediatric gastroenterologist/ coeliac disease specialist will determine the patient's treatment and follow-up.

Potential Coeliac Disease: Patients with positive TGA-IgA and EMA and no or minor small bowel histological changes are usually diagnosed as having 'potential' CD. However, such results may be due to low gluten intake prior to biopsies, sampling error or incorrect orientation of the biopsies for reading so these should be checked before diagnosing 'potential' vs 'true' CD. Once confirmed, potential CD requires clinical and laboratory surveillance (serology, further biopsies) to monitor possible evolution to villous atrophy and referral to a centre with expertise in CD for follow-up.



Disclaimer
ESPGHAN is not responsible for the practices of physicians and provides guidelines and position papers as indicators of best practice only. Diagnosis and treatment are at the discretion of physicians. This advice guide is produced and published by the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) and authored by members of the society's Coeliac Disease Working Group.

Full references for the advice within this guide can be found within the following paper, which this guide is based upon: Husby, Steffen, et al. "European society paediatric gastroenterology, hepatology and nutrition guidelines for diagnosing coeliac disease 2020." Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition 70.1 (2020): 141-156.



Footnotes

1. Other than TGA-IgA, including point-of-care tests and DGP. 2. Check the value also in relation to the cut-off and repeat the test if questionable or borderline. No need to retest if done with validated assay with calibration curve. Test with conventional TGA-IgA test if positive POCT and TGA has not been measured quantitatively. 3. Convey the message that the diagnosis of coeliac disease with or without biopsy confirms the need for a lifelong gluten-free diet and that re-evaluation after introduction of the diet would need prolonged re-exposure to gluten with a series of further investigations. 4. If TGA-IgA is only borderline positive confirm sufficient gluten intake and considerer re-testing of TGA-IgA and EMA. 5. Low for age or <0.2 g/L above the age of 3 years. 6. For example, dermatitis herpetiformis, in which serology is frequently negative. 7. The cut-off for normal numbers of IEL is >25 cells/100 enterocytes.

Annexe II

Annexe II

Sidi Bel Abbes le :

Etude de la physiopathologie des maladies cœliaques dans la région de l'ouest Algérien

FICHE D'EVALUATION

- ## Identité :

Age :

Sexe :
Numéro de téléphone :

Adresse : Ville :

Niveau socio-économique :

Niveau intellectuel : -Analphabète ☐ -Primaire ☐ -Moyen ☐

-Secondaire ☐ -Supérieur ☐

- ## Antécédents :

-A/. Personnels :1- Personnels Médicaux :

2-Personnels Chirurgicaux :

-B/. Familiaux :

- C/. Habitudes alimentaires :

Maladie auto-immune associée :

- ## Motif/Diagnostic :

…….

-Age de l'apparition de la maladie :

-Circonstances de découvertes :

-Diarrhée Chronique : Oui ☐ Non ☐

- **Examen Clinique/général : selon la courbe**

  -Poids :

  -Taille :

- **Examens général des différents appareils :**

……
……

- **Examens Complémentaires :**

  1/-Biologiques : - Hématologie : **FNS :** -Hématies :

  -Leucocytes :

  -Formule Leucocytaire :

  . P. neutrophiles :

  . P. éosinophiles :

  . P. basophiles :

  . Lymphocytes :

  . Monocytes :

  -Hémoglobine :

  -Hématocrite :

  -Plaquettes :

  -Vitesse de sédimentation(VS) :

  -Electrophorèse des protéines -protéines totaux :

  -Biochimie : Créatine Phospho Kinase(CPK) :

  . Calcémie :

  . Protéine C réactive(CRP) :

  -Immunologie/Sérologie :

  . IgA anti transglutaminase :

. IgA anti gliadine :

. IgA-AAG :

. IgG : . IgA-AAR :

. IgA-AAR : . IgA-AAEM:

-Génétique : détermination du statut HLA : …….

2/-Endoscopique : colonoscopie ☐ Rectosigmoïdoscopie ☐ FOGD ☐

3/-Etude Anatomopathologique :

-Siège :

-Muqueuse de la grêle : BDJ : N° : Date d'effet :

-l'aspect à la loupe binoculaire :

-l'aspect histologique :

- LIE : < 30 % ☐ ≥30% LIE = ...☐

-Atrophie villositaire : Absente ☐ Partielle☐ Subtotale☐ Totale ☐

-Grade de l'atrophie :

-Intolérance au gluten :

-Hyperplasie des cryptes :

-Rapport villosités cryptes :

V/C >2 1 < V/C <2 V/C <1

-Classification de Marsh : 1 2 3a 3b 3c 4

- Infiltration de la lamina propria :

-Autres signes associés :

- **Immunohistochimie :**

. Evaluation : T CD3 ☐ CD4 ☐ CD8 ☐

- **Autres anomalies associées :**

. Gastrite lymphocytaire : ☐

. Gastrite à HP : ☐

. Lymphomes : ☐

. Adénocarcinomes : ☐

. Maladies auto-immunes associées : ☐

. Autres : ☐ ……

- **Traitement :**

-Mise en route d'un régime d'exclusion du gluten de l'alimentation :

-Régime sans gluten : -Date d'effet :

- Durée de régime :

-Délais de normalisation des Anticorps :

-IgA : -IgG : -IgA-AAG :

-IgA-AAR : - IgA-AAEM: -IgA-AAT:

-Délais de normalisation histologique : - FOGD :

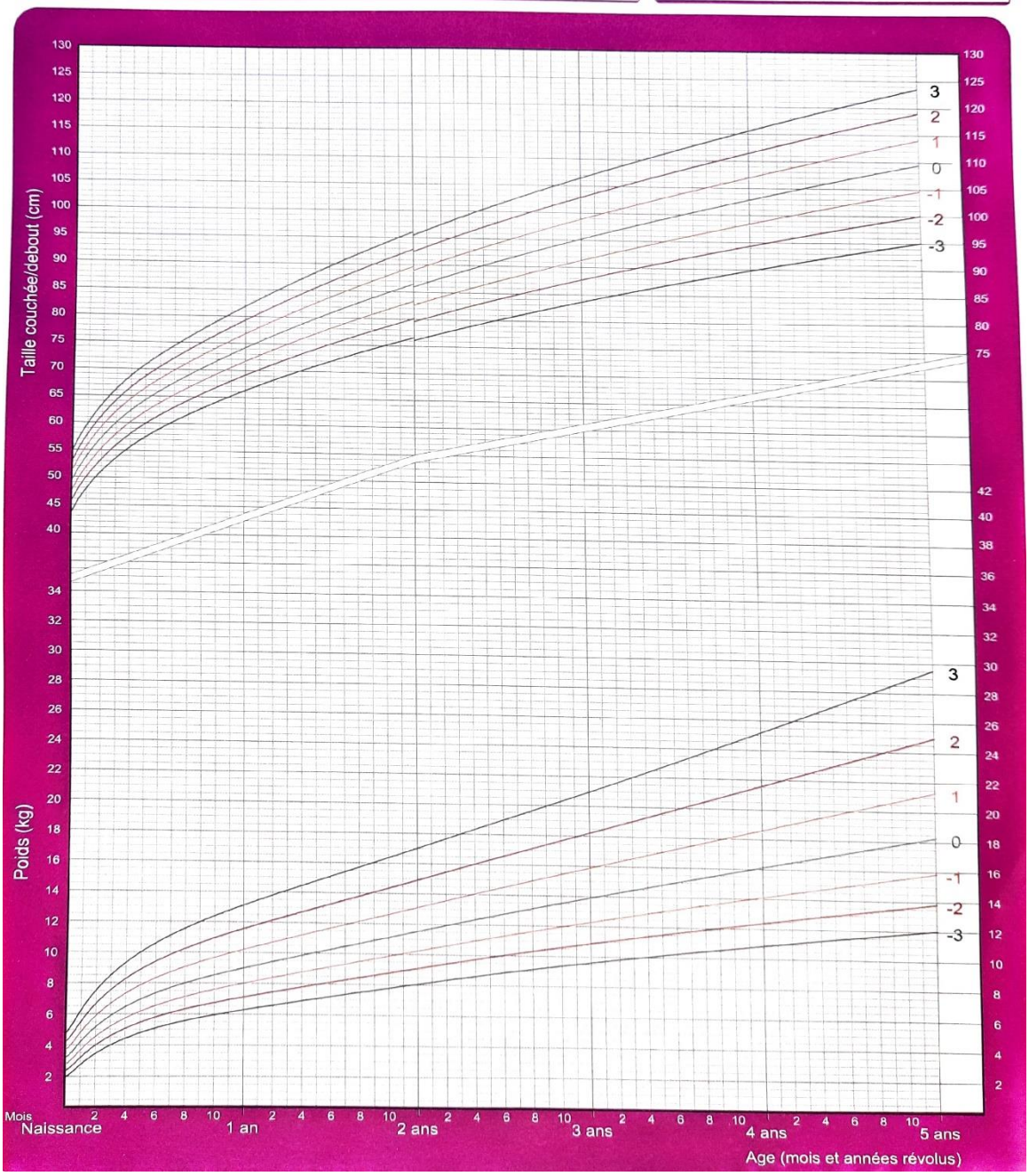
-Histologique :

- Autres traitements :

Courbe de croissance
Filles, 0 - 5 ans

Date	Age	Taille	Poids

Nom :	Prénom :	Date de naissance :
Taille père :	Taille mère :	Taille cible :

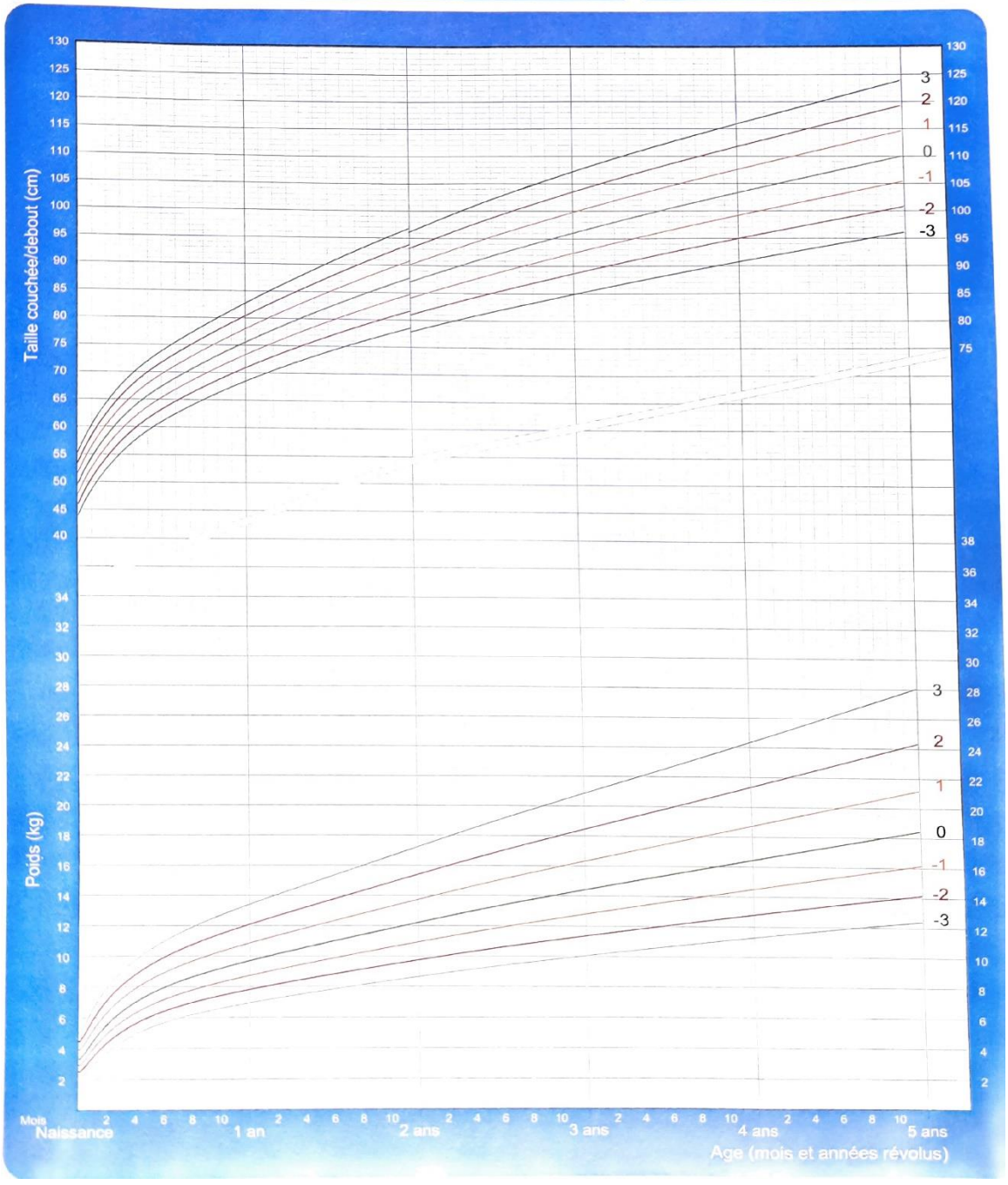


Courbe de croissance
Garçons, 0 - 5 ans

Date	Age	Taille	Poids

Nom : Prénom : Date de naissance :

Taille père : Taille mère : Taille cible :



Annexe III

Annexe III

- **Projet d'étude :** Etude de la physiopathologie des maladies cœliaque dans la région de l'ouest algérien.

FORMULAIRE DE CONSENTEMMENT ECLAIRE

- **Institution :**

Nom et prénom du tuteur :

Nom et prénom de l'enfant :

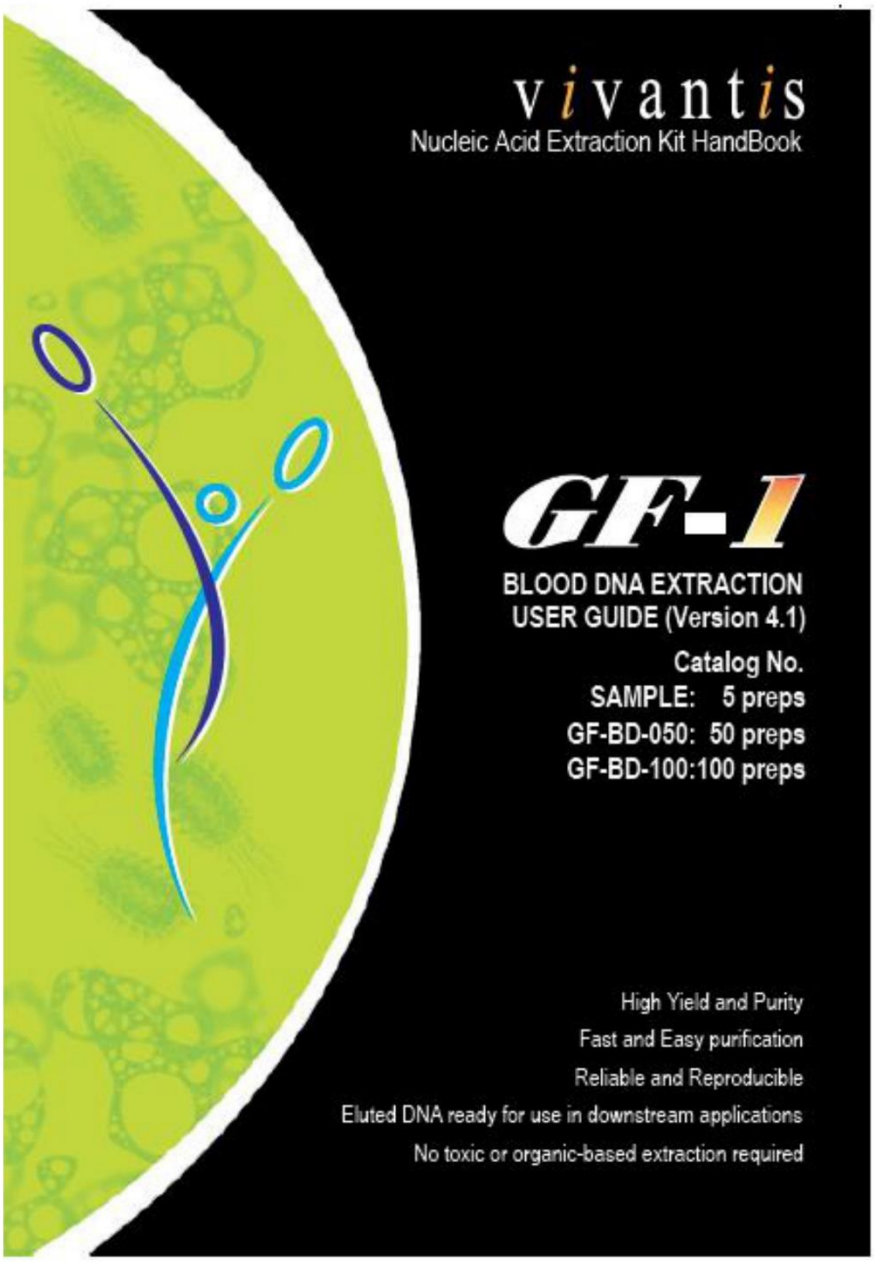
Nom de l'enquêteur principal : El MEHADJI DOUNIAZAD

- **Consentement éclairé des parents** (art.168/2 de la loi 90-17du31-07-90-J.O du 15-08-90) .
- La Maladie Cœliaque est considérée comme la plus fréquente des maladies inflammatoires intestinales dans la population Algérienne et elle influe négativement sur son développement.
- A travers ce projet de recherche, nous visons à : Déterminer le profil épidémiologique, clinique, sérologique, et thérapeutique de la maladie cœliaque chez l'enfant ainsi Evaluer l'impact de la diversité génétique ou le polymorphisme sur le développement de la maladie, également identifier les facteurs génétiques et moléculaires de susceptibilité prédisposant la population algérienne à cette pathologie.
- Cette procédure a pour objet d'organiser des séances de prélèvement sanguin afin de développer de nouveaux outils thérapeutiques dans le traitement de la Maladie de Cœliaque , ce travail est entrepris dans le service.
- Votre accord et votre collaboration sont donc souhaités pour la réalisation de ce travail Les résultats concernant votre enfant seront strictement confidentiels et protégés et son nom ne sera pas mentionné dans les données informatisées. Le bilan de votre enfant vous sera remis.
- Votre adhésion à ce travail est tout à fait libre. En cas de refus, vous continuerez à bénéficier des prestations de notre service, selon les modalités habituelles.

Date : Signature de tuteur : Signature de l'enquêteur

Annexe IV

Annexe IV


vivantis
Nucleic Acid Extraction Kit HandBook
GF-1
BLOOD DNA EXTRACTION
USER GUIDE (Version 4.1)
Catalog No.
SAMPLE: 5 preps
GF-BD-050: 50 preps
GF-BD-100:100 preps
High Yield and Purity
Fast and Easy purification
Reliable and Reproducible
Eluted DNA ready for use in downstream applications
No toxic or organic-based extraction required

Introduction

The **GF-1 Blood DNA Extraction Kit** is designed for rapid and efficient purification of genomic DNA from up to 400µl whole blood. This kit uses a specially treated glass filter membrane fixed into a column to efficiently bind DNA in the presence of high salt. This kit applies the principle of a mini-column spin technology and the use of optimized buffers to ensure that only DNA is isolated while cellular proteins, metabolites, salt and other low molecular weight impurities are removed during the subsequent washing steps.

High-purity genomic DNA is then eluted in water or low salt buffers and has an $A_{260/280}$ ratio between 1.7 and 1.9 making it ready to use in many routine molecular biology applications such as restriction enzyme digestion, PCR, Southern blotting, DNA fingerprinting, and other manipulations.

Kit components

Product Catalog No	5 Preps SAMPLE	50 Preps GF-BD-050	100 Preps GF-BD-100
Components			
GF-1 columns	5	50	100
Collection tubes	5	50	100
Blood Lysis Buffer **(Buffer BB)**	1.5ml	12ml	24ml
Wash Buffer 1 (concentrate)*	1.5ml	15ml	30ml
Wash Buffer 2 (concentrate)*	2.4ml	17ml	34ml
Elution Buffer	1.5ml	10ml	20ml
Proteinase K*	0.11ml	1.05ml	2 x 1.05 ml
Handbook	1	1	1

* Please refer to **Reconstitution of Solutions** and **Storage and Stability** before using this kit.

The **GF-1 Blood DNA Extraction Kit** is available as 50 and 100 purifications per kit.

The reagents and materials provided with the kit are for research purposes only.

Additional Materials to be Supplied by User

Absolute Ethanol (>95%)
RNase A (DNase-free) (20mg/ml)

Reconstitution of Solutions

The bottle labeled **Wash Buffer 1** and **Wash Buffer 2** contain concentrated buffer which must be diluted with absolute ethanol (>95%) before use.

For **SAMPLE (5 preps),**

Add **1.5ml** of absolute ethanol into the bottle labeled **Wash Buffer 1**.
Add **5.6ml** of absolute ethanol into the bottle labeled **Wash Buffer 2.**

For **GF-BD-050 (50 preps)**,

Add **15ml** of absolute ethanol into the bottle labeled **Wash Buffer 1**.
Add **40ml** of absolute ethanol into the bottle labeled **Wash Buffer 2**.

For **GF-BD-100 (100 preps),**

Add **30ml** of absolute ethanol into the bottle labeled **Wash Buffer 1**.
Add **80ml** of absolute ethanol into the bottle labeled **Wash Buffer 2**.
Store **Wash Buffer** at room temperature with bottle capped tight after use.

Storage and Stability

Store all solutions at 20°C - 30°C.
Proteinase K is stable for up to 1 year after delivery when stored at room temperature or 4°C. To prolong the lifetime of Proteinase K, storage at -20°C is recommended.
Kit components are guaranteed to be stable for 18 months from the date of manufacture **Buffer BB** may exhibit salt precipitation due to cold temperature. If this occurs, simply warm the bottle at 55°C - 65°C with occasional mixing until precipitate is completely dissolved.

Chemical Hazard

Buffer BB and **Wash Buffer 1** contain guanidine salts which can be harmful when in contact with skin or swallowed. Always wear gloves and practice standard safety precautions. Do NOT disinfect guanidine or extraction waste in solutions containing bleach or any other form of acid.
To clean any items contaminated with the reagent, simply soak in detergent and water to remove all traces of guanidine before cleaning with bleach or acidic solutions.

3. Loading to column

Transfer the sample into the column assembled in a clean collection tube (provided). Centrifuge at 5,000 x *g* for 1 min. Discard flow through.

4. Column washing 1.

Wash the column with 500µl **Wash Buffer 1** and centrifuge at 5,000 x *g* for 1 min. Discard flow trough.

Ensure that ethanol has been added into the Wash Buffer 1 before use (Refer to Reconstitution of Solutions)

5. Column washing 2

Wash the column with 500µl **Wash Buffer 2** and centrifuge at 5,000 x *g* for 1 min. Discard flow through. Wash column again with 500µl **Wash Buffer 2** and centrifuge at maximum speed for 3 minutes.

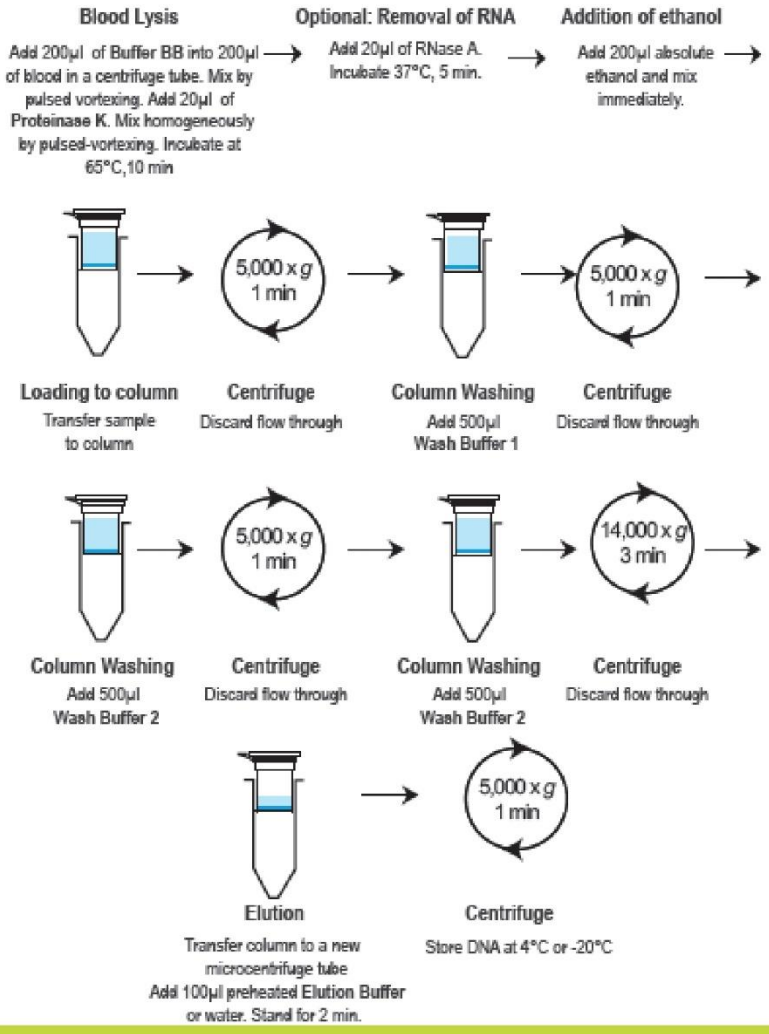
Ensure that ethanol has been added into the Wash Buffer 2 before use (refer to Reconstitution of Solutions).Ensure centrifugation for 3 min to remove ethanol completely.

6. DNA elution

Place the column into a clean microcentrifuge tube. Add 100µl of preheated **Elution Buffer**, TE buffer or sterile water directly onto column membrane and stand for 2 min. Centrifuge at 5,000 x *g* for 1 min to elute DNA. Store DNA at 4°C or 20 °C.

Ensure that the Elution Buffer is dispensed directly onto the center of membrane for complete elution. TE Buffer can also elute DNA although EDTA may inhibit subsequent enzymatic reactions. If water is used for eluting DNA, maximum elution efficiency is achieved between pH7.0 and 8.5.Store DNA at -20 °C as DNA may degrade in the absence of buffering agent.

Problem	Possibility	Suggestions
	Wash Buffer 1 and **Wash Buffer 2** are reconstituted wrongly	*Please refer to the 'Reconstitution of Solution'. Repeat purification with a new blood sample.*
	Column is not dried before addition of **Elution Buffer**	*Ensure column is spun dry at maximum speed for 3 minutes after addition of* **Wash Buffer 2.**
	Elution is not performed properly	*Pre-heat* ***Elution Buffer*** *to 65°C-70°C for eluting DNA.*
		Incubate column at room temperature for 2 minutes after addition of **Elution Buffer**.
		Ensure that the **Elution Buffer** *used is a low salt buffer or water with a pH range of 7.0 - 8.5.*
Low Purity ($A_{260/280}$)	*Incomplete blood lysis*	*Refer to problem "Low DNA yield".*
	Proteinase K *activity is decreased*	*Refer to problem "Low DNA yield"*
	Wash Buffer 1 *is not applied*	*Ensure that* **Wash Buffer 1** *is applied to the column before addition of* **Wash Buffer 2.**
DNA degradation / smearing	*Incomplete blood lysis*	*Refer to problem "Low DNA yield"*
	Blood sample is not stored properly	*Refer to problem "Low DNA yield".*
Poor performance of eluted DNA in downstream applications	*Eluted DNA contains traces of ethanol*	*Centrifuge the column at maximum speed for 3 min during second washing of column with* **Wash Buffer 2.**
	TE buffer is used to elute DNA. EDTA in TE buffer may inhibit subsequent enzymatic reaction	*Use* ***Elution Buffer*** *or water with a pH range of 7.0-8.5.*



Contact : info@vivantechnologies.com

Annexe V

Annexe V

Solis BioDyne
Data Sheet

5 x FIREPol® Master Mix Ready to Load

(7.5 mM $MgCl_2$)

Cat. No.	Pack Size	Conc. ($MgCl_2$)
04-12-00S15	0.1 ml SAMPLE (25 reactions)	7.5 mM
04-12-00115	1 ml (250 reactions)	7.5 mM

For *in vitro* use only

Description:

5 x FIREPol® Master Mix Ready to Load is a premixed ready-to-use solution containing all reagents required for PCR (except template, primers and water), additional compound needed for direct loading onto agarose gel and two tracking dyes (blue and yellow) that allow to monitor progress during electrophoresis.

Applications:

- Suited for a wide range of PCR assays

Reagent Composition:

- **FIREPol® DNA polymerase**
- **5 x Reaction Buffer B**
  0.4 M Tris-HCl, 0.1 M $(NH_4)_2SO_4$, 0.1% w/v Tween-20
- **7.5 mM $MgCl_2$**
  1 x PCR solution – 1.5 mM $MgCl_2$
- **1 mM dNTPs of each**
  1 x PCR solution – 200 µM dATP, 200 µM dCTP, 200 µM dGTP and 200 µM dTTP
- **Blue dye**
  Migration equivalent to 3.5-4.5 kb DNA fragment
- **Yellow dye**
  Migration rate in excess of primers in 1% agarose gel: <35-45 bp
- **Compound that increases sample density for direct loading**

Shipping and Storage conditions:

Routine storage: -20ºC
Shipping and temporary storage for up to 1 month at room temperature or storage for up to 6 months at 2-8ºC has no detrimental effects on the quality of 5 x FIREPol® Master Mix Ready to Load.

Safety warnings and precautions:

This product and its components should be handled only by persons trained in laboratory techniques. It is advisable to wear suitable protective clothing, such as laboratory overalls, gloves and safety glasses. Care should be taken to avoid contact with skin or eyes. In case of contact with skin or eyes, wash immediately with water.

Recommended PCR reaction mix:

Component	Volume	Final conc.
5 x FIREPol® Master Mix Ready to Load	4 µl	1 x
Forward primer (10 pmol/µl)	0.2-0.6 µl	0.1-0.3 µM
Reverse primer (10 pmol/µl)	0.2-0.6 µl	0.1-0.3 µM
Template DNA	x µl	5-50 ng/µl
Add H_2O	Up to 20 µl	

Recommended PCR cycles:

Operation	Temp.	Time	Cycles
Initial denaturation	**95ºC**	**3-5 min**	1
Denaturation	95ºC	20-40 s	25-30
Annealing	54-66ºC	30-60 s	
Elongation	72ºC	40 s - 4 min	
Final elongation	72ºC	5-10 min	

Recommendations:

We recommend using 5 x FIREPol® Master Mix Ready to Load in any PCR application that will be visualized by agarose gel electrophoresis and ethidium bromide staining.
We do not recommend using the 5 x FIREPol® Master Mix Ready to Load for PCR reactions where detergent free buffer system is required (detergent free 5 x Master Mix available upon request).
5 x FIREPol® Master Mix Ready to Load is not recommended for use in applications where spectrophotometric measurements (absorbance or fluorescence) are necessary because yellow and blue dyes can interfere with these applications.

Some applications this product is used in may require a license which is not provided by the purchase of this product. Users should obtain the license if required.

Related products:

Product name	Pack size	Cat. No.
FIREPol® DNA Polymerase	500 U	01-01-00500
FIREPol® DNA Polymerase	1000 U	01-01-01000
FIREPol® DNA Polymerase	2000 U	01-01-02000
HOT FIREPol® DNA Polymerase	500 U	01-02-00500
HOT FIREPol® DNA Polymerase	1000 U	01-02-01000
5 x FIREPol® Master Mix *(1.5 mM $MgCl_2$ final conc.)*	250 reactions	04-11-00115
5 x FIREPol® Master Mix *(2.5 mM $MgCl_2$ final conc.)*	250 reactions	04-11-00125
dNTP MIX *(20 mM of each)*	20 µmol	02-31-00020
dNTP MIX *(20 mM of each)*	100 µmol	02-31-00100
dNTP SET *(100 mM)*	4 x 25 µmol	02-21-00100
dNTP SET *(100 mM)*	4 x 100 µmol	02-21-00400

Solis BioDyne
Riia 185a, 51014 Tartu, Estonia, tel: +372 740 9960, fax: +372 740 2079, e-mail: solis@sbd.ee, www.sbd.ee