

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى جيجل

Faculté des Sciences de la Nature et de la  
Vie  
Département : Biologie Moléculaire et  
Cellulaire



كلية علوم الطبيعة والحياة  
قسم: البيولوجيا الجزيئية والخلوية

## Mémoire de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie

Thème

Protéolyse du gluten : une alternative thérapeutique de  
la maladie cœliaque

### Membres de Jury

Président : Dr. AISSAOUI S.  
Examineur : Dr. DERAÏ E.  
Encadrant : Dr. MEDOURI A.

### Présenté par

BOURAOUI Safa  
CHAOUI Wissam  
SAIDI Lina

Année Universitaire 2018-2019

Numéro d'ordre (bibliothèque) : .....

## Remerciements

Louange à Dieu, le tout puissant de nous avoir donné le courage, la patience et la force de réaliser ce travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Nous exprimons particulièrement les grands remerciements au **Dr. MEDOURI Asma**, qu'elle a encadrée et dirigée ce travail depuis les premiers instants. Nous la remercions pour son sérieux et ses efforts afin de nous aider, de nous conseiller et de nous orienter. Nous lui exprimons notre profond respect et nos chaleureux remerciements.

Nos sincères considérations et remerciements sont également exprimés aux membres du jury :

**Dr AISSAOUI Salima** pour nous avoir fait l'honneur de présider ce jury.

**Dr DERAÏ El Hadjla** de donner de son temps pour examiner ce travail.

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également au chef de département **M<sup>r</sup> BOUHOUS Mustapha** et aux enseignants de la faculté SNV de l'Université de Jijel. Merci à tous.

Nous souhaitons adresser nos remerciements également à tous les étudiants de «Master II Biochimie».

## Sincères remerciements





## *Dédicace*

Je dédie ce mémoire à :

***A ALLAH*** Tout puissant Qui m'a inspiré Qui m'a guidé dans le bon chemin Je vous dois ce que je suis devenue Louanges et remerciements Pour votre clémence et miséricorde.

### ***A mon très cher père***

*Aucune dédicace, ne pourrait exprimer avec fidélité, la profonde affection, l'estime et le respect que je vous porte. Aujourd'hui, je dépose entre tes mains le fruit de ton dévouement ainsi que l'expression de mon amour et mon respect envers toi. Que Dieu te donne une longue vie pleine de santé et de sérénité*

### ***A ma très chère mère***

*A qui je dois tout. Vous m'avez toujours aidé et encouragé tout au long de mes études. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation. Que Dieu tout puissant, te protège et t'assure une bonne santé et longue vie.*

### ***A mes chers frères Bilal et Youssouf et ma sœur unique Maroua***

*Je vous dédie ce travail en témoignage de l'amour et du soutien que vous m'avez toujours donné.*

### ***A mon très cher mari Hamza***

*Je te dédie ce travail avec tous mes vœux de joie, de santé, et de prospérité.  
Merci pour tes précieuses aide à la réalisation de ce travail.*

***A mes meilleurs amis  
Ilham T. Zina B.***

***A toute personne m'ayant consacré un moment pour m'aider, me  
Conseiller, m'encourager ou simplement me sourire.***

***À tous les Malades cœliaques***

***Safaa***



## **Dédicace**

Je dédie ce mémoire à :

**A ALLAH** Tout puissant Qui m'a inspiré Qui m'a guidé dans le bon chemin Je vous dois ce que je suis devenue Louanges et remerciements Pour votre clémence et miséricorde.

### **A la mémoire de mon très cher père**

Tu as été et tu seras toujours un exemple pour moi par tes qualités humaines, ta persévérance et ton perfectionnisme. Tu m'as appris, le sens du travail, de l'honnêteté et de la responsabilité. Ta bonté et ta générosité extrême sont sans limites. Aucun mot, aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, ma considération et l'amour éternel pour les conseils que tu m'as consentis pour mon éducation et mon bien être. Paix et miséricorde sur ton âme mon cher père et j'espère avoir été digne de ta confiance.

### **A ma très chère mère**

A qui je dois tout. Vous m'avez toujours aidé et encouragé tout au long de mes études. Ton amour, ta bonté, ta générosité extrême ainsi que ton soutien sont sans limites. Tu es et tu seras toujours pour moi le symbole de l'honnêteté, de la gentillesse, de la serviabilité et de la simplicité. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation. Que Dieu tout puissant, te protège et t'assure une bonne santé et longue vie.

### **A mes très chères sœurs**

A notre fraternité. Avec mon grand amour et toute ma tendresse, je te souhaite un avenir plein de joie, de réussite et surtout de santé. Je te dédie ce travail en te souhaitant beaucoup de bonheur et de succès.

### **A mes très chers frères**

Les mots ne sauraient exprimer l'éternelle affection que j'ai pour vous et ma gratitude. Je te dédie ce travail avec tous mes vœux de joie, de santé, et de prospérité. Merci pour tes précieuses aide à la réalisation de ce travail.

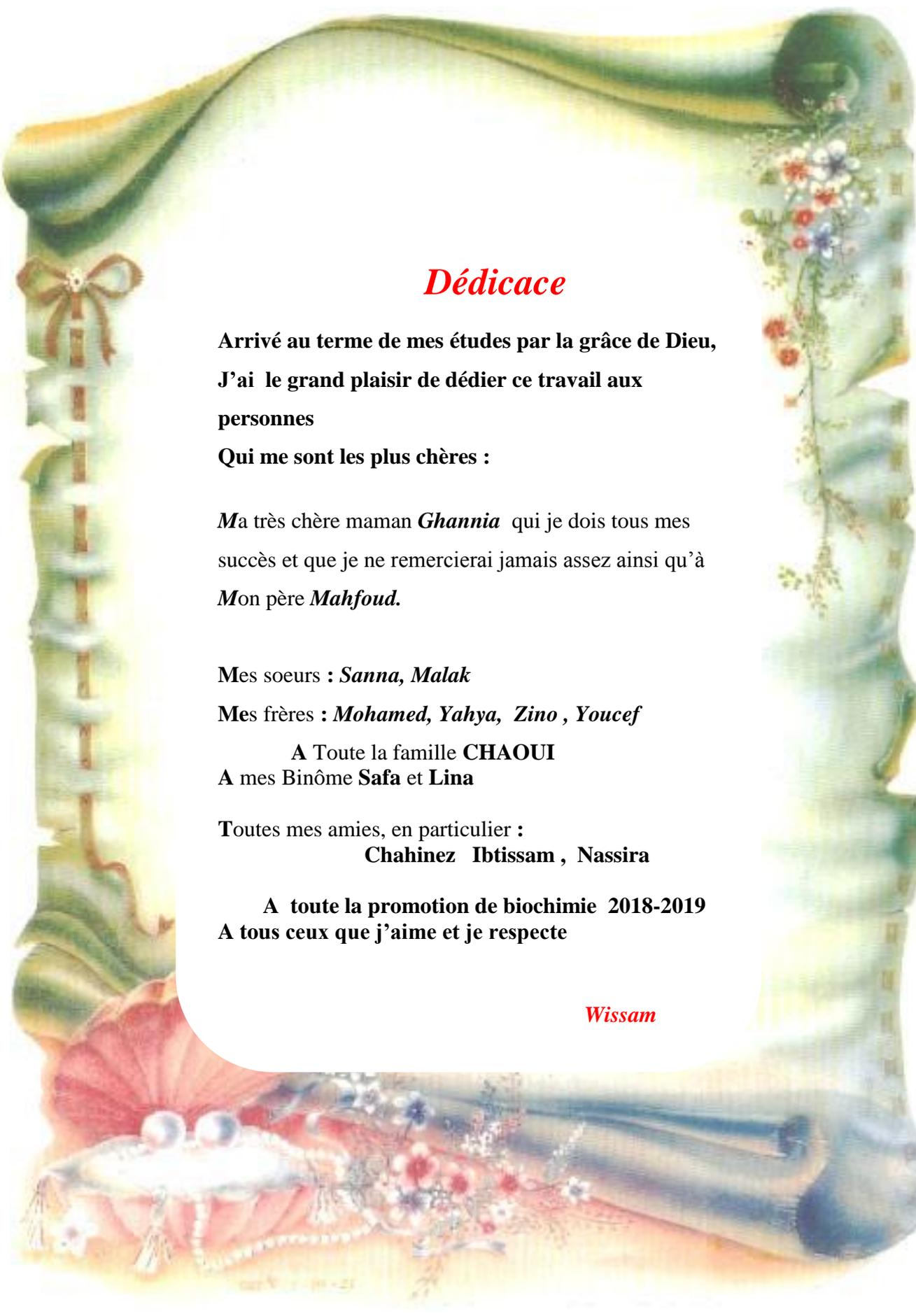
### **A mes meilleurs amis : Halima Maha Mina Zina Sara**

En souvenir d'agréables moments passés ensemble, et en témoignage de notre amitié. Je vous exprime par ce travail toute mon affection et j'espère que notre amitié restera intacte et durera pour toujours.

### **À tous les Malades cœliaques**

**A toute personne m'ayant consacré un moment pour m'aider, me Conseiller, m'encourager ou simplement me sourire.**

**LINA**



## *Dédicace*

**Arrivé au terme de mes études par la grâce de Dieu,  
J'ai le grand plaisir de dédier ce travail aux  
personnes**

**Qui me sont les plus chères :**

*Ma très chère maman Ghannia* qui je dois tous mes  
succès et que je ne remercierai jamais assez ainsi qu'à  
*Mon père Mahfoud.*

**Mes soeurs : Sanna, Malak**

**Mes frères : Mohamed, Yahya, Zino , Youcef**

**A Toute la famille CHAOUI  
A mes Binôme Safa et Lina**

**Toutes mes amies, en particulier :  
Chahinez Ibtissam , Nassira**

**A toute la promotion de biochimie 2018-2019  
A tous ceux que j'aime et je respecte**

*Wissam*

## **Résumé**

La maladie cœliaque résulte de lésions de la muqueuse de l'intestin grêle dues à une réponse immunitaire inappropriée à une protéine de céréale (blé, seigle, orge). Le seul traitement contre la MC consiste à éviter les protéines de gluten tout au long de la vie. Les produits sans gluten ne sont pas largement disponibles et sont généralement plus chers. C'est pourquoi; il est urgent de développer une thérapie alternative. La dégradation enzymatique du gluten entre autres approches, abolissant ses activités immunogènes et toxigènes, est une stratégie alternative attrayante pour la thérapie orale de la MC. Plusieurs études portant sur l'appréciation de l'activité de plusieurs protéases à détoxifier le gluten suivant différentes approches, ont été analysées. Cette revue se concentre sur les enzymes microbiennes et végétales présumées pour digérer le gluten.

**Mots-clés :** maladie cœliaque, gluten, protéolyse, thérapie enzymatique.

## **Abstract**

Celiac disease results from damage to the small intestinal mucosa due to an inappropriate immune response to a cereal protein (wheat, rye, barley). The only treatment for CD is life-long avoidance of gluten proteins. Gluten-free products are not widely available and usually more expensive. That is why; there is an urgent need to develop an alternative therapy. Enzymatic degradation of gluten among other approaches, abolishing its immunogenic and toxigenic activities, is an attractive alternative strategy for oral therapy in CD. Several studies examining the assessment of the activity of several proteases to detoxify gluten, according to different approaches, have been analyzed. This review focuses on microbial and plant enzymes presumed to digest gluten.

**Key words:** Celiac disease, gluten, proteolysis, enzymatic therapy.

## ملخص

ينتج مرض السيلياك عن تلف بطانة الأمعاء الدقيقة بسبب استجابة مناعية غير مناسبة لبروتين الحبوب (القمح والشيلم والشعير). العلاج الوحيد لمرض السيلياك هو تجنب بروتينات الغلوتين طوال الحياة. المنتجات الخالية من الغلوتين ليست متاحة على نطاق واسع وهي أغلى ثمناً بشكل عام. لهذا السبب من الضروري تطوير علاج بديل. يعتبر التحلل الأنزيمي للغلوتين ضمن هذه الطرق حيث يسمح بإلغاء الأنشطة المناعية والتسممية، وهو يعتبر استراتيجية بديلة ملفتة للعلاج عن طريق الفم.

وقد تم تحليل العديد من الدراسات التي تبحث في تقييم نشاط العديد من انزيمات البروتياز لإزالة السموم من الغلوتين وفقاً لنهج مختلفة. تركز هذه المراجعة على الإنزيمات الميكروبية والنباتية المفترضة لهضم الغلوتين.

**الكلمات المفتاحية:** مرض السيلياك، الغلوتين، التحلل البروتيني، العلاج بالأنزيمات

## Sommaire

Remerciements, dédicaces

Résumé

Liste des abréviations, des tableaux et des figures

Sommaire

Introduction..... 1

### Revue bibliographique

#### L'intestin grêle et immunité

1. Description anatomique..... 3

2. Structure de la paroi intestinale..... 3

2.1. La muqueuse ..... 4

2.2. La sous-muqueuse..... 5

2.3. La musculuse..... 5

2.4. La séreuse..... 5

3. Physiologie..... 5

4. Le système immunitaire intestinal..... 6

4.1. Premier niveau de défense : les barrières naturelles..... 6

4.2. Deuxième niveau de défense : la réponse adaptative intestinale..... 6

#### La maladie cœliaque

I. État des lieux ..... 8

1. Définition..... 8

2. Historique..... 8

3. Epidémiologie..... 8

4. Formes de la maladie cœliaque..... 9

5. Les facteurs de risque..... 12

5.1. Facteurs génétiques..... 12

5.2. Facteurs environnementaux..... 13

5.3. Relation entre la consommation de blé et la fréquence des haplotypes HLA..... 13

6. Physiopathologie..... 15

6.1. Franchissement de la barrière épithéliale par la gliadine.....	15
6.2. Formation du complexe gliadine-transglutaminase dans la lamina propria.....	16
6.3. Fixation des peptides du gluten sur les molécules HLA DQ2 et HLA DQ8.....	17
6.4. Formation du complexe gliadine-transglutaminase-HLA II et présentation par les macrophages aux lymphocytes T CD4 .....	18
6.5. Déstructuration de la matrice extracellulaire par les métalloprotéines.....	18
7. Symptômes de la maladie cœliaque .....	19
8. Diagnostic.....	19
8.1. Les tests sérologiques.....	19
8.2. Les tests histologiques.....	20
9. Complications .....	21
10. Prévention.....	22
II. Traitement de la maladie cœliaque .....	23
1. Le régime sans gluten.....	23
2. Thérapies en études précliniques.....	24
2.1. Inhibition du transport transcellulaire de la gliadine .....	24
2.2. Inhibiteurs d'HLA.....	24
2.3. Contrôler la réponse inflammatoire.....	24
2.4. Cibler les lymphocytes B .....	24
3. Thérapies en études cliniques.....	25
3.1. Nouvelle variété de blé et modification génétique.....	25
3.2. Glucocorticoïdes de faible biodisponibilité .....	25
3.3. Modulation de la perméabilité intestinale.....	25
3.4. Vaccination.....	25
3.5. Détoxification du gluten et prévention des lésions de la muqueuse intestinale.....	25
3.5.1. Séquestration luminale du gluten par des polymères .....	25
3.5.2. Thérapie enzymatique orale pour la digestion du gluten .....	25
<b>Le gluten</b>	
1. Définition du gluten .....	27
2. Sources du gluten .....	27

2.1. Sources naturelles de gluten : les céréales.....	27
2.2. Les produits transformés : une source majeure de gluten.....	27
3. Localisation du gluten dans le grain de blé.....	27
4. Classification .....	28
5. Composition du gluten.....	29
5.1. Les gliadines.....	29
5.2. Les gluténines.....	30
6. Intérêt dans la panification .....	31
7. Gluten et maladie cœliaque.....	31
<b>Méthodologie de l'étude.....</b>	<b>33</b>
<b>Résultats.....</b>	<b>34</b>
<b>Synthèse et discussion générale.....</b>	<b>46</b>
Conclusion.....	49
Références bibliographiques	
Annexe	

- Figure 01** Anatomie de l'intestin grêle
- Figure 02** Les différentes couches de l'intestin grêle
- Figure 03** Aspect histologique de la muqueuse intestinale
- Figure 04** Le système immunitaire intestinal
- Figure 05** Prévalence de la maladie cœliaque dans le monde en pourcentage
- Figure 06** Model de l'iceberg de la maladie cœliaque
- Figure 07** Localisation et organisation du complexe HLA au sein du chromosome 6
- Figure 08** Niveau de consommation du blé dans le monde
- Figure 09** Fréquence de l'haplotypes HLA DQ8 dans le monde en %
- Figure 10** Fréquence de l'haplotypes HLA DQ2 dans le monde en %
- Figure 11** Action de la gliadine au niveau de l'épithélium intestinal
- Figure 12** Etats actif et inactif de la transglutaminase tissulaire (TGt2)
- Figure 13** Influence de l'haplotypes HLA dans la liaison du gluten aux cellules présentatrices d'antigènes
- Figure 14** Schéma récapitulatif de la physiopathologie de la maladie cœliaque
- Figure 15** Modifications histologiques au cours de la maladie cœliaque
- Figure 16** Coupe d'un grain de blé
- Figure 17** Les différentes protéines du blé
- Figure 18** Structure polymérique du gluten
- Figure 19** Principaux épitopes du gluten
- Figure 20** Dégradation d'un mélange de gliadines (G) par des microorganismes de la plaque dentaire par voie orale
- Figure 21** Dégradation des gliadine mélangées par Rm et suppression des épitopes immunogènes
- Figure 22** Dégradation des gliadine mélangées par la subtilisineA et suppression des épitopes immunogènes
- Figure 23** Détermination des poids moléculaires des gliadines de blé et du degré d'hydrolyse par SDS-PAGE à l'aide des protéases fongiques spécifiques
- Figure 24** Détermination des poids moléculaires des gliadines du blé et du degré d'hydrolyse par SDS PAGE à l'aide des protéases bactériennes spécifiques
- Figure 25** La dégradation de gluten par Kuma030

- Figure 26**    Activité hydrolytique fécale à partir de protéines purifiées fécales humaines contre des peptides dérivés de la gliadine
- Figure 27**    Valeurs de l'ASC des concentrations de gluten dans l'estomac et le duodénum
- Figure 28**    Dégradation par les enzymes du blé
- Figure 29**    Dégradation de la gliadine en solution par des contrainte Fa-10 et Fa-13
- Figure 30**    Analyses RP-HPLC de la dégradation du peptide de la gliadine 33-mère dans la salive entière de tous les sujets

## **Liste des tableaux**

**Tableau 1** Prévalence de la maladie coéliquaue dans quelques wilayas de l'est Algérien

**Tableau 2** La composition en acide aminé des séquences N-terminal des gliadines

**Tableau 3** Caractérisation des types des protéines de gluten

**Tableau 4** Efficacité de la dégradation de la gliadine et de la sécaline par des préparations d'enzymes germées d'avoine, de blé et d'orge

## Liste des abréviations

<b>CMH</b>	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
<b>CPA</b>	Cellule présentatrice d'antigène
<b>DGP</b>	Peptide déamidé de gliadine
<b>HLA</b>	Antigène leucocytaire humain
<b>IL</b>	Interleukine
<b>IFI</b>	Immunofluorescence indirecte
<b>LB</b>	Lymphocyte B
<b>LT</b>	Lymphocyte T
<b>LTreg</b>	Les lymphocytes T régulateurs
<b>MC</b>	Maladie cœliaque
<b>MICA</b>	Molécule Intercellulaire d'Adhésion
<b>NkG2D</b>	Récepteur activateur des cellules « Natural-Killer »
<b>RSG</b>	Régime sans gluten
<b>SG-FPM</b>	Sous unités de gluténines de faible poids moléculaire
<b>SG-HPM</b>	Sous unité de gluténines de haut poids moléculaire
<b>TG</b>	Transglutaminases
<b>TGF</b>	Transforming Growth Factor
<b>TGt</b>	Transglutaminase tissulaire
<b>Th</b>	lymphocytes T helper
<b>TNF-</b>	Le facteur de nécrose tumorale
<b>PT</b>	Pepsine /Trypsine

## **Introduction**

La maladie cœliaque est une entéropathie auto-immune chronique induite par l'ingestion de gluten chez des sujets génétiquement prédisposés (Lamireau et *al.*, 2008).

Les études épidémiologiques ont montré que 1% de la population mondiale souffre de la maladie cœliaque (Catassi et *al.*, 2014). La plus haute prévalence au monde a été décrite dans la population sahraouie (5,8%) (Catassi et *al.*, 2001), et dans les pays européens (5%) (Fassano et *al.*, 2001). Cette prévalence reste aussi élevée en Afrique du nord avec 1,4% (Denery et *al.*, 2001). En Algérie, il existe très peu de travaux relatifs à la maladie cœliaque. Les seules données à notre disposition sont celles de Benatallah (2009) et de Boudraa et *al.* (2008) qui ont parlé de la prévalence dans l'est Algérien et citent une prévalence de 1,07% à Mila. Cependant, la prévalence réelle est beaucoup plus élevée en tenant compte des formes silencieuses, pauci-symptomatiques ou atypiques.

La maladie est caractérisée par une inflammation chronique du grêle aboutissant à une atrophie villositaire duodénojéjunale ce qui entravera les fonctions de digestion et d'absorption intestinales, avec une signature immunologique traduit par la présence d'anticorps spécifiques. L'activation du système immunitaire inné conjointe à celle du système immunitaire adaptatif explique l'inflammation intestinale et les manifestations cliniques qui impactent fortement sur la qualité de vie des malades. L'histologie couplée à la sérologie est le seul moyen fiable de faire le diagnostic de la maladie (Husby et *al.*, 2012).

Le régime sans gluten (RSG) est à l'heure actuelle le seul traitement disponible de la maladie cœliaque. Ce traitement, purement diététique, permet la régression des symptômes, l'amélioration du statut nutritionnel et la cicatrisation de la muqueuse intestinale. La poursuite de ce régime pendant toute la vie est recommandée dans le but essentiel de prévenir les complications de la maladie, en particulier l'ostéoporose et les affections malignes. Cependant, l'adhésion au RSG reste très contraignante. Compte tenu de ces problèmes, les patients non satisfaits, ressentent un besoin de thérapies alternatives. Des nouvelles perspectives thérapeutiques émergent, parmi les pistes actuellement analysées, la détoxification du gluten et en particulier la thérapie enzymatique orale semble une alternative prometteuse au régime sans gluten strict. Certaines études encourageantes montrent que les endopeptidases (végétales et microbiennes) semblent être efficaces pour réduire la toxicité du gluten (Helmerhorst, 2008).

Dans ce contexte, notre objectif est d'évaluer l'état de l'art des études portant sur la stratégie de l'hydrolyse enzymatique des peptides cœliaco-actifs et estimer leur impact sur la possibilité du traitement alternatif de la maladie cœliaque.

Dans un premier temps, nous exposerons des généralités sur l'intestin grêle (le siège de la maladie) tout en mettant le point sur le système immunitaire intestinal ainsi que le mécanisme de tolérance intestinale afin de faciliter la compréhension de la physiopathologie de la maladie.

Ensuite nous décrirons l'état des lieux de la maladie cœliaque ainsi que ses caractéristiques, sa physiopathologie, les méthodes diagnostiques, la prévention et les alternatives de traitement.

Puis nous abordons la composition du gluten et quels aliments en constituent une source, sa consommation et quelle est son utilité et sa relation avec la maladie cœliaque.

La méthodologie d'étude et les résultats d'analyse des articles seront décrits avant de présenter une discussion et une synthèse générale des résultats de l'analyse.

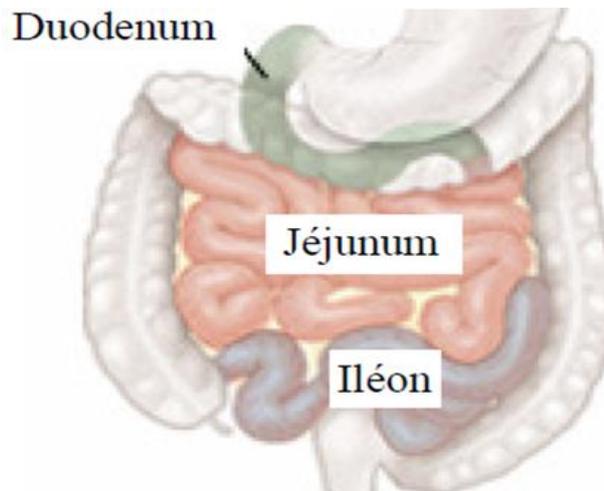
L'intestin grêle est une structure tubulaire spécialisée de l'abdomen dont la longueur chez l'adulte est voisine de 6 mètres (Thomson et *al.*, 2003).

### 1. Description anatomique

L'intestin grêle est la partie du tube digestif reliant l'estomac à partir du Pylore, au gros intestin par la valvule iléo-caecale (figure 01). IL est subdivisé en deux segments :

- Un premier fixe dépourvu de mésentère, c'est le duodénum ayant la forme d'un cadre ouvert dans sa partie supérieure gauche, et à son extrémité distale, il est en continuité avec le jéjunum (Thomson et *al.*, 2003).

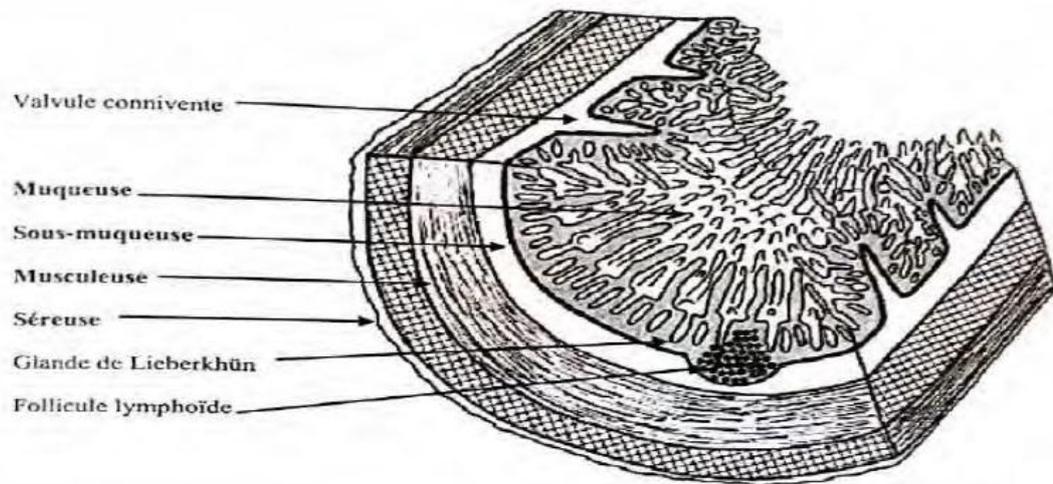
- Un deuxième segment qui est le jéjuno-iléon relativement mobile et plus long, s'étend de l'angle duodéno-jéjunal à la valvule iléo-caecale, et comporte deux segments : un proximal c'est le jéjunum et un distal c'est l'iléon (Rouviere et *al.*, 2005).



**Figure 01 :** Anatomie de l'intestin grêle (Ducaroug, 2012).

### 2. Structure de la paroi intestinale

La paroi du tube digestif varie avec chaque segment, suivant les besoins physiologiques des régions, mais présente des caractéristiques communes. Ainsi, elle peut toujours être décrite en 4 tuniques qui sont de la superficie (face à la "lumière") à la profondeur : la muqueuse, la sous-muqueuse, la musculuse et la séreuse (Figure 02) (Frexinos, 1988).



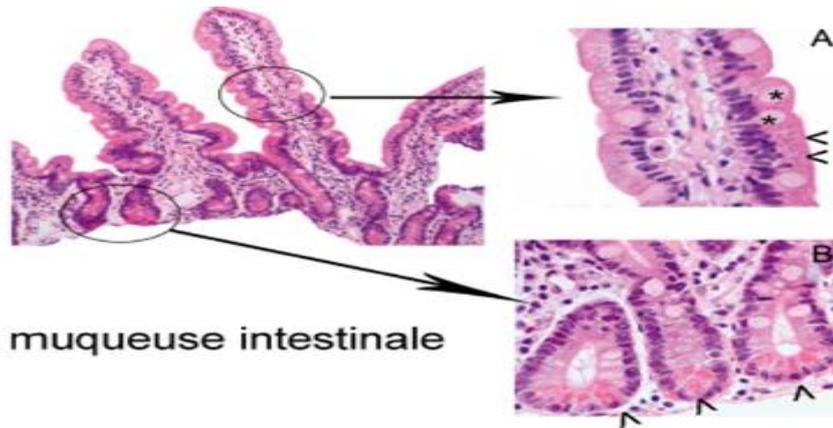
**Figure 02 :** Les différentes couches de l'intestin grêle (Bao et *al.*, 2012)

### 2.1. La muqueuse

La muqueuse est la couche la plus superficielle et la structure la plus variable (Thomson et *al.*, 2003, Chantal, 2011). Elle comporte :

- La lamina propria, ou chorion : un tissu de soutien de l'épithélium intestinal
- La musculaire muqueuse : une fine couche de muscles lisses longitudinaux générant les mouvements locaux et le repli de la muqueuse (Lee et *al.*, 1988).
- L'épithélium de revêtement : est constitué d'une monocouche cellulaire reposant sur la lamina propria et comporte généralement un mélange de différentes cellules épithéliales (El Homsî, 2007).

La couche épithéliale de la muqueuse peut être divisée en régions à villosités et à cryptes (Figure 03). La muqueuse comporte les villosités intestinales, expansions vers la lumière, avec un axe villositaire tapissé par l'épithélium de surface (El Hannach, 2010). Les glandes ou crypte sont invaginées en formes de doigts vers la paroi musculaire (Catala et *al.*, 2008)



**Figure 03** : Aspect histologique de la muqueuse intestinale (Masson, 2014). A. Villosité avec des entérocytes (>) des cellules caliciformes (\*) et des lymphocytes intraépithéliaux (cercle blanc) B. Crypte intestinale avec des cellules de Paneth (>)

## 2.2. La sous-muqueuse

Elle est composée d'un tissu conjonctif plus dense contenant des vaisseaux sanguins et un réseau de nerfs sympathiques, le plexus de Meissner qui commande la motilité du tube digestif (Thomson et *al.*, 2003, Chantal, 2011).

## 2.3. La musculuse

La musculuse est composée de deux couches de fibres musculaires externes et internes séparées par des cellules ganglionnaires du plexus myentérique (plexus d'Auerbach) assurent l'innervation végétative du tube digestif (Thomson et *al.*, 2003, Chantal, 2011).

## 2.4. La séreuse

La séreuse (ou adventice) est une couche de cellules mésothéliales provenant du péritoine (Thomson et *al.*, 2003).

## 3. Physiologie

Les principales fonctions de l'intestin grêle sont la digestion et l'absorption des nutriments. Au cours de ces processus, la motilité de l'intestin grêle assure le mélange des aliments et des enzymes digestives, favorise le contact du chyme avec les cellules absorbantes sur une longueur suffisante de l'intestin et, finalement, permet la propulsion des résidus dans le côlon (Thomson et *al.*, 2003).

Les enzymes intestinales sont élaborées dans les cellules épithéliales qui tapissent les villosités. Toute la digestion effectuée par ces enzymes a lieu à l'intérieur des cellules, à la surface de leurs villosités. Ces enzymes comprennent : La maltase, l'invertase et la lactase pour la digestion des glucides, les peptidases pour la digestion des protéines, la ribonucléase et la désoxyribonucléase

pour les acides nucléiques (Samake, 2008).

#### **4. Le système immunitaire intestinal**

La muqueuse intestinale représente la principale porte d'entrée des pathogènes, cela nécessite donc une réponse immune rapide et efficace. Le système immunitaire intestinal est un système complexe car il doit faire la distinction entre des antigènes commensaux (antigènes alimentaires, flore bactérienne) et des antigènes pathogènes (bactériens, viraux, parasitaires). La réponse immunitaire intestinale génère, contre certains antigènes, une tolérance locale et systémique (Abreu, 2010).

##### **4.1. Premier niveau de défense : les barrières naturelles**

La première ligne de défense est formée par les barrières naturelles que sont la peau et les muqueuses. 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,
- La grande capacité de renouvellement de l'épithélium intestinal en 2 à 5 jours,
- 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 micro-organismes,
- 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 défensines 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.

Dans la majorité des cas, ces barrières ainsi que la flore bactérienne saprophyte empêchent les agents pathogènes de pénétrer. Interviennent également à ce niveau les Immunoglobuline A (Ig A) sécrétoires (Abreu, 2010).

##### **4.2. Deuxième niveau de défense : la réponse adaptative intestinale**

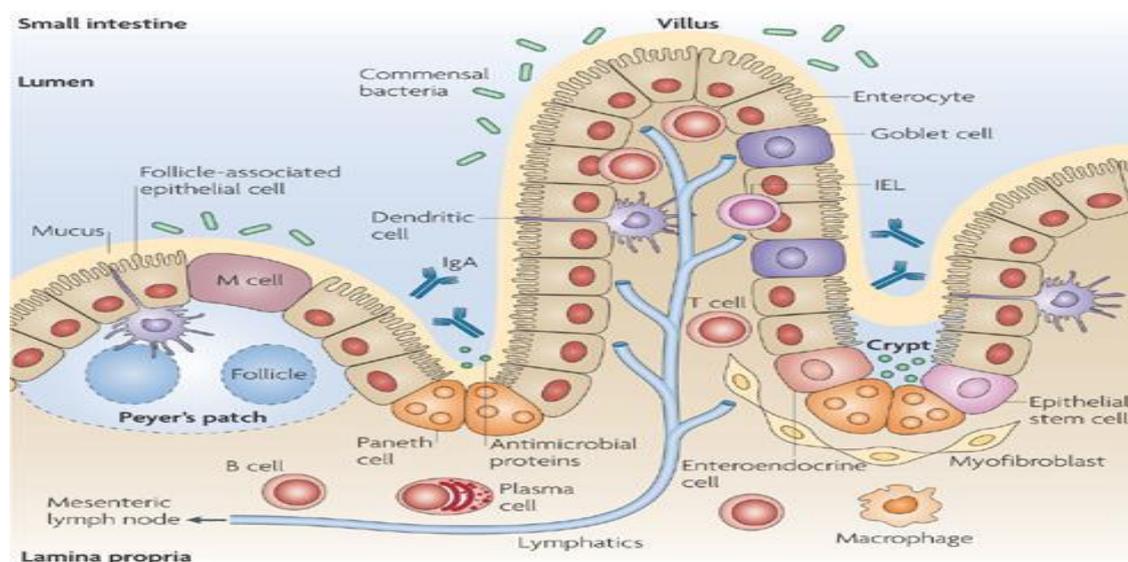
On désigne sous le nom de GALT : Gut-associated lymphoid tissue, le système lymphoïde associé à l'intestin (Figure 04) qui est composé de :

- lymphocytes diffus éparpillés à travers l'épithélium et la lamina propria

- sites organisés tels que les plaques de Peyer, les ganglions lymphatiques drainants et les follicules lymphoïdes individuels.

Les plaques de Peyer sont constituées en surface de cellules épithéliales intestinales mais également de cellules M qui sont dépourvues de bordure en brosse et forment des replis cytoplasmiques où viennent se loger les lymphocytes T (LT) et lymphocytes B (LB), les plasmocytes et les macrophages. Elles se comportent comme un filtre à antigène. Elles sont également composées d'un dôme sous épithélial riche en cellules dendritiques qui captent les antigènes et de follicules lymphoïdes qui sont le siège de la coopération entre les cellules présentatrices d'antigènes et les LT et LB qui induisent et orientent la réponse immunitaire.

Les lymphocytes Natural Killer (NK) sont des cellules du système immunitaire inné qui n'éliminent pas directement les agents infectieux. Les cellules tueuses naturelles éliminent les cellules dont la fonction est altérée, comme les cellules tumorales ou les cellules infectées par un virus. Par exemple, elles peuvent reconnaître les cellules n'exprimant plus le Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH) de classe I. Cette situation est observée durant une infection virale, certains virus pouvant induire la diminution de l'expression du CMH de classe I pour éviter la reconnaissance par d'autres cellules immunitaires comme les lymphocytes T clusters de différenciation (CD8) qui sont de grands lymphocytes qui possèdent des granules intracytoplasmiques et doués de propriétés cytotoxiques (Abreu, 2010).



**Figure 04** : Le système immunitaire intestinal (Abreu, 2010)

## I. État des lieux

### 1. Définition

La maladie cœliaque est une entéropathie auto-immune chronique induite par l'ingestion du gluten chez des personnes génétiquement prédisposées (Ludvigsson et *al.*, 2013). Comme dans la sensibilité au gluten, les patients présentent une inflammation du tube digestif, mais dans ce cas, l'altération de la muqueuse intestinale ainsi que l'atteinte de la barrière épithéliale conduisent à une malabsorption des nutriments. Elle s'apparente moins aux allergies alimentaires qu'aux maladies auto-immunes, auxquelles elle est fréquemment associée. Néanmoins, son expression strictement dépendante d'une exposition au gluten en fait une exception parmi ces maladies, puisqu'elle est la seule pour laquelle un facteur environnemental clé a été identifié (Gujral et *al.*, 2012).

### 2. Historique

Connue depuis des siècles, individualisée depuis quelques décennies, la maladie cœliaque est en train de vivre, actuellement une révolution susceptible de changer nos pratiques, grâce à la mise en évidence des formes pauci- ou asymptomatiques.

En effet, elle a été décrite en 1888 par Samuel Gee, toutefois elle n'a été distinguée de la mucoviscidose qu'en milieu du XX<sup>ème</sup> siècle. La toxicité du gluten a été mise en cause en 1941. La présence d'anticorps circulants a été objectivée en 1980. Neuf ans plus tard, Sollid a identifié les molécules Human Leucocyte Antigen (HLA – DQ2) et HLA – DQ8 comme principaux facteurs de risque génétique de la maladie. Quant à l'identification décisive des anticorps dirigés contre la transglutaminase (TG), elle remonte à 13 ans, et a permis de faire des progrès pour comprendre la physiopathologie de la maladie et en poser le diagnostic. Les séquences toxiques du gluten ont été démembrées depuis une dizaine d'années (plus de 100 peptides différents) (Mouterde; 2008).

### 3. Épidémiologie

La carte épidémiologique de la maladie cœliaque a changé au fil du temps. En effet, considérée autrefois comme une maladie rare, elle est actuellement décrite partout dans le monde. On note aussi qu'au cours de ces 30-40 dernières années, il existe une augmentation des nouveaux cas diagnostiqués, sans que l'on puisse donner une véritable explication à cet état de fait. En effet, la maladie cœliaque touche environ 1% de la population mondiale (Catassi et *al.*, 2015). La plus haute prévalence au monde a été décrite dans la population sahraouie (5,8%) (Figure 05) (Catassi et *al.*, 2001).



**Figure 05** : Prévalence de la maladie cœliaque dans le monde en pourcentage (Lionettie et *al.*, 2015)

La prévalence de la maladie dépend des critères diagnostiques utilisés. Elle n'est que de 1/1000 à 1/2000 si l'on considère uniquement la forme classique, mais en prenant en compte la séroprévalence globale, elle est bien plus fréquente, en effet, elle est estimée à environ 1/100 en Europe et aux Etats-Unis (Malamut et *al.*, 2012, Catassi et *al.*, 2015). Elle augmente avec l'âge, dépassant 2% après 50 ans. La prévalence de la maladie cœliaque active est très variable dans les différentes populations et la majorité des formes atypiques ou silencieuses reste non diagnostiquées (Lamireau et *al.*, 2015). Des incidences proches de celle de l'Europe ou des Etats-Unis sont retrouvées en Afrique du Nord, au Moyen-Orient ou en Inde. En revanche la maladie cœliaque est quasiment inconnue en Asie du Sud Est et en Afrique Noire (Malamut et *al.*, 2012). Dans les pays maghrébins, Boudraa *et al.* (1996) et Boudraa et Touhami (1997), citent une incidence de 1,2‰ naissances vivantes en Tunisie à comparer à 1,3‰ chez les maghrébins de souche résidant en région Midi-Pyrénées (France). En Algérie, la prévalence reste toujours méconnue. Les informations fournies sont celles de (Boudraa et *al.*, 2008) qui ont parlé de la prévalence dans l'est Algérien (Tableau 01).

**Tableau 01** : Prévalence de la maladie cœliaque dans quelques wilayas de l'est Algérien (Boudraa et *al.*, 2008)

Willaya	Prévalence%
Guelma	1.04
Khenchla	0.88
Mila	1.07

La maladie cœliaque a deux pics de fréquence, avec une révélation soit dans l'enfance ou à l'âge adulte (entre 20 et 40 ans). Il existe une nette prédominance de la maladie cœliaque chez la femme, en particulier chez l'adulte jeune (Dixit et *al.*, 2014). Dans la plupart des études, la population féminine représente 60 à 70 % des cœliaques diagnostiqués (Schapepert et *al.*, 2006). L'incidence de la maladie cœliaque a été multipliée par 5 au cours des 25 dernières années, probablement lié à une meilleure reconnaissance des formes atypiques et silencieuses grâce aux tests sérologiques de dépistage (Catassi et *al.*, 2014, Lamireau et *al.*, 2015).

#### 4. Formes de la maladie cœliaque

La maladie cœliaque peut surgir à tout âge. Elle est précoce avant 5 mois surtout si l'introduction du gluten est précoce (Bourrillon, 2000), elle apparaît le plus souvent chez les sujets en bas âge entre 2 et 6 mois, période correspondant au sevrage du lait maternel. Dans ces cas, on parle de formes du « nourrisson et du très jeune enfant » cependant, elle peut survenir chez les enfants d'environ 9 ans et on parle dans ce cas de « formes tardive de l'enfant ». La maladie peut même parfois parvenir plus tard, à l'âge adulte entre 30 et 59 ans et plus précocement chez les femmes que chez les hommes on parle dans ce cas de « formes adultes » (Boudraa et *al.*, 2008).

Cinq phénotype de la maladie sont identifiés (Figure 06) (Schmitz et *al.*, 2007).

- **Classique** : la lésion consiste en une atrophie villositaire totale ou subtotale de siège au moins proximal (duodéal ou duodéno-jejunale) avec une augmentation des lymphocytes intra-épithéliaux (Sazjewska et *al.*, 2012).

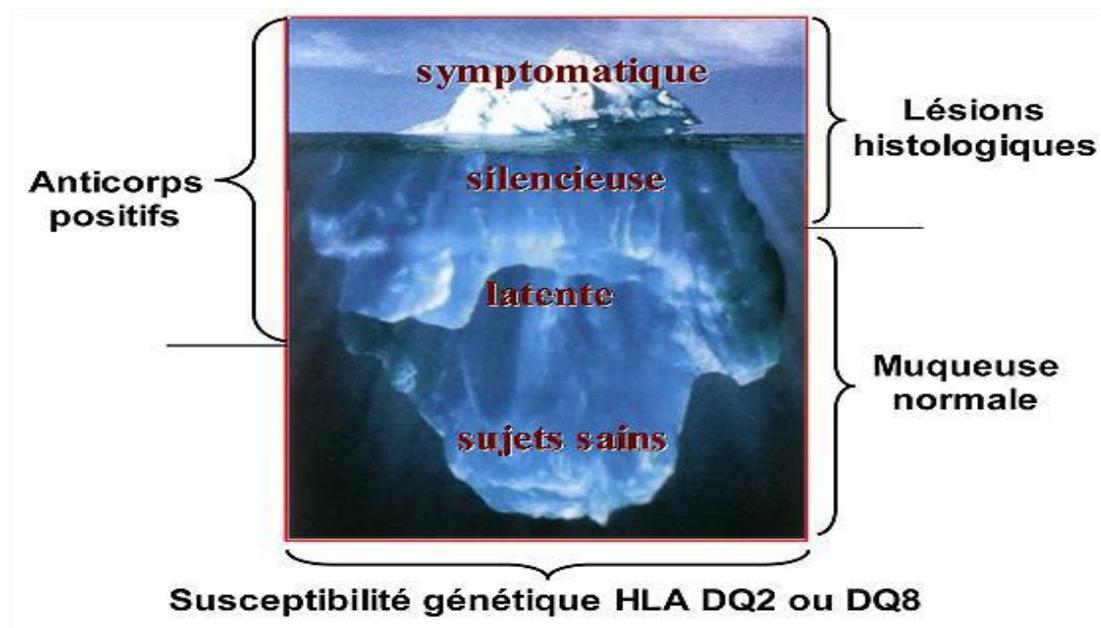
- **Atypique** : les formes atypiques sont les formes les plus fréquents, fais de symptômes extra-digestif (anémie, signes cutanés, une augmentation significative du retard pubertaire et de la ménopause précoce), ou digestif (diarrhée et la malabsorption) (Rampertab et *al.*, 2006).

- **Silencieuse** : est caractérisé par la présence d'auto-anticorps dans le sérum, l'existence de lésion histologique intestinales typique chez des sujets HLA DQ2 ou DQ8 positifs mais asymptomatique. Un interrogatoire minutieux révèle cependant souvent des signes digestifs frustes ou un déficit de taille chez l'enfant. Ces formes pauci-symptomatique peuvent s'accompagner de déficits nutritionnels en oligoéléments, minéraux, ou une ostéoporose (Hoffenberg et *al.*, 2006).

- **Latente** : patients qui sont asymptomatiques, les sérologies positives sont isolées et la muqueuse intestinale étant morphologiquement normale avec parfois seulement une augmentation de la proportion des lymphocytes intra-épithéliaux. Le malade est bien porteur des gènes HLA DQ2/DQ8. Pendant cette phase de latence, la biopsie intestinale ne montre pas d'atrophie villositaire, mais des signes d'activation immunologique peuvent être présents dans la muqueuse intestinale et les auto-anticorps spécifique sont présents. Chez ces sujets, des symptômes peuvent

apparaître progressivement accompagnés de lésions intestinales signant le passage à la forme active de la maladie. La forme active de la maladie est caractérisée par la présence de symptômes intestinaux ou extra- digestif, d'une atrophie villositaire avec hyperplasie des cryptes et d'auto-anticorps circulants (Rostom et *al.*, 2006).

• **Réfractaire** : malades cœliaques ne répondent pas à un régime sans gluten. (Rostom et *al.*, 2006).



**Figure 06** : Model de l'iceberg de la maladie cœliaque (Olives, 2006)

Tous les experts sont d'accord sur l'image de l'iceberg cœliaque (Figure 06) qui a été proposé par Della Morte et Anne Ferguson il y a une quinzaine d'années afin d'illustrer la difficulté à estimer la prévalence de la maladie cœliaque. Cette iceberg représente l'ensemble de la population exprimant la susceptibilité génétique à la maladie cœliaque, soit les haplotypes HLA DQ2 ou HLA DQ8. Tous ces sujets ne développeront pas la maladie cœliaque c'est pourquoi le bas de l'iceberg représente les sujets sains. Puis des personnes vont développer des auto-anticorps positifs à la maladie mais sans symptômes et sans lésion histologique de la muqueuse intestinale (forme latente). Puis encore d'autres personnes présenteront, en plus des anticorps, des lésions histologiques de la muqueuse intestinale mais toujours sans symptôme, (forme silencieuse). Ces deux formes représentent le nombre total de cas non diagnostiqués et sont donc représentées immergées. Enfin les personnes qui associent la susceptibilité génétique à la maladie cœliaque, les anticorps positifs, les lésions intestinales et les symptômes présentent la maladie cœliaque dite symptomatique (ou active). Il s'agit de la seule partie visible de l'iceberg, elle représente le nombre de cas cliniquement diagnostiqués soit 1/2500 à 1/3000 (Bigare, 2016).

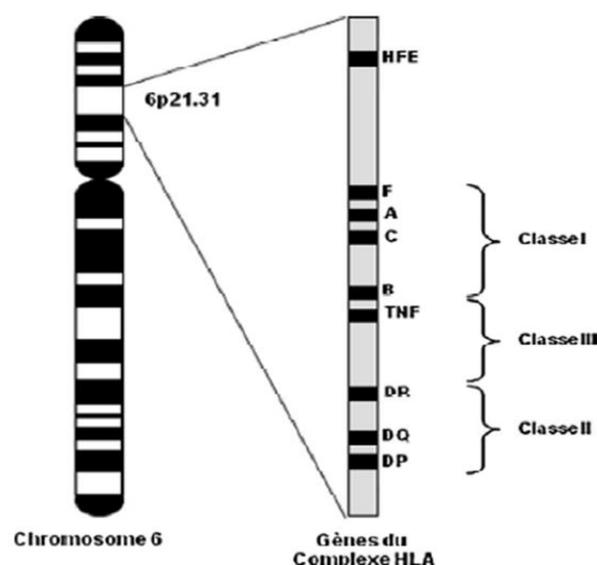
## 5. Les facteurs de risque

La MC est une maladie chronique multifactorielle impliquant des facteurs environnementaux et génétiques (Bertrand; 2006).

### 5.1.Facteurs génétiques

La survenue de la MC dépend obligatoirement de l'exposition orale au gluten, mais aussi de facteurs complémentaires comme la prédisposition génétique. Les gènes majeurs de prédisposition sont localisés dans le système HLA de classe II qui incluent DR, DQ et DP sur le bras court du chromosome 6 (figure 07) (Roujon et *al.*, 2011).

Plus de 90% des patients atteints de maladie cœliaque expriment une molécule du système HLA de classe II de type DQ2 (ou plus rarement DQ8 chez 5 à 10% des cas), alors que cette molécule n'est présente que chez 20 à 30 % des sujets sains. La présence de ces groupes ne signifie pas, pour autant, être porteur de la maladie car ils sont retrouvés chez environ 30 % des individus dans la population générale (Roujon et *al.*, 2011). La recherche suggère que, bien qu'ils soient des éléments clés pour la pathogenèse de la maladie cœliaque, les haplotypes HLA à eux seuls sont responsables d'environ 35–40% de la prédisposition génétique (Abadi et *al.*, 2011). De multiples autres gènes semblent impliqués, notamment des gènes associés à la production de protéines intervenant dans le contrôle de la perméabilité intestinale (augmentation de la perméabilité intestinale chez les patients cœliaques favorisant l'entrée de gliadine) et des gènes associés ou non au développement du diabète de type 1 (Nion-Larmurier et *al.*, 2009).



**Figure 07** : Localisation et organisation du complexe HLA au sein du chromosome 6 (Roujon et *al.*, 2011)

## 5.2. Facteurs environnementaux

L'agent exogène est le gluten, composant protéique des farines de blé, de seigle, d'orge et d'avoine. Les produits toxiques au cours de la MC sont les fractions prolamines de gluten : gliadines (blé), sécalines (seigle), hordéines (orge) (avoine). Les fragments immunogéniques sont caractérisés par leur richesse en glutamine et en proline (Mouterde *et al.*, 2008). Ces acides aminés confèrent une résistance à la dégradation enzymatique d'une part (polypeptides riches en proline) et forme un substrat idéal pour la désamination par TG (polypeptides riche en glutamine) (Lerner, 2010).

D'autres facteurs environnementaux probablement infectieux, viraux et/ou bactériens encore mal connus, sont susceptibles, de déclencher la phase active de la maladie. Ces infections intestinales virales (adénovirus, rotavirus) augmenteraient l'expression d'HLA DQ et la concentration de la transglutaminase tissulaire TGt (Mouterde *et al.*, 2008).

## 5.3. Relation entre la consommation de blé et la fréquence des haplotypes HLA

On constate à l'aide de ces cartes (figures 08,09 et 10) qu'il y a une prévalence plus élevée des allèles DQ8 (Figure 09) et DQ2 (Figure 10) là où la consommation du blé est très élevée, et donc une prévalence plus élevée de maladie cœliaque comme en Europe, en Afrique ou en Inde en comparaison avec les régions du monde où la consommation du blé est moindre (Figure 08). De plus la présence de l'haplotype HLA DQ2 dans le monde (0 à 28%) est supérieur à celle de l'haplotype HLA DQ8 (1 à 8 %) en raison d'une sélection positive de cet allèle qui s'explique par le fait qu'il ait représenté un facteur protecteur contre le développement de caries dentaires à l'époque où les moyens de prévention n'existaient pas (Lioneti *et al.*, 2015).

Simoons formula en 1978 une théorie que voulait qu'en raison d'une sélection négative exercée par la maladie cœliaque, on observera au futur une diminution de l'expression de ces allèles à risque et donc de cas de maladie cœliaque car à l'époque il n'y avait pas le choix de manger sans gluten. Toutefois, on remarque aujourd'hui que la maladie cœliaque n'a pas disparue et devient même plus fréquente particulièrement dans les zones où l'on mange beaucoup de gluten depuis plus longtemps comme en Afrique. Il s'agit du « paradoxe évolutionnaire de la maladie cœliaque ».



**Figure 08** : Niveau de consommation du blé dans le monde d’après la base de données de la Food and Agriculture Organization of the United Nations en gramme/personne/jour (Lioneti et *al.*, 2015)



**Figure 09** : Fréquence de l’haplotype HLA DQ8 dans le monde en % (Lionettie et *al.*, 2015)



**Figure 10** : Fréquence de l’haplotype HLA DQ2 dans le monde en % (Lionettie et *al.*, 2015)

## 6. Physiopathologie

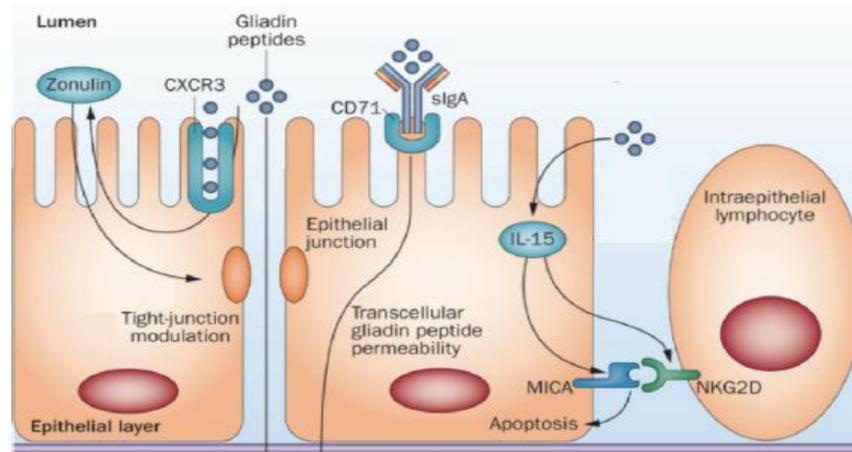
La maladie cœliaque survient chez des patients génétiquement prédisposés exprimant une molécule du système HLA de classe II de type DQ2 ou DQ8. Ces molécules sont exprimées sur les cellules présentatrices d'antigènes principalement les macrophages, les cellules dendritiques et les lymphocytes B. Grâce à leur haute teneur en proline et glutamine, les peptides toxiques du gluten résistent à l'action des enzymes digestives et parviennent intacts au contact de la muqueuse intestinale. Ces fragments sont alors absorbés par l'épithélium et arrivent dans le chorion au contact de la transglutaminase tissulaire dont ils sont des substrats à cause de leur richesse en glutamine (Malamut et *al.*, 2012).

Le passage des peptides (de gliadines) à travers la paroi intestinale peut se concevoir de différentes manières :

- par voie transcellulaire c'est-à-dire que les peptides du gluten passent à travers les entérocytes chez les personnes dont la muqueuse est enflammée,
- Par voie paracellulaire lorsque les peptides passent à travers les jonctions serrées des entérocytes.
- De plus, chez les malades cœliaques on retrouve une augmentation de la perméabilité de la paroi intestinale conséquence de l'inflammation (Olives; 2013).

### 6.1.Franchissement de la barrière épithéliale par la gliadine

Au niveau de la paroi épithéliale, la gliadine se fixe à un récepteur le CXCR3 membranaire qui déclenche la production de zonuline peptide libéré par les entérocytes qui ouvre les jonctions serrées, augmente la perméabilité intestinale et le passage paracellulaire notamment de la gliadine. Le passage transcellulaire quand à lui est médié notamment par les IgA. Le complexe IgA-gliadine se fixe sur les récepteurs membranaires CD71 à la surface des cellules épithéliales et déclenche le passage transcellulaire de la gliadine. Dans la MC, la réaction immunitaire positionne ce récepteur CD71 au mauvais endroit (coté apical des cellules épithéliales) ce qui permet le passage de la gliadine (Gujral et *al.*, 2015) (figure11).

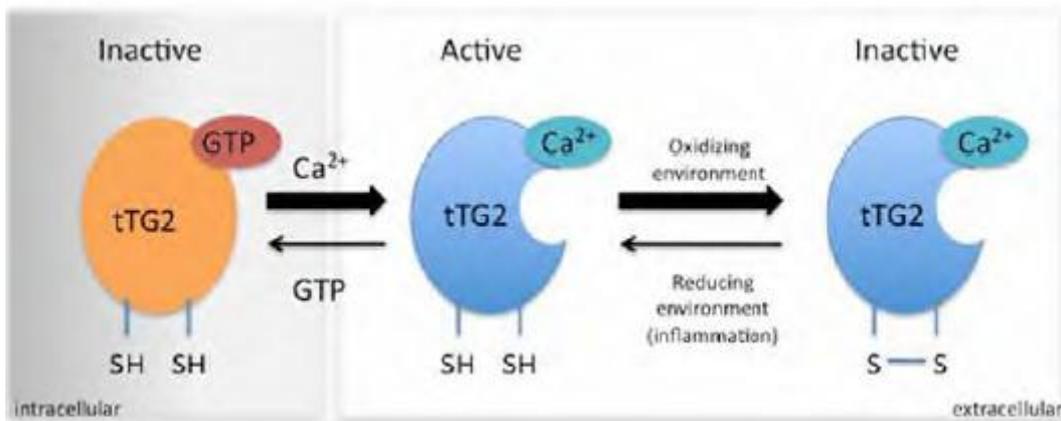


**Figure 11** : Action de la gliadine au niveau de l'épithélium intestinal (Nardine, 2017)

Une surproduction d'interleukine 15 (IL15) favorise aussi la liaison des lymphocytes intraépithéliaux avec les cellules épithéliales grâce à la jonction Molécule Intercellulaire d'Adhésion (MICA) et récepteur activateur des cellules « Natural Killer » (NKG2D) (MICA-NKG2D) ce qui déclenche l'apoptose donc la mort des cellules de la paroi intestinale et augmente la perméabilité intestinale. Après avoir traversé l'épithélium digestif par voie transcellulaire et paracellulaire, la gliadine arrive alors dans le chorion (ou lamina propria) (Gujral *et al.*, 2015).

## 6.2. Formation du complexe gliadine-transglutaminase dans la lamina propria

Une fois que des fragments peptidiques non digérés issus du blé, du seigle et de l'orge sont transportés vers la lamina propria, ils sont soumis à une désamidation par TGt2 qui transforme la glutamine en glutamate introduisant ainsi des charges négatives qui ont une forte affinité de liaison pour HLA -DQ2 et -DQ8 sur des cellules présentatrice d'antigène (CPA). TGt2 appartient à une famille d'enzymes de transamidation dépendantes du calcium qui catalyse des réticulations covalentes et irréversibles de protéines exprimées dans tous les types cellulaires. Dans une forme fermée inactive, TGt2 est située au niveau intracellulaire et est enzymatiquement inactive. Pour des raisons qui sont encore mal comprises, TGt2 est transportée et sécrétée au niveau extracellulaire, où, avec la présence de calcium, elle acquiert une forme réduite ouverte, enzymatiquement active. Dans des conditions physiologiques normales, TGt2 est alors rapidement inactivée par oxydation. Alors que dans environnement réducteur tel que celui rencontré lors de l'apparition d'une d'inflammation, TGt2 extracellulaire reste active (Figure 12) (Diniro; 2012).

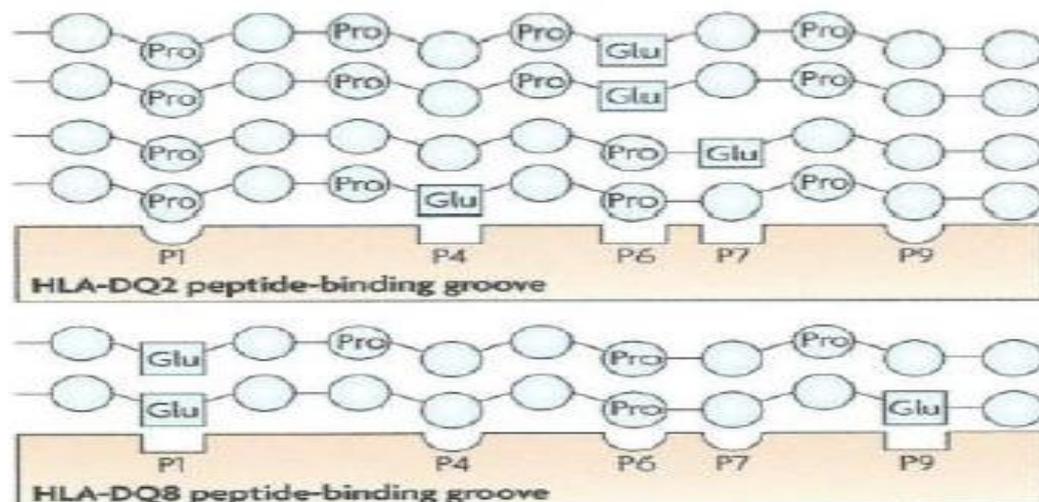


**Figure 12 :** Etats actif et inactif de la transglutaminase tissulaire (TGt2) (Diniro, 2012)

### 6.3. Fixation des peptides du gluten sur les molécules HLA DQ2 et HLA DQ8

Après action de la transglutaminase de type 2 le gluten déamidée présente de nouvelles charges négatives qui vont interagir préférentiellement au niveau de la poche à peptide des molécules DQ2 et DQ8 qui renferme des acides aminés chargés positivement.

Les molécules HLA DQ2 et HLA DQ8 ont une conformation différente et ne fixent pas les mêmes enchainements d'acides aminés. Ainsi la molécule HLA DQ2 fixe un acide aminé proline dans sa poche P1 tandis que la poche P1 de la molécule HLA DQ8 accueille une acide aminée glutamine. Des différences sont également à noter au niveau des poches P4 et P9 (figure 13). Les molécules HLA DQ2 et HLA DQ8 ayant une grande affinité pour fixer les acides aminés proline et glutamine constitue la raison pour laquelle les peptides du gluten s'y lient préférentiellement et explique la très forte relation génétique avec la maladie cœliaque (Jabri et *al.*, 2009).



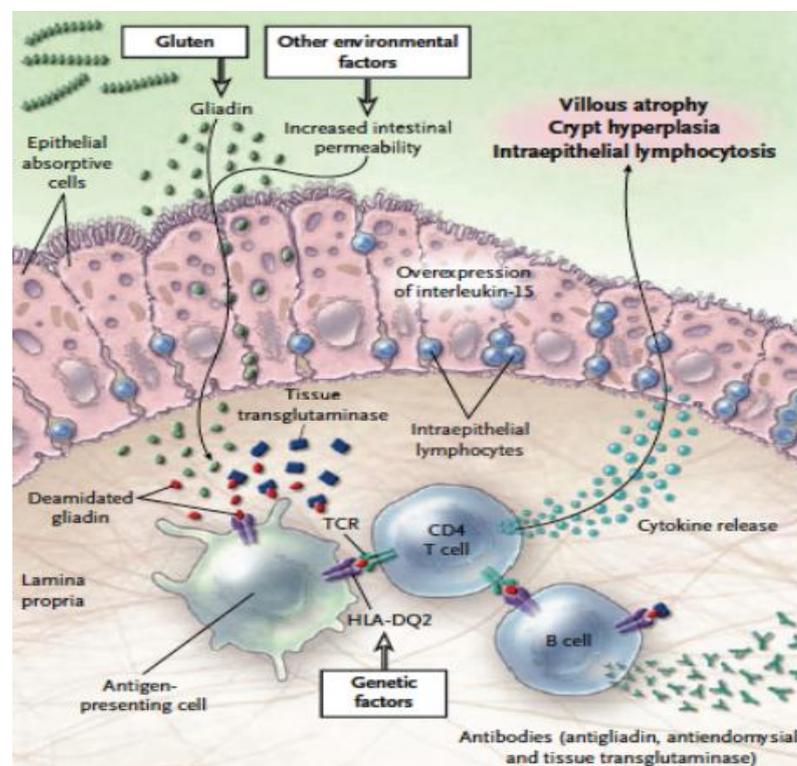
**Figure 13 :** Influence de l'haplotypes HLA dans la liaison du gluten aux cellules présentatrices d'antigènes (Jabri et *al.*, 2009)

#### 6.4. Formation du complexe gliadine-transglutaminase-HLA II et présentation par les macrophages aux lymphocytes T CD4 +

Le complexe transglutaminase-gliadine déamidée-antigènes de classe II du HLA est ensuite présenté aux lymphocytes T CD4+ spécifiques du chorion, qui vont être activés. Les lymphocytes T CD4+ vont activer le récepteur cellulaire T et induire une réponse en cytokines de type lymphocytes T aide (Th2) avec sécrétion d'interleukines. Cette réponse entraîne la production d'anticorps anti-gliadine et anti-transglutaminase par stimulation des LB et des plasmocytes (Weber, 2012).

#### 6.5. Déstructuration de la matrice extracellulaire par les métalloprotéines

Des cytokines pro-inflammatoires telles que tumor necrosis factor (TNF- $\alpha$ ) et interférons sont produites par les lymphocytes CD4+. Elles peuvent activer des lymphocytes intra-épithéliaux cytotoxiques CD8+ et recruter des cellules inflammatoires comme les polynucléaires neutrophiles, les macrophages ou les monocytes. Les lésions entérocytaires en sont la conséquence. Les macrophages vont synthétiser des métalloprotéines qui vont déstructurer la matrice extracellulaire. Les fibroblastes permettent l'augmentation de l'expression entérocytaire des antigènes HLA-DR par amplification de la production de transglutaminases. L'architecture de la muqueuse entérocytaire est modifiée, il s'en suit l'atrophie villositaire et l'hypertrophie des cryptes. (Weber, 2012).



**Figure 14 :** Schéma récapitulatif de la physiopathologie de la maladie cœliaque (Gujr al., 2012)

## 7. Symptômes de la maladie cœliaque

Le spectre clinique de la maladie cœliaque est large. Les formes classiques, qui ne représentent que 10 à 20% des cas, comportent la triade diarrhée-douleurs abdominales-malabsorption. Les formes les plus fréquentes, soit plus de 80% des cas, sont représentées par les formes pauci-symptomatiques (Green et *al.*, 2005). Les circonstances de découverte de ces formes sont un dépistage chez les parents du premier degré de maladie cœliaque et les antécédents de régime sans gluten dans l'enfance (Ventura et *al.*, 1999).

La courte stature et la puberté retardée peuvent être les manifestations primaires chez un enfant autrement en bonne santé. D'autres manifestations communes incluent la fatigue chronique et l'augmentation du niveau d'aminotransférase sérique chez les adultes, les cas symptomatiques ou classiques de la maladie peuvent se présenter avec la diarrhée chronique, la distension et la douleur abdominale, la faiblesse et la malabsorption (Green et *al.*, 2007). Cependant, beaucoup de patients ont peu ou pas de symptômes gastro-intestinaux, tout en présentant des caractéristiques extra intestinales, comme la dermatite herpétiformes, l'anémie, l'ostéoporose, l'infertilité et des problèmes neurologiques (Alaedini et *al.*, 2005). Il est donc plus approprié de considérer la maladie cœliaques comme un désordre multi systémique, plutôt que principalement gastro-intestinal (Bower et *al.*, 2007).

## 8. Diagnostic

Le diagnostic de la MC repose sur la combinaison des arguments sérologiques et histologiques.

### 8.1. Les tests sérologiques

- Anticorps anti-gliadine : ce fut le premier test sérologique mis au point dans les années 1980. Sa sensibilité et sa spécificité sont relativement faibles.

- Anticorps anti-réticuline : ont été parmi les premiers anticorps décrits dans la maladie cœliaque, au début des années 1970 (Seah et *al.*, 1971). Recherchés par immunofluorescence indirecte (IFI) sur coupe de tissus hépatiques murins, leur spécificité est excellente, mais leur sensibilité est médiocre, puisqu'ils ne sont retrouvés au mieux que dans 40 à 60% des cas de MC non traitée (Boige et *al.*, 1996).

- Anticorps anti-endomysium : le test d'anticorps anti-endomysium est un test très sensible et spécifique pour le dépistage de la maladie cœliaque. En plus de son cout élevé, l'épreuve exige que l'observateur évalue l'immunofluorescence, ce qui donne lieu à une variabilité entre observateurs dans l'interprétation des résultats du test.

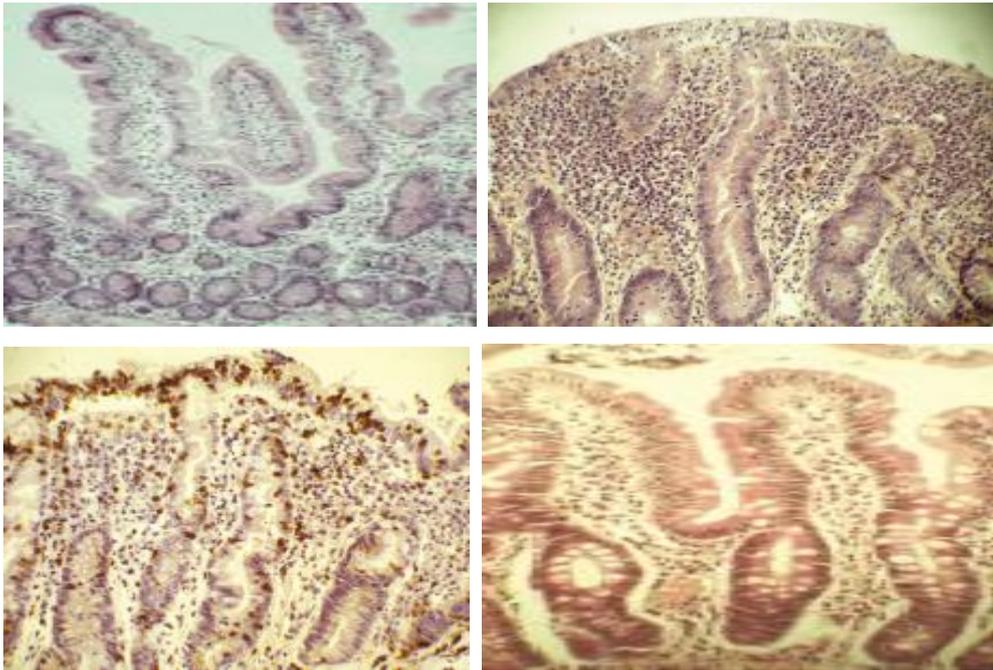
- Anticorps anti-TGt : en 1997, on a découvert que l'antigène induisant la formation d'anticorps anti-endomysium était l'enzyme anti-transglutaminase tissulaire (TGt). Avec l'avènement de la technique d'ADN recombinant, la TGt humaine a été commercialisée et le coût du test a chuté. La plupart des laboratoires hospitaliers mesurent maintenant les anticorps anti-TGt plutôt que les anticorps anti-endomysium.

- Anticorps anti-peptide déamide de la gliadine (DGP) : dernière génération des tests sérologiques, ce test n'offre pas beaucoup plus d'avantages que le test des anticorps anti-TGt comme test de dépistage primaire ; mais le test des anticorps anti-DGP est légèrement plus sensible que le test des anticorps anti-TGt de type IgG et doit être considéré comme le test de choix chez les patients qui présentent un déficit sélectif en IgA (Rachid, 2016). En générale les tests de type IgA sont plus sensible et sont préférables aux fins de dépistage.

Le diagnostic précoce de la maladie est essentiel pour en prévenir les complications. Il faut mesurer le taux sérique d'IgA totale afin d'écarter une carence en IgA et d'éviter les faux négatifs. Les patients dont les résultats au test sérologique sont positifs doivent recevoir une biopsie de l'intestin grêle afin de confirmer le diagnostic. Le test des antigènes des leucocytes humains DQ2 et DQ8 peut aider à écarter le diagnostic. Un régime sans gluten ne doit pas être entrepris avant que le diagnostic de maladie cœliaque soit confirmé (Rachid, 2016).

## 8.2. Les tests histologiques

Un résultat positif pour les anticorps à IgA (anti-TG2/endomysium) ou à IgG (anti-TG2/endomysium) et les anticorps antigliadine en cas d'insuffisance d'IgA devraient être suivi de biopsie intestinale. Une biopsie pourrait également être faite dans les cas de la sérologie négative mais avec une suspicion clinique élevée (Briani et *al.*, 2008). Les anomalies histologiques typiques de la maladie cœliaque montrent une atrophie villositaire, une hyperplasie des cryptes, et une infiltration des leucocytes (figure 15) (Megiorni et *al.*, 2009).



**Figure 15 :** Modifications histologiques au cours de la maladie cœliaque. Biopsies duodénales fixées par le formol et colorées par l'hématéine-éosine (A, B, D) ou en immunohistochimie par une technique d'immunoperoxydase (C) (X250) (Cerfbensussan et *al.*, 2001). **A.** Duodénum normal. **B.** Maladie cœliaque active, typique, caractérisée par une atrophie villositaire totale avec hyperplasie des cryptes, infiltration lymphoplasmocytaire du chorion et infiltration lymphocytaire de l'épithélium. **C.** Marquage immunohistochimique avec un anticorps anti-CD3 montrant que les lymphocytes T envahissent principalement l'épithélium intestinal au cours de la maladie cœliaque active. **D.** Maladie cœliaque après un régime sans gluten : l'efficacité du régime démontrée par repousse villositaire et régression de l'infiltration du chorion.

L'identification positive de ces anomalies mène à un diagnostic présumé de la maladie cœliaque, qui devrait être suivi de l'établissement du régime sans gluten. Un diagnostic définitif est fait seulement après que l'amélioration claire en réponse au régime s'est produite. Une deuxième biopsie pour confirmer l'amélioration histologique n'est pas nécessaire, à moins que dans les cas où les symptômes cliniques de la maladie cœliaque ne sont pas présents (Briani et *al.*, 2008).

Si le rapport de la biopsie est négatif, alors qu'il y a sérologie positive ou une suspicion clinique élevée de la maladie cœliaque, dans ces cas, une revue et un examen soigneux des résultats de biopsie avec un pathologiste gastro-intestinal expert devraient être faits avant de considérer la biopsie additionnelle (Hill et *al.*, 2005).

## 9. Complications

La plupart des recherches identifient la maladie cœliaque comme un désordre multi-systémique. Ceci signifie qu'il peut avoir un effet sur différents systèmes du corps (Bower et *al.*, 2007).

- **Les complications nutritionnelles**

- La dénutrition : rarement observée aujourd'hui, cette complication est liée à un état de malabsorption avancée (Cosnes et *al.*, 2013).

- Le retard de croissance et la petite taille parfois révélateur de la maladie cœliaque de l'enfant avant un régime sans gluten (Cacciari et *al.*, 1991). Les patients cœliaques diagnostiqués à l'âge adulte ayant présentés des symptômes dans l'enfance ont une taille diminuée par rapport à une population contrôle.

- Les carences vitaminiques notamment en fer, et vitamines des groupes B, D et E (Cosnes et *al.*, 2002).

- **Les complications hématologiques**

- L'anémie : la moitié des patients a une carence en vitamine B12 (Cosnes et *al.*, 2013).

- **Les complications osseuses**

- L'ostéoporose : elle est plus fréquente chez les patients atteints de maladie cœliaque par rapport à la population générale. Il existe une augmentation du risque fracturaire qui persiste toute la vie (Ludvigsson et *al.*, 2007).

- **Les complications néoplasiques**

L'évolution cancéreuse de la maladie cœliaque a longtemps été considérée comme l'une des complications les plus graves de la maladie, survenant plus fréquemment chez les patients ne suivant pas le régime sans gluten (Cosnes et *al.*, 2013).

## 10. Prévention

Etant donné l'élévation croissante de la prévalence de la maladie cœliaque, il y a intérêt d'essayer de prévenir le développement de cette maladie (Crowe, 2008). Il y a des études qui suggèrent que l'allaitement et l'introduction retardée du gluten dans le régime peuvent réduire le risque de développer la maladie cœliaque. Il y a également une évidence que cette introduction de gluten pendant l'allaitement a des effets bénéfiques (Ivarsson et *al.*, 2002). De telles approches ont pu effectivement empêcher la maladie cœliaque et devraient être étudiées pour leur efficacité. Alors que ces observations semblent raisonnables, il y a d'autres rapports qui suggèrent que l'introduction précoce du gluten à une période définie de l'enfance puisse également réduire le risque (Crowe, 2008).

## II. Traitement de la maladie cœliaque

Il n'existe aucun traitement médicamenteux contre la maladie. Pour voire supprimer, les symptômes, de pallier les carences et de prévenir d'éventuelles complications.

### 1. Le régime sans gluten

Actuellement le traitement de la maladie cœliaque demeure exclusivement diététique et repose sur le régime sans gluten strict qui constitue la pierre angulaire du traitement de la maladie et ne sera instauré qu'après avoir posé clairement le diagnostic (Fasano, 2001). L'objectif du régime sans gluten chez le cœliaque adulte est double (Matuchansky et *al.*, 2004) :

1. Corriger les anomalies cliniques, biologiques et histologiques de la maladie,
2. Diminuer le risque à long terme d'ostéopénie et de complications néoplasiques, notamment celui de lymphome de l'intestin grêle.

Le principe du régime sans gluten repose sur la suppression de tous les aliments contenant l'une et/ou l'autre des 3 céréales toxiques (blé, seigle, et orge) et leur substitution éventuelle par d'autres céréales, en particulier le riz et le maïs (Janatyuinén et *al.*, 2002).

#### - Bénéfices du régime sans gluten

L'effet du régime sans gluten est le plus souvent spectaculaire.

- Les selles se normalisent en quelques jours à quelques semaines après la suppression du gluten.
- Les conséquences nutritionnelles de la malabsorption s'effacent en plusieurs mois, de sorte que, après 1 an de régime sans gluten, les principales constantes biologiques sont normales.
- Les lésions histologiques s'effacent en quelques mois à quelques années. La muqueuse n'est jamais tout à fait normale après 6 mois. Elle est souvent presque normale après 1 an (Schmitz, 2007).

#### - Problèmes du régime

La gestion de la maladie cœliaque confirmée est RSG pendant toute la vie. Tandis que ceci semble comme un traitement simple, il est souvent difficile que les patients se conforment à cette restriction diététique. Son application est contraignante et constitue un véritable défi pour les malades ainsi que pour les parents, et médecins qui les suivent (Crowe, 2008).

Le principal problème lié à un régime sans gluten est l'acceptation de ce régime. La cause la plus fréquente de non-respect du régime alimentaire est la faible saveur des produits sans gluten. De plus, une mauvaise interprétation des étiquettes des aliments, une possible contamination croisée et une éducation insuffisante sont généralement associées à une faible conformité (Ciacci et *al.*, 2002).

Malheureusement, un régime sans gluten ne peut améliorer tous les troubles liés à la maladie. En fait, tous les troubles immunologiques sont peu influencés par le régime alimentaire. Il est clair que le recours à un «régime naturel sans gluten» conduit à la plus grande observance et au moindre risque de déséquilibre nutritionnel.

Devant la difficulté pour les patients de maintenir ce régime restrictif de façon optimale et durable, des nouvelles perspectives thérapeutiques émergent. Les pistes actuellement analysées sont le développement d'un blé modifié non immunostimulant, la digestion intraluminale du gluten en fragment non immunogène et le blocage du site des liaisons des peptides toxiques aux molécules HLA (Zingone et *al.*, 2010).

Aujourd'hui nous bénéficions d'un large éventail de thérapies en étude cliniques ou précliniques.

## **2. Thérapies en études précliniques**

### **2.1. Inhibition du transport transcellulaire de la gliadine**

Il s'agit d'une stratégie encore hypothétique qui consiste à inhiber la translocation de l'IgA anti-gliadine qui se fixe sur le récepteur CD71 à la transferrine par des anticorps anti CD71. Mais cette voie n'a pas encore été explorée, elle le sera certainement dans les projets futurs (Plugis et *al.*, 2015).

### **2.2. Inhibiteurs d'HLA**

La présence de l'HLA DQ2 ou DQ8 sur les cellules présentatrices d'antigènes est le facteur génétique le plus significatif dans la prédisposition d'un individu à la maladie cœliaque. L'inhibition de la fixation du gluten sur les molécules d'HLA DQ2 ou DQ8 représente une stratégie potentielle pour réduire la sévérité des effets toxiques du gluten. Des peptides ont été synthétisés pour cibler la molécule HLA DQ2 comme un analogue du gluten dans lequel les résidus proline sont remplacés par des azidoproline (Plugis et *al.*, 2015).

### **2.3. Contrôler la réponse inflammatoire**

Il s'agit d'induire la suppression des LT spécifiques du gluten par une thérapie basée sur les anticorps (Plugis et *al.*, 2015).

### **2.4. Cibler les lymphocytes B**

En plus de supprimer les lymphocytes T spécifiques au gluten, les thérapies ciblant les LB spécifiques ont un bon potentiel pour le traitement de la maladie cœliaque puisque les cellules B spécifiques au gluten et à la TG 2 ont le pouvoir de présenter les peptides aux LT. De précédentes

études cliniques en inactivant les cellules B (Plugis et *al.*, 2015).

### 3. Thérapies en études cliniques

#### 3.1. Nouvelle variété de blé et modification génétique

L'idée serait de cultiver de nouvelles espèces de blé ou d'utiliser des espèces de blé déjà existantes possédant moins de propriétés antigéniques. En effet de nos jours, l'espèce de blé hexaploïde (constituée de ses génomes AA, BB et DD) *Triticum aestivum* est la plus utilisée dans l'alimentation. Il est apparu qu'en étudiant les biopsies intestinales de patients cœliaques, la consommation d'espèces de blé tétraploïdes entraînait moins de lésions histologiques que la consommation d'espèces hexaploïdes qui possèdent plus d'épitopes (Lefief, 2013).

#### 3.2. Glucocorticoïdes de faible biodisponibilité

Les glucocorticoïdes doivent leurs effets à l'induction d'une immunosuppression. Alors que quelques effets transitoires importants limitent leur utilisation dans le traitement de maladies au long cours comme la maladie cœliaque (Mccarville et *al.*, 2015).

#### 3.3. Modulation de la perméabilité intestinale

Plusieurs études ont montré que la gliadine peut causer directement des dysfonctionnements de la barrière épithéliale lors de sa reconnaissance avec le récepteur CXCR3 qui régule la fonction des jonctions serrées (Plugis et *al.*, 2015).

#### 3.4. Vaccination

Un vaccin constitué de plusieurs des peptides les plus immunogènes du gluten est actuellement en évaluation (Plugis et *al.*, 2015).

#### 3.5. Détoxification du gluten et prévention des lésions de la muqueuse intestinale

##### 3.5.1. Séquestration luminale du gluten par des polymères

Il s'agit d'un autre moyen pour éviter le contact entre le gluten et la muqueuse intestinale pour éviter son effet toxique sur la lamina propria. Le polymère BL-7010 emprisonne le gluten en formant un complexe pour empêcher les enzymes d'y accéder évitant ainsi la production de protéines inflammatoires. Ce polymère a été testé *in vitro* et sur des modèles animaux qui ont montré qu'il permet d'éviter l'infiltration de la muqueuse intestinale par les lymphocytes intra-épithéliaux et l'atrophie villositaire. Il est non absorbable et possède un bon profil de sécurité pour l'usage animal. Aujourd'hui ce polymère est testé en étude de phase II (Plugis et *al.*, 2015).

##### 3.5.2. Thérapie enzymatique orale pour la digestion du gluten

Parmi les stratégies thérapeutiques qui visent à agir en aval de l'ingestion du gluten : la thérapie enzymatique basé sur des enzymes. A cause de sa haute concentration en proline, le gluten

est résistant à une digestion complète par les enzymes digestives humaines. La conséquence est que des oligopeptides, identifiés comme peptides cœliaco-actifs, persistent dans le lumen de l'intestin grêle déclenchant la cascade inflammatoire de la maladie cœliaque. Le but de cette thérapie orale par les enzymes est d'inactiver les peptides du gluten immunogènes restant dans l'intestin complétant ainsi l'action des enzymes digestives humaines (Mccarville, 2015).

## 1. Définition

Le gluten est défini comme une matière cohésive viscoélastique qui ne se forme qu'après lavage de la farine des céréales. Il s'agit d'un complexe protéique insoluble constitué de 2 familles de protéines de réserve du grain : la famille des prolamines (gliadine) et la famille des gluténines. Et c'est lors du contact avec l'eau que les gluténines et les gliadines s'associent pour former un complexe protéique insoluble que l'on appelle le gluten (Malamut, 2009). Pour simplifier, le gluten constituerait les gliadines jouent le rôle de solvant (masse élastique) pour les gluténines (masse visqueuse) (Wieser, 2007). Ses protéines sont caractérisées par leur composition en acides aminés, qui est riche en glutamine et en proline et pauvre en acide aminé chargés.

## 2. Sources du gluten

### 2.1. Sources naturelles de gluten : les céréales

Les céréales sont des plantes, pour la majorité de la famille des graminées : blé (ensemble de céréales appartenant au genre *Triticum*), orge (genre *Hordeum*), seigle (*Secale cereale* L), avoine (*Avenasativa* L), millet (terme générique désignant plusieurs espèces de poacées), maïs (*Zeamays* L), sorgho (genre *Sorghum*), riz (genre *Oryza*). Le blé noir ou sarrasin (*Fagopyrum esculentum* M) est classé dans la famille des polygonacées (Malamut, 2009).

#### - Céréales contenant du gluten

Quatre céréales contiennent du gluten : le blé, le seigle, l'orge et l'avoine. Tous les hybrides de ces céréales contiennent également du gluten, notamment le triticale (Malamut, 2009).

### 2.2. Les produits transformés : une source majeure de gluten

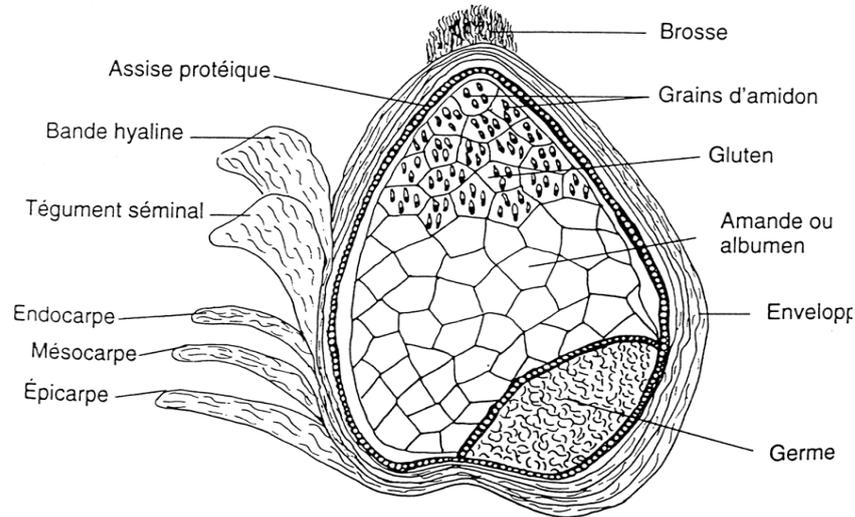
Tous les produits à base de farines de blé, de seigle, d'orge et d'avoine contiennent donc du gluten. Cela inclue les produits de boulangerie et de pâtisserie, les gâteaux secs salés et sucrés, les pâtes, les pizzas, les céréales pour petit-déjeuner, les produits, la chapelure, et bien d'autres.

Il est possible de séparer le gluten de l'amidon par lavage de la farine à l'eau, on obtient après séchage du « gluten vital ». Ce gluten est utilisé comme liant ou exhausteur de goût dans les préparations industrielles alimentaires et pour en améliorer les caractéristiques. Ainsi, ce sont toutes les catégories de produits alimentaires transformés qui sont susceptibles de contenir du gluten. On peut notamment citer les assaisonnements, les salades, les soupes, les viandes et boissons transformés, le thé et le café aromatisés, les bonbons, les barres chocolatées, certains compléments alimentaires et médicaments. (Kasarda, 2013).

## 3. Localisation du gluten dans le grain de blé

Intéressons-nous au blé, céréale la plus consommée par l'homme, pour caractériser le gluten. Le grain de blé est constitué de plusieurs enveloppes, d'un germe et d'un albumen, qui représente la

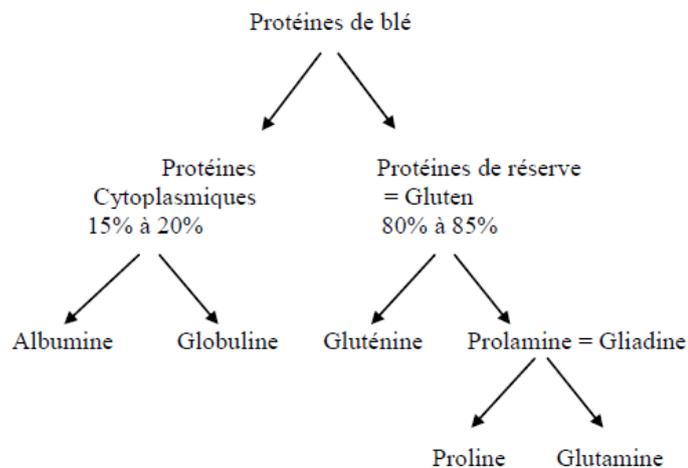
majeure partie (environ 4/5). L'albumine est une partie blanchâtre et farineuse, c'est elle qui donnera la farine de blé après extraction. Elle est composée de cellules renfermant des granules d'amidon entourées par le gluten (Figure 16) (Charbonnier et al., 1980).



**Figure 16 :** Coupe d'un grain de blé (Pequet, 2003)

#### 4. Classification

Les protéines du grain de blé ont été classifiées par Osborne en 1907 en quatre groupes (Figure 17) : albumine, globuline, gluténines et prolamine en fonction de leur solubilité. Les albumines sont solubles dans l'eau, les globulines sont solubles dans les solutions salines, les gluténines sont solubles dans des solutions acides ou basiques et les prolamines sont solubles dans l'éthanol (Brenton, 2002).

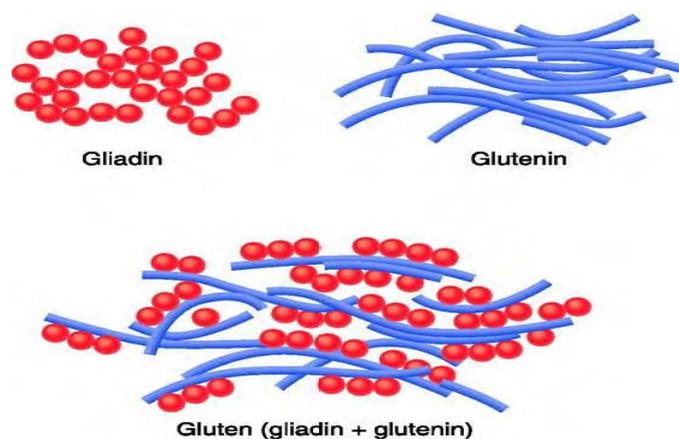


**Figure 17 :** Les différentes protéines du blé (Brenton, 2002)

## 5. Composition du gluten

Le nom « gluten » regroupe en réalité un ensemble de protéines complexes, également appelées prolamines, qui constituent la réserve protéique du grain, alors que les albumines et les globulines sont des protéines qui assurent un rôle de structure dans le grain (Charbonnier et *al.*, 1980). Le rôle biologique des protéines du gluten est de fournir un stock d'acides aminés nécessaires (source de carbone, d'azote et de soufre) pour la germination de l'embryon. Ce sont des molécules qui présentent un polymorphisme génétique important, il y aura donc autant de gliadines que de variétés de céréales. Pour chaque céréale des noms spécifiques ont été donnés à la fraction protéique. Pour les blés apparentés comme les blés cultivés, les prolamines sont nommées gliadines.

Le gluten est le résultat de l'assemblage de deux groupes de polymères protéiques, les gliadines divisées en 4 groupes ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\omega$ ) et les gluténines que l'on distingue en deux groupes suivant qu'elles ont un haut poids moléculaire (HPM) ou un faible poids moléculaire (FPM). Les monomères de gliadine s'associent à des polymères de gluténines via des liaisons hydrogènes et des interactions hydrophobes, formant un réseau élastique (figure 18) (Shewry et *al.*, 2002).



**Figure 18** : Structure polymérique du gluten (Fasano, 2011)

La structure du gluten est maintenue par des liaisons covalentes disulfure formant des ponts intra et inter moléculaires entre les composantes protéiques, mais aussi par des liaisons non covalentes (hydrophobes, hydrogènes et ioniques). Bien que les liaisons non covalentes soient moins énergiques que les liaisons covalentes, elles sont néanmoins impliquées dans l'agrégation des protéines du gluten et dans la structure de la pâte (Wieser, 2007).

### 5.1. Les gliadines

Les gliadines comme les autres composantes du gluten, les gliadines sont caractérisées par leur insolubilité dans l'eau. Les gliadines représentent de 40 à 50% des protéines de réserve dans le

grain de blé (Shewry et *al.*, 2002). Ce sont des protéines monomères solubles dans l'éthanol 70% dont les ponts disulfures sont intra moléculaires (Kasarda, 1989).

L'étude de la composition en gliadines sur 70 variétés a montré qu'elles sont formées de 20% d'alpha, 28% de bêta, 34% de gamma et 18% d'oméga gliadines. La composition en acides aminés des gliadines est caractérisée par un taux élevé de glutamine et de proline, par contre leur teneur en acides aminés basiques est très faible (Weiser et *al.*, 1996).

✓ **Les  $\alpha$ -,  $\beta$ - gliadines** représentent 45 à 60% des gliadines totales, et possèdent cystéines engagées dans les liaisons intramoléculaires. Elles peuvent être réunies au sein de la même famille des  $\alpha$ - gliadines ou ( $\alpha/\beta$  gliadines) (Weiser et *al.*, 1996).

✓ **Les  $\gamma$ -gliadines** représentent 30 à 40% des gliadines totales, et contiennent huit cystéines, généralement engagé dans quatre ponts disulfures intra moléculaires leur structure est fortement analogue à celle des sous-unités gluténines de faibles poids moléculaires (SG-FPM), mais leur composition en acides aminés est proche de celle des  $\alpha$ -gliadines sauf qu'elle se différencie par une teneur légèrement plus élevée en glutamines, proline et phénylalanine et plus faible en tyrosine (Weiser et *al.*, 1996).

✓ **Les  $\omega$ - gliadines** se différencient des  $\alpha$ -,  $\beta$ - et  $\gamma$ - gliadines par leur teneur très élevée en glutamine, proline et phénylalanine et par l'absence d'acides aminés soufrés cystéines et méthionines), elles sont incapable de participer à la formation d'un réseau protéique par formation de liaison covalentes (Tableau 02) (Weiser et *al.*, 1987).

**Tableau 02** : la composition en acide aminé des séquences N-terminal des gliadines (Weiser, 2007).

Type	Domaine N-terminal		Domaine C-terminal
	Unité de répétition *	Nombre de répétition *	
$\alpha/\beta$ - gliadines	QPQFPQQPYP	5 fois	6 résidus Cystéines
$\gamma$ - gliadines	QPQQPFP	plus de 16 fois	8 résidus Cystéines

## 5.2. Les gluténines

Les gluténines représentent 40 à 50% des protéines de réserve de blé. Contrairement aux gliadines, les gluténines sont des protéines polymériques de haut poids moléculaire compris entre 500 à 10 000 kDa, qui résultent de la polymérisation de sous-unités. Les gluténines sont divisées en 2 groupes de sous-unités polypeptidiques : celles de hauts poids moléculaires (SG-HPM) et celles de faibles poids moléculaires (SG-FPM).

✓ **Les SG-FPM** sont les sous-unités majoritaires parmi les gluténines et représentent 60 à

80% des gluténines (Wieser, 2007).

✓ Les **SG-HPM** représentent la plus faible proportion des protéines du gluten mais également les plus complexes (Tableau 03) (Wieser, 2007).

**Tableau 03** : caractérisation des types des protéines de gluten (Wieser, 2007).

Type	PM *1000 (Dalton)	Proportion	Composition partielle en acide aminé (%)				
			Gln	Pro	Phe	Tyr	Gly
W5-gliadine	49-55	3-6	56	20	9	1	1
W1, 2-gliadine	39-44	4-7	44	26	8	1	1
$\alpha$ / $\beta$ - gliadines	28-35	28-33	37	16	4	3	2
$\gamma$ - gliadines	31-35	23-31	35	17	5	1	3
X- SG-HPM	83-88	4-9	37	13	0	6	19
Y-SG-HPM	67-74	3-4	36	11	0	5	18
SG -FPM	32-39	19-25	38	13	4	1	3

## 6. Intérêt dans la panification

Le gluten a une très grande importance dans le processus de panification : ses molécules forment un réseau continu élastique, extensible et imperméable aux gaz, qui va retenir les bulles de dioxyde de carbone issues de la dégradation des sucres par les levures. C'est ce phénomène qui provoque la levée de la pâte. On appelle farines panifiables les farines qui, comme celle du blé, contiennent suffisamment de gluten pour que la pâte lève.

Les gluténines et les gliadines, les deux composantes protéiques majeures du gluten, interagissent en présence d'eau et sont à l'origine de la propriété de viscoélasticité. Les gluténines, de plus haut poids moléculaire, contribuent à l'élasticité tandis que les gliadines, de faible poids moléculaire participent à l'extensibilité. L'hydrolyse du gluten entraîne des modifications rhéologiques des pâtes, la solubilisation des protéines, le développement de propriétés de stabilisation de mousses ainsi que des propriétés émulsifiantes (Rémésy et *al.*, 2015).

## 7. Gluten et maladie cœliaque

Les protéines de gluten sont riches en acides aminés proline et glutamine qui le rendent résistant aux enzymes digestives. Le rôle du gluten dans la pathogénie de la maladie cœliaque a été

découvert par Dicke en Hollande lors de ruptures d’approvisionnement en farine de blé au cours de la guerre de 1940-1945. Les études d’épreuve in vitro en culture organotypique et in vivo ont montré que les protéines toxiques sont les prolamines, présentes dans le blé, le seigle et l’orge. Les plus étudiées sont les prolamines du blé. L’activité toxique la mieux établie concerne la large famille des  $\alpha$ - $\beta$  gliadines et de quelques gluténines, dont la toxicité persiste après digestion par la pepsine et la trypsine (PT) (Weizer, 1996). La nature des peptides responsables des lésions fait l’objet de nombreux travaux et plus de 15 épitopes différents de gluten sont reconnus par les molécules HLA DQ2 ou DQ8 (figure19) (Sollid et *al.*, 2011).

Principaux peptides du blé stimulant l’immunité adaptative		Peptides toxiques de la gliadine $\alpha$	
<i>Gliadine <math>\alpha</math></i>	<b>HLA</b>		
<u>PQPQLPY</u> Q	DQ2	PGQQQPFPPGQPY ( $\alpha$ 31-43)	
PFQP <u>QLPY</u>	DQ2	PQPQPFPSQQPY ( $\alpha$ 44-55)	
FRP <u>QQPY</u> Q	DQ2	LQLQPFPPQQLPYQPQLP ( $\alpha$ 2 57-75)	
LQLQPFPPQQLPYQPQLPYQPQLPYQPQPF	DQ2	QQYPLGQGSFRPSQQNPGA ( $\alpha$ 202-220)	
	(33 mer : $\alpha$ 2-57-89)		
<b>QGSFQPSQQ</b>	DQ8		
<i>Gliadine <math>\gamma</math></i>			
FP <u>QQPQQ</u> PF	DQ2		
PQQSFP <u>QQQ</u>	DQ2		

**Figure19** : Principaux épitopes du gluten (Meresse et *al.*, 2006)

## 1. Objectif

Notre questionnement a porté sur la possibilité de développer une alternative thérapeutique de la maladie cœliaque en raison de la difficulté pour les patients de maintenir un régime restrictif de façon optimale et durable, notamment chez les personnes dont la maladie n'a pas encore atteint la forme active. Notre objectif principal a été d'évaluer l'état de l'art des études portant sur la stratégie de l'hydrolyse enzymatique exogène des peptides cœliaco-actifs dans la perspective d'une exploitation dans les alternatives thérapeutiques de la maladie.

## 2. Schéma de l'étude

Nous avons réalisé une synthèse des données de la littérature internationale concernant les stratégies enzymatiques utilisées pour dégrader les peptides toxiques induisant la maladie cœliaque, puis une analyse des articles concernés a été entreprise :

### 2.1. Recherche bibliographique

Les bases de données ont été explorées de février à juin 2019. Les critères d'exclusion suivants ont été suivis :

- Une date de parution antérieure à 2009
- Les articles en langue autre qu'anglaise
- Les articles ne disposant pas de résumé
- Les articles portant sur la thérapie non enzymatique

### 2.2. La sélection des articles

- Une première lecture sur titre, puis sur résumé, a permis de ne pas inclure les articles répondant aux critères mentionnés ci-dessus.

- Les articles restants et retenus ont été lus en entier afin de statuer sur leur inclusion.
- D'autres articles n'ont pas été analysés toutefois ils étaient pertinents pour enrichir l'état des connaissances dans la revue bibliographique et la discussion.

### 2.3. Analyse des articles sélectionnés

Les articles sélectionnés ont été triés et analysés en considérant le type du matériel d'étude (microbien ou végétal) et son accessibilité, la facilité de préparation et d'extraction des enzymes, l'efficacité d'hydrolyse (diminution de la toxicité = degré de détoxification).

L'analyse a été entreprise tout en précisant :

- L'objectif principal
- La méthodologie d'étude
- Les principaux résultats
- Conclusion et biais identifiés par les auteurs

Nous avons identifié 10 articles pertinents concernant la problématique de la recherche :

**1. Article de Stenman et al., 2010**

**Degradation of coeliac disease-inducing rye secalin by germinating cereal enzymes: diminishing toxic effects in intestinal epithelial cells**

**Objectif :** Etude de l'efficacité des enzymes de germination de l'avoine, du blé et de l'orge pour hydrolyser les peptides de gliadine et de sécaline en fragments non toxiques.

**Méthode :** Pour comparer les capacités de clivage des enzymes germinés de l'avoine, du blé et de l'orge, les gliadines et les sécalines brutes ont été incubées pendant 24 h à 37 ° C, pH4, contenant différentes concentrations d'enzymes et des mélanges d'enzymes des céréales germées.

**Résultats :** Les enzymes germinatives d'orge ont permis la dégradation la plus efficace des peptides de sécaline et de gliadine, et sont particulièrement efficaces pour la dégradation de la sécaline de seigle (tableau 4).

**Tableau 4 :** Efficacité de la dégradation des gliadines et sécalines par des préparations d'enzymes germées d'avoine, de blé et d'orge.

Préparation enzymatique	CE <sub>50</sub> (µg / ml)	
	Gliadine	Sécaline
Avoine	4.3 (3.1-5.8)	1.3 (1.2-1.4)
Blé	2.6 (2.0-3.4)	1.0 (0.9-1.1)
Orge	2.3 (1.6-3.2)	0.7 (0.3-1.5)

La valeur de la concentration efficace demi-maximale (CE<sub>50</sub>) (µg / ml) représente la moyenne des concentrations de la préparation enzymatique nécessaire pour réduire 50% de la quantité de prolamine totale. Les données proviennent de trois expériences indépendantes ; les limites de confiance à 95% sont indiquées entre parenthèses.

**Conclusion :** Les résultats de l'étude montre que le mélange des enzymes de l'orge est plus efficace dans l'élimination des résidus toxiques des sécalines et peuvent par conséquent être exploitées dans les tentatives de thérapie enzymatique orale ou dans l'industrie alimentaire en développant des produits alimentaires sans peptides cœliaco-actifs.

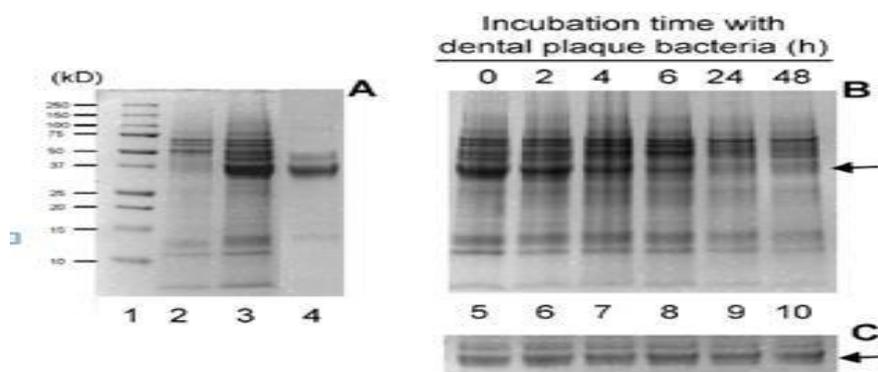
## 2. Article de Helmerhorst et al., 2010

### Discovery of a Novel and Rich Source of Gluten-Degrading Microbial Enzymes in the Oral Cavity

**Objectif :** Evaluer la capacité des enzymes microbiennes de la bouche à dégrader les gliadines.

**Méthode :** Une préparation commerciale d'un mélange contenant une variété de gliadines  $\alpha$  /  $\beta$ , et  $\gamma$  a été utilisée. Le mélange de gliadines est ajouté à une suspension de bactéries de la plaque dentaire et un tampon salivaire. Après divers intervalles d'incubation, des aliquotes de 100  $\mu$ l ont été prélevées et portées à ébullition pour inactiver l'activité enzymatique. Les produits de dégradation ont été analysés par SDS-PAGE.

**Résultat :** Les gliadines se colorent peu avec le bleu de Coomassie et apparaissent comme des bandes majeures dans la région 35–47 kD. D'autres composants mineurs, notamment des traces d'albumine, de globulines et de gluténines, peuvent également être présents, mais leur contenu est probablement faible. Après une incubation d'environ 6 h avec des bactéries de la plaque, les bandes de 35 à 47 kD avaient subi une dégradation consistante et étaient pratiquement indétectables après une incubation de 24 h, alors que les gliadines étaient stables uniquement dans le tampon ionique de la salive (figure 20).



**Figure 20 :** Dégradation d'un mélange de gliadines (G) par des microorganismes de la plaque dentaire par voie orale

A ; 1 : marqueur de poids moléculaire ; 2 : suspension bactérienne de la plaque (t = 0) ; 3 : suspension de plaque + gliadine (t = 0) ; 4 : gliadine (t = 0) ; B ; pistes 5 à 10 : suspension de plaque + gliadine, échantillonnée après t = 0, t = 2 h, t = 4 h, t = 6 h, t = 24 h et t = 48 h, respectivement. C : la gliadine a été incubée pendant le même intervalle de temps dans un tampon salivaire uniquement (témoin).

**Conclusion :** Il s'agit de la première preuve rapportée de l'existence de microorganismes dégradant le gluten associé au tractus gastro-intestinal supérieur. De tels microorganismes peuvent jouer un rôle dans la digestion du gluten alimentaire et ainsi dans la protection contre la maladie cœliaque chez les sujets à risque.

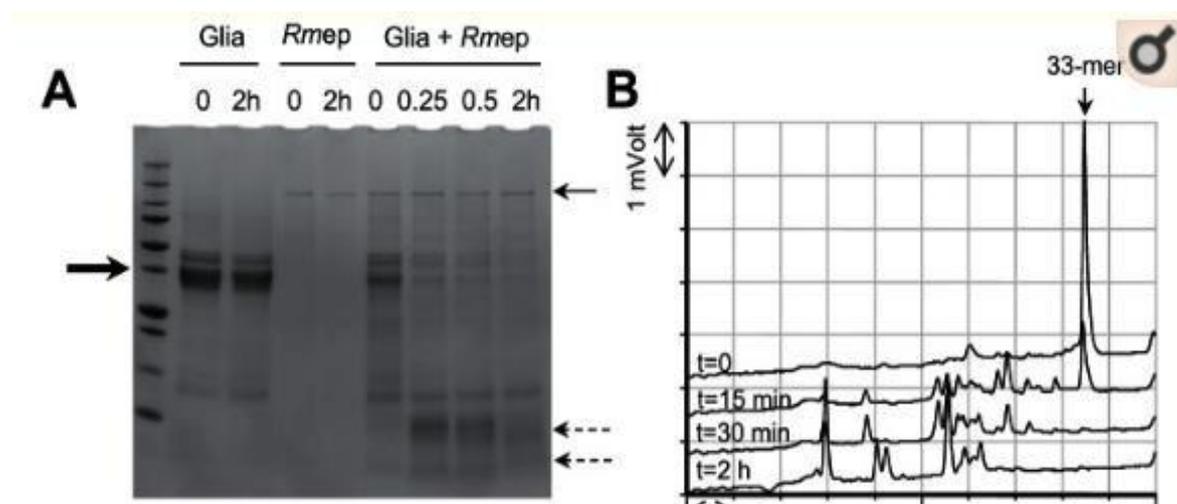
### 3. Article de Wei et al., 2016

#### Identification of food-grade subtilisins as gluten-degrading enzymes to treat celiac disease

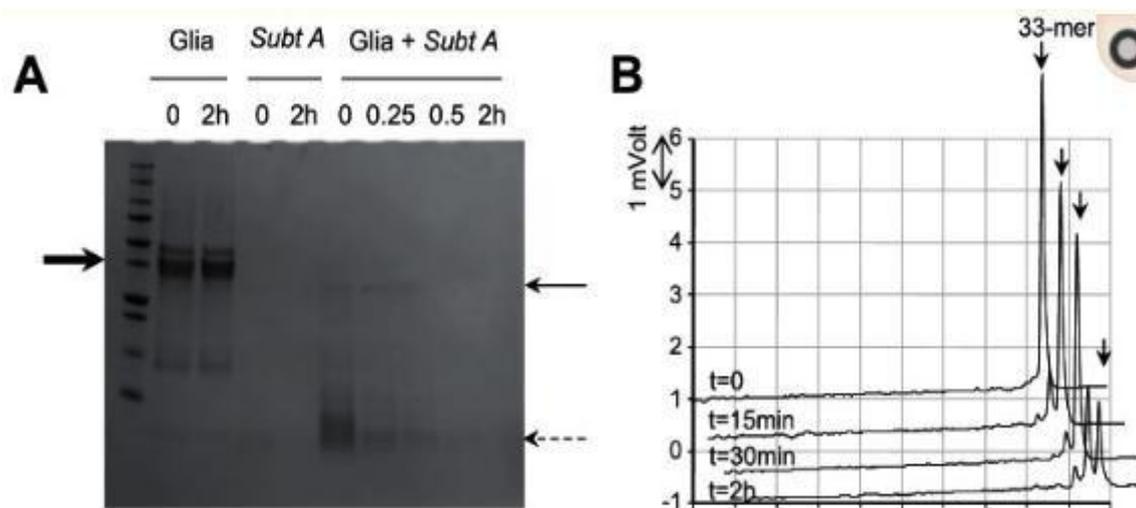
**Objectif :** Isoler et identifier des enzymes de *Rothia mucilaginosa*, un colonisateur microbien oral, et d'évaluer leur potentiel à cliver les épitopes de gluten en vue d'une exploitation dans l'enzymothérapie de la maladie cœliaque.

**Méthode :** Des gliadines mélangées ou les peptides 33-mères ont été incubés avec *Rothia mucilaginosa* ou la subtilisine A. Au bout de 0 et 15 min, de 30 min et de 2 h, des aliquotes de 100  $\mu$ l ont été prélevées et portées à ébullition. La dégradation des 33-mères a été déterminée par HPLC en phase inverse (RP). La dégradation des gliadines a été évaluée par SDS-PAGE et la dégradation des 33-mères a été déterminée par HPLC en phase inverse.

**Résultat :** *Rothia mucilaginosa* a rapidement dégradé les gliadines mélangées en 15 min d'incubation et a achevé la dégradation du peptide 33-mères en moins de 30 min d'incubation (figure 21, A et B, respectivement). La subtilisine A a dégradé les gliadines encore plus rapidement, avec une dégradation presque complète en  $t_0$  (figure 22 A). Cependant, le peptide 33-mère n'était pas clivé de manière aussi efficace et, après 2 h d'incubation, il restait encore du 33-mère (dégradation de 74% ; figure 22 B).



**Figure 21 :** Dégradation des gliadines mélangées par Rm et suppression des épitopes immunogènes



**Figure 22** : Dégradation des gliadines mélangées par la subtilisine A et suppression des épitopes immunogènes

**Conclusion** : Cette étude a identifié *Rothia* comme nouveaux candidats prometteurs pour le traitement enzymatique de la MC et d'autres troubles liés à l'intolérance au gluten.

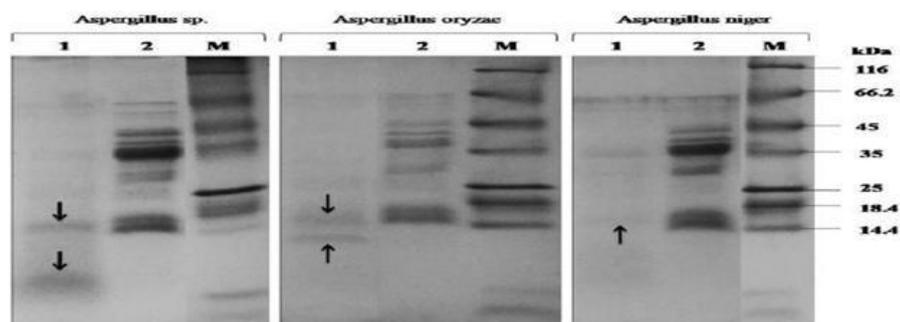
#### 4. Article de Socha et al., 2015

##### The use of different proteases to hydrolyze gliadins

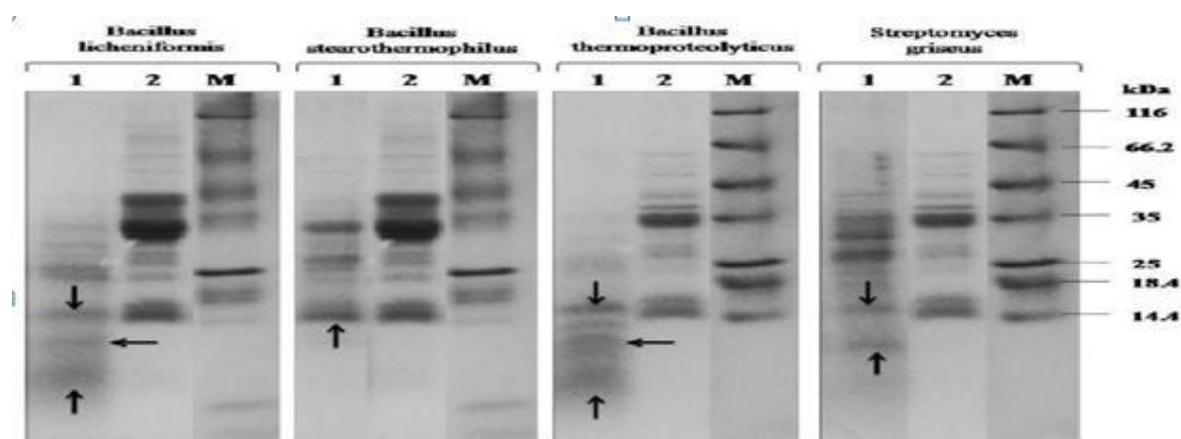
**Objectif** : Evaluer la modification enzymatique des gliadines de blé par des prototypes de champignons (*Aspergillus sp*, *Aspergillus oryzae* et *Aspergillus niger*) et de bactéries (*Bacillus licheniformis*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus thermoprotéolytique* et *Streptomyces gris*).

**Méthode** : Les gliadines de blé ont été préparées par fractionnement discontinu du complexe protéique de céréale. Puis l'incubation de gliadines avec les protéases fongiques et bactériennes. Le degré d'hydrolyse et la détermination des poids moléculaires des peptides ont été réalisés par SDS-PAGE.

**Résultats** : Parmi les protéases fongiques, l'activité protéolytique la plus efficace a été observée avec la protéinase d'*A. niger*, les peptides de gliadine de faible poids moléculaire étaient complètement dégradés. Les protéases bactériennes de *B. licheniformis* et de *B. thermoproteolyticus* ont été très efficaces sur les peptides de poids moléculaire inférieur (<15 kDa) (figure 23, 24).



**Figure 23 :** Détermination des poids moléculaires des gliadines de blé et du degré d'hydrolyse par SDS-PAGE à l'aide de protéases fongiques spécifiques isolées d'*Aspergillus sp.*, *Aspergillus oryzae* et *Aspergillus niger*. 1 : gliadines de blé traitées avec des protéases fongiques ; 2 : gliadines de blé non traitées ; M : marqueur de poids moléculaire ; les flèches indiquent les peptides après hydrolyse.



**Figure 24 :** Détermination des poids moléculaires des gliadines de blé et du degré d'hydrolyse par SDS-PAGE à l'aide de protéases bactériennes spécifiques isolées de *Bacillus licheniformis*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus thermoprotéolytique* et *Streptomyces gris*. 1 : gliadines de blé traitées avec des protéases bactériennes ; 2 : gliadines de blé non traitées ; M : marqueur de taille ; les flèches indiquent les peptides après hydrolyse

**Conclusion :** L'étude était orientée vers le clivage protéolytique des gliadines de blé à l'aide de protéases microbiennes. Toutes les protéases bactériennes d'origine différente présentaient de légères différences dans le degré de protéolyse. *B. licheniformis* et *B. thermoproteolyticus* ont agi de manière très efficace, les produits sont de poids moléculaire inférieurs (<15 kDa).

## 5. Article de Wei et al., 2015

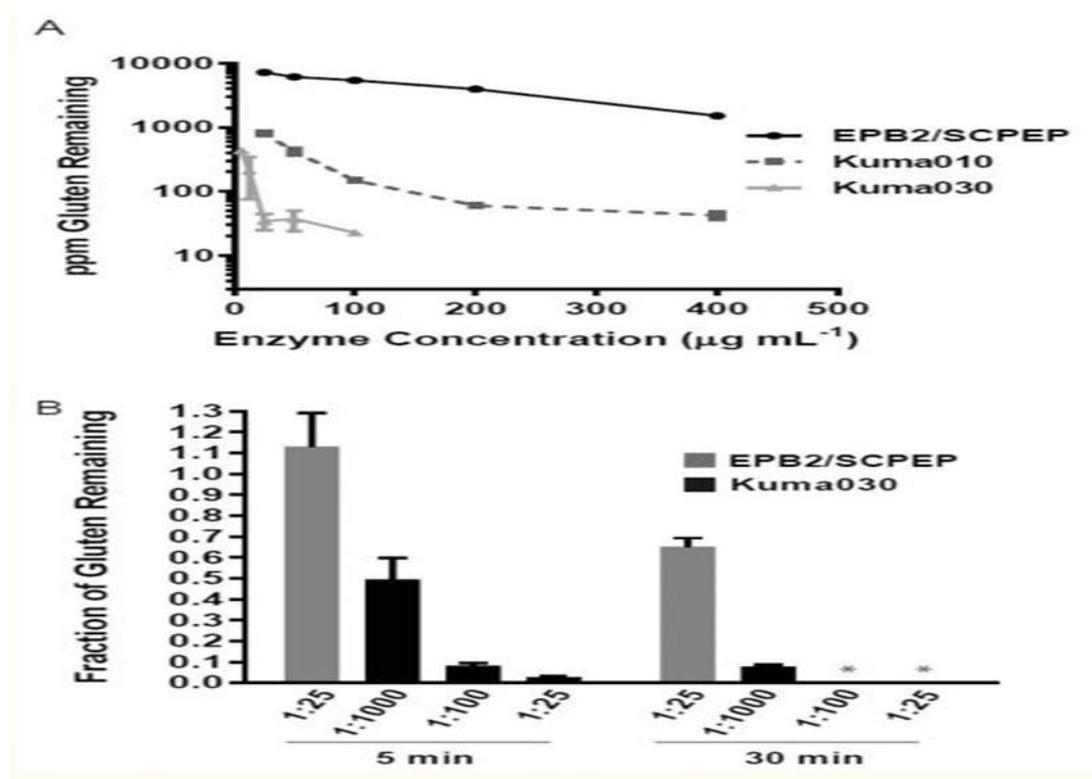
### Engineering of kuma030: a gliadin peptidase that rapidly degrades immunogenic gliadin peptides in gastric conditions

**Objectif :** évaluer le potentiel de Kuma030 (synthétisées par une modulation des endopeptidases dérivées d'*Escherichia coli*) en tant qu'enzyme thérapeutique pour la maladie Cœliaque.

Kuma030, SCPEP, EPB2, Kuma010 sont des enzymes synthétisées par une modulation des endopeptidases dérivées d'*Escherichia coli*.

**Méthode :** Le gluten entier purifié a été incubé avec Kuma030 ou avec SCPEP (le serine carboxipéptidase precursor expression protein) et EPB2 (expression in *Escherichia coli* of the proenzyme precursor B2) dans des conditions gastriques (pH 4,0 à 37 ° C avec 0,6 mg mL<sup>-1</sup> pepsine). La fraction de gluten restante après la dégradation a été quantifiée à l'aide de tests ELISA.

**Résultats :** Kuma030 est capable de dégrader rapidement et efficacement les régions immunogènes du gluten dans les conditions gastriques, elle est plus efficace par rapport aux enzymes EPB2 et SCPEP. EPB2 et SCPEP ont entraîné une dégradation du gluten de 84,4% (Figure 23A). EPB2 et SCPEP éliminent 70 à 79% du gluten. Kuma 030 a atteint une dégradation > 99,97%, atteignant la limite de quantification par ELISA (figure 25).



**Figure 25 :** la dégradation du gluten par Kuma030

Kuma030 est capable de dégrader rapidement et efficacement les régions immunogènes du gluten dans les conditions gastriques. (A) les concentrations de EPB2 et de SCPEP (Kuma 010) ou de Kuma030 dans des conditions gastriques, telles que mesurées par ELISA

(B) La quantité de gluten détectée 5 ou 30 minutes après l'incubation avec EPB2 et SCPEP ou Kuma030.

**Conclusion :** Kuma030 est capable de dégrader tous les épitopes du blé, de l'orge et du seigle. En effet, le traitement des aliments avec Kuma030 a permis de réduire la charge de gliadine de plus de

99% en quelques minutes. Les futurs travaux détermineront le potentiel de Kuma 30 en tant qu'élément du traitement de la maladie cœliaque.

## 6. Article de Gutiérrez et al., 2017

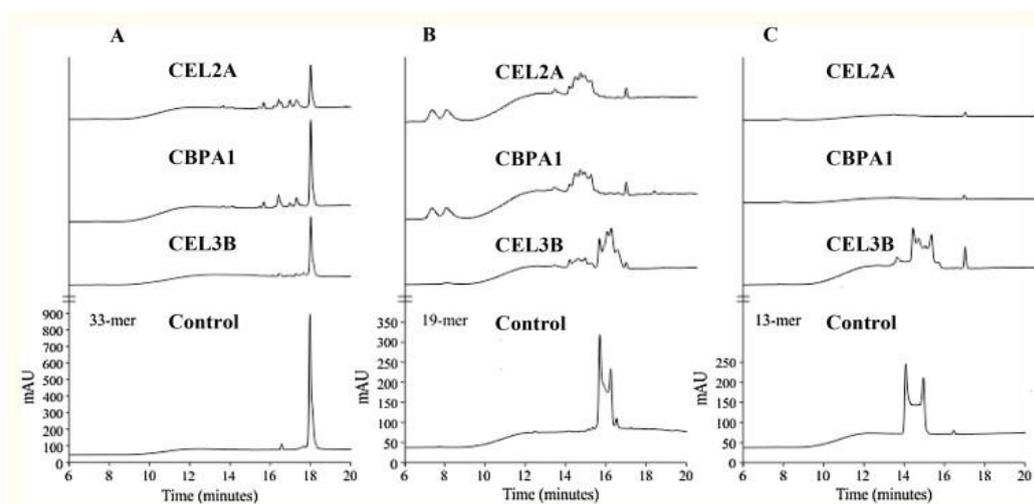
### The human digestive tract has proteases capable of gluten hydrolysis

**Objectif** : Identifier, purifier et caractériser les protéines responsables de l'activité de la glutase dans les matières fécales de sujets sains et de patients atteints de maladie cœliaque.

Enzyme ; la glutase (élastase 3B, élastase 2A, carboxypeptidase)

**Méthode** : Les échantillons de matières fécales ont été homogénéisés et les protéines précipitées ont été purifiées par chromatographie. L'activité de la glutase a été évaluée par des essais biologiques, une zymographie SDS-PAGE et une chromatographie en phase liquide à haute performance avec des peptides immunogènes des gliadine 33-mères, 19-mères et 13-mères.

**Résultats** : Les enzymes gastro-intestinales élastase 3B (CEL3B), élastase 2A (CEL2A) et carboxypeptidase A1 (CBPA1) ont dégradé le gluten humain. Ces protéines hydrolysent totalement les peptides de gliadine 13-mères et 19-mères qui déclenchent une entéropathie chez les individus génétiquement prédisposés à la Maladie cœliaque et digèrent partiellement un 33-mer (figure 26).



**Figure 26** : Activité hydrolytique fécale à partir de protéines purifiées fécales humaines contre des peptides dérivés de gliadine. Chromatogrammes générés après incubation des peptides 33-mères (A), 19-mères (B) et 13-mères (C) pendant 60 minutes à 37°C avec l'élastase 2A fécale humaine purifiée (CEL2A), la carboxypeptidase 1A (CBPA1) et de l'élastase 3B (CEL3B). Le bas de la figure montre la migration chromatographique des peptides.

**Conclusion** : Les voies digestives des patients atteints de MC et de sujets sains possèdent un mécanisme enzymatique nécessaire à la dégradation du gluten. Les patients atteints de MC présentaient plus d'hydrolyse du gluten que les individus en bonne santé, bien que, dans les deux cas, une fraction des peptides 33-mères soit demeurée intacte.

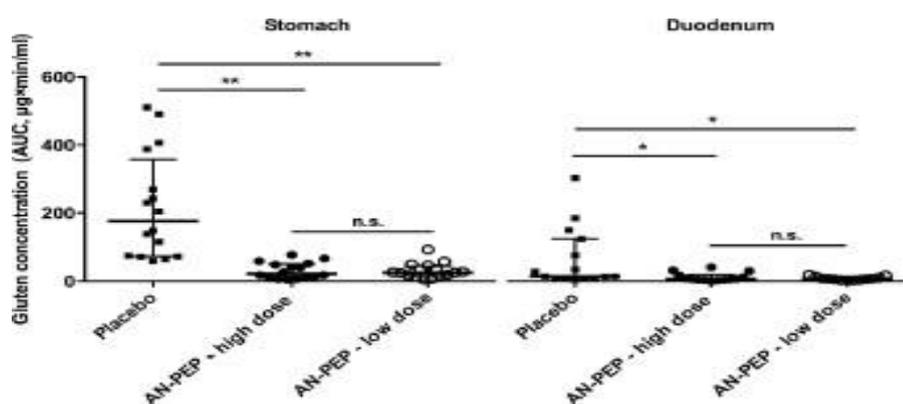
## 7. Article de König et al., 2017

### Randomized clinical trial: Effective gluten degradation by *Aspergillus Niger*-derived enzyme in a complex meal setting

**Objectif :** Tester l'efficacité de prolyl endoprotéase dérivée d'*Aspergillus Niger* (AN-PEP) sur la dégradation de gluten dans un contexte de repas physiologique chez des personnes sensibles au gluten.

**Méthode :** Dans cette étude, 18 sujets sensibles au gluten ont consommé une bouillie d'avoine contenant le gluten avec deux comprimés ne contenant pas d'ANPEP (placebo), d'AN-PEP à faible dose ou d'AN-PEP à forte dose ont été administrés au début de la consommation de la bouillie, les participants ont passé trois jours de test séparés par une période de lavage d'une semaine. Le contenu gastrique et duodéal a été prélevé par aspiration avant (-15 min) et 5, 10, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 150 et 180 minutes après la consommation d'intervention. L'épitope de gluten a été quantifié à l'aide du test ELISA.

**Résultats :** Diminution moyenne des concentrations de gluten. La dose élevée et la dose faible AN-PEP ont toutes deux abaissé de manière significative les concentrations de gluten dans l'estomac ainsi que dans le duodénum par rapport au placebo. Dans l'estomac, les concentrations de gluten ont été réduites de 88% à la dose élevée, et de 86% à la faible dose par rapport au placebo. Dans le duodénum, les taux de gluten ont été réduits de 56% à la dose élevée et de 48% à la faible dose par rapport au placebo (figure 27).



**Figure 27 :** Valeurs de l'ASC (0-180 min) des concentrations de gluten dans l'estomac et le duodénum. Les scores tracés individuellement pour les valeurs d'ASC (0–180min) ainsi que les barres noires indiquant la plage médiane et interquartile sont indiquées. La dose élevée et la dose faible AN-PEP ont significativement réduit les concentrations de gluten dans l'estomac et dans le duodénum par rapport à l'administration par placebo.

**Conclusion :** L'endoprotéase dérivée d'*Aspergillus Niger* (AN-PEP) est capable de dégrader le gluten lorsqu'il est ajouté à un repas perfusé. Le critère de jugement principal, à savoir le taux de réussite de la P-PNE à forte et faible dose, détermine une dégradation d'au moins 50% du gluten par rapport au placebo dans le duodénum et l'estomac.

## 8. Article de Satumarja et al., 2009

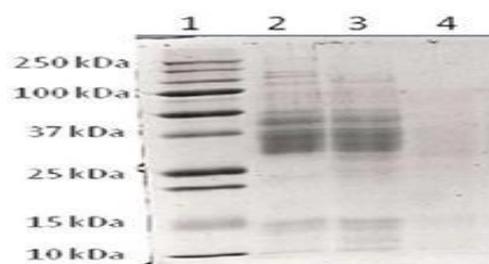
### **Enzymatic detoxification of gluten by germinating wheat proteases: Implications for new treatment of celiac disease**

**Objectif :** Tester la capacité des protéases de grains de blé en germination à diminuer les effets toxiques du gluten in vitro et ex vivo.

**Méthode :** La gliadine digérées par la pepsine et la trypsine (PT) a été prétraitée avec des protéases de blé en germination. La dégradation a ensuite été analysée par HPLC-MS. D'autre part, la gliadine a été incubée avec et sans enzymes de blé en germination dans un tampon sodium- acétate. La réaction a ensuite été arrêtée par chauffage, ensuite les échantillons ont été soumis à une SDS-PAGE.

**Résultat :** D'après les résultats d'HPLC-MS, la dégradation enzymatique par la gliadine PT a scindé la gliadine en produits peptidiques. Toutefois, certaines gliadines de haut poids moléculaire sont restées pratiquement intactes. Le prétraitement de la gliadine avec des enzymes de blé avant la digestion par le PT a entraîné une disparition totale de ces gliadines de haut poids moléculaire.

Le traitement de gliadine avec la0 préparation d'enzyme de blé en germination a entraîné la disparition complète du profil de bande SDS-PAGE typique de gliadine (figure 28).



**Figure 28 :** Dégradation par les enzymes du blé ; 1 : marqueur de taille ; 2 gliadine ; 3 : gliadine avec enzymes de blé en germination inactivées par la chaleur ; 4 gliadine germé avec enzymes de blé.

**Conclusion :** Les enzymes du blé sont capables de cliver les gliadines en produits peptidiques plus petits que la digestion par PT uniquement.

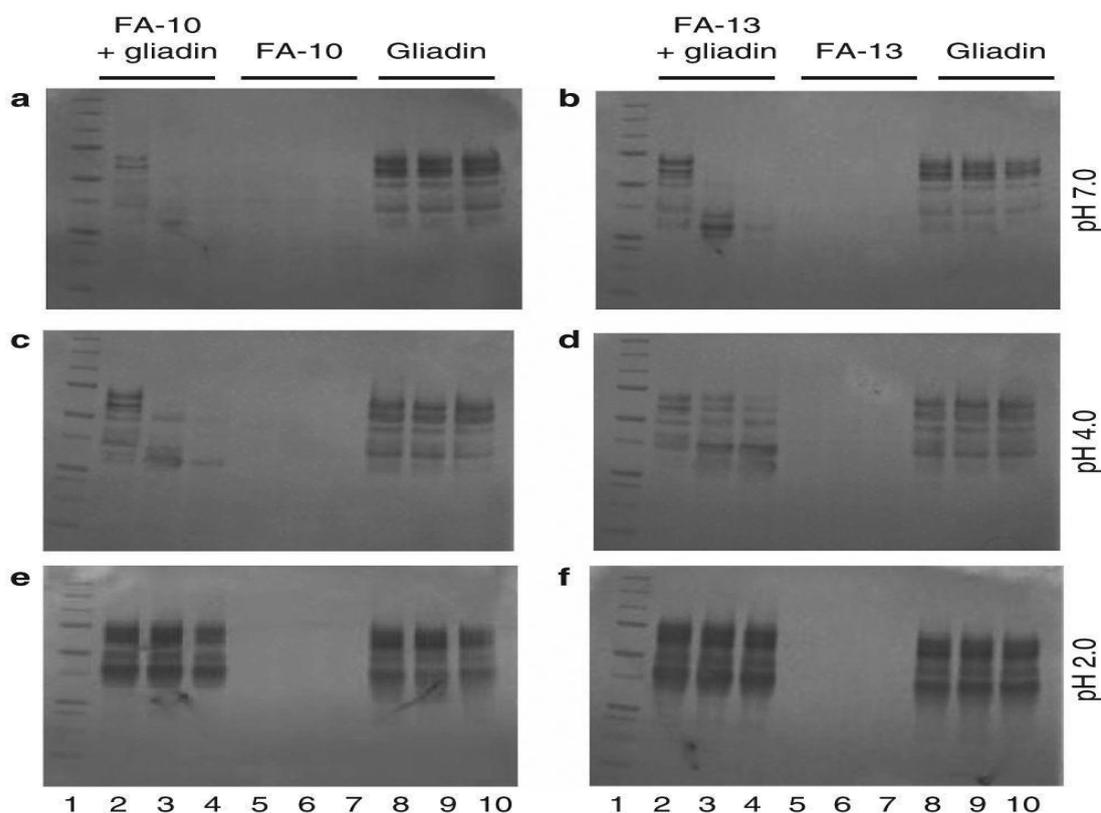
9. Article Wei et al., 2015

**Identification of Pseudolysin (IasB) as an Aciduric Gluten-Degrading Enzyme with High Therapeutic Potential for Celiac Disease**

**Objectif :** Isolement d'organismes *Pseudomonas aeruginosa* dégradant le gluten à partir de matières fécales humaines, en visant des bactéries capables de digérer le gluten dans des conditions acides, comme c'est le cas dans l'estomac.

**Méthode :** Les échantillons fécaux ont été prélevés chez trois adultes en bonne santé puis les gliadines mélangées ont été incubées avec des cellules bactériennes à pH 2,0, 4,0 et 7,0. La dégradation de gliadine a été évaluée dans des échantillons incubés pendant 0, 2 et 5 h, par électrophorèse sur SDS – PAGE.

**Résultat :** Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* (FA-10 et FA-13), obtenues sur une gélose acide, ont ensuite été évaluées pour déterminer la dégradation de gliadine en solution à pH 7,0, 4,0 et 2,0. Les protéases associées aux cellules des deux souches ont clivé efficacement les gliadines à pH 7,0 et 4,0, mais pas à pH 2,0, pendant la période de temps de 5 h examinée (figure 29).



**Figure 29 :** Dégradation des gliadines en solution par des contrainte Fa-10 et Fa-13

**Conclusion :** La pseudolysine (protéase dérivée de *Pseudomonas aeruginosa*) a été identifiée comme une enzyme clivant le gluten efficacement à des valeurs de pH extrêmement basses et presque neutres. Le potentiel de dégradation du gluten lors du transport gastrique ouvre des possibilités pour son application en tant que nouvel agent thérapeutique pour le traitement de la maladie cœliaque.

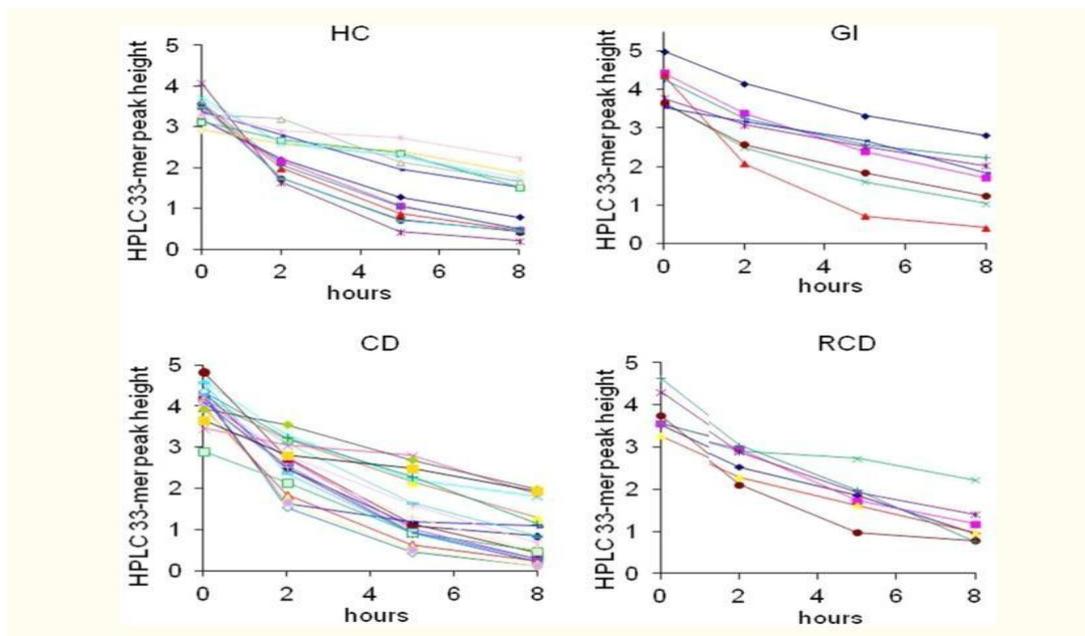
#### 10. Article de Na Tian et al., 2017

##### **Salivary Gluten Degradation and Oral Microbial Profiles in Healthy Individuals and Celiac Disease Patients.**

**Objectif :** Le but de cette étude est d'étudier les activités enzymatiques salivaires et les profils microbiens oraux chez des sujets sains par rapport aux patients atteints de MC classique et réfractaire.

**Méthode :** La salive a été recueillie chez des patients atteints de MC (n = 21) et de MC réfractaire (RCD ; n = 8) a été comparée à des témoins en bonne santé (HC ; n = 20) et à des sujets souffrant de troubles gastro-intestinaux fonctionnels (GI ; n = 12). Le peptide 33-mère a été ajouté à la salive entière. Après une incubation de 0, 2, 5 et 8 h à 37 ° C, des aliquotes de 100 µl ont été prélevées et portées à ébullition pendant 10 min. La dégradation de la 33-mère a été suivie en utilisant une RP-HPLC.

**Résultats :** La dégradation du 33-mère par la salive a été étudiée par (RP-HPLC). Cela était réalisable puisque la 33-mère est éluée vers 66 min, alors que la majorité des protéines salivaires sont éluées entre 27 et 64 min au gradient appliqué. Les hauteurs des pics à 33 mères en fonction du temps d'incubation de tous les sujets sont illustrées sur la Figure 28. Lorsque les patients (CD ou RCD) ont été comparés aux témoins (HC et sujets souffrant de troubles gastro-intestinaux), globalement, les valeurs  $t_{1/2}$  pour les 33-mères ont montré un profil cohérent d'activité enzymatique dans la salive étant modérément mais significativement élevé dans les groupes CD, avant et après normalisation de la concentration en protéines totales ou de la charge bactérienne (figure 30).



**Figure 30 :** Analyses RP-HPLC de la dégradation du peptide de gliadine 33-mère dans la salive entière de tous les sujets. Les hauteurs des pics à 33 mères sont rapportées au temps d'incubation (0, 2, 5 et 8 h).

**Conclusion :** Les microbiomes oraux des patients CD et RCD ont montré des différences significatives par rapport à celles des sujets sains, Les données présentées suggèrent que les activités enzymatiques dérivées de microbes buccaux sont élevées chez les sujets atteints de MC, ce qui peut avoir un impact sur le traitement du gluten.

Dans un objectif de détoxification, le gluten peut être hydrolysé suivant deux approches ; une approche médicale visant à hydrolyser les peptides toxiques de gluten en aval de l'ingestion dans le tractus digestif (enzymothérapie par suppléments oraux) ; et une approche de technologie alimentaire où le gluten est préalablement traité durant les processus de l'industrie (prétraitement de gluten) (Loponen, 2006).

L'idée de détoxification de gluten par protéolyse n'est pas assez récente. En effet, des procédures de détoxification en utilisant une enzyme (protéase) ou un mélange d'enzymes, ont été décrites. Messer et al. (1964) apercevait que l'extrait brut de papaïne (contenant diverses activités protéolytiques) montre un pouvoir important à hydrolyser le gluten et que l'extrait pur de protéinase de papaïne n'a cependant pas d'effet détoxifiant.

Dans ce contexte, nous allons comparer et discuter quelques études ayant pour but la détoxification de gluten par des protéases de différentes sources (végétales et microbiennes), et discerner, si c'est possible, leur impact sur les tentatives de l'enzymothérapie.

### **1. Protéases des céréales**

Le rôle biologique des protéines du gluten est de fournir un stock d'acides aminés (source de carbone, d'azote et de soufre) nécessaires pour la germination de l'embryon des céréales. Pour cela les protéases endogènes des céréales doivent avoir un pouvoir protéolytique considérable sur ces protéines de gluten. Une multitude d'études a testé ce pouvoir.

L'étude de Stenman et al. (2010) a montré que les enzymes germinatives d'orge ont permis la dégradation la plus efficace des peptides de sécaline et de gliadine, et que le mélange des enzymes de l'orge est plus efficace dans l'élimination des résidus toxiques des sécalines.

De même, l'étude de Hartmann et al. (2006) illustre le pouvoir des protéases isolées du blé, de l'orge et du seigle à dégrader les peptides cœliaco-actifs. Les résultats montrent que les GCP (protéases de céréales en germination) sont capable à dégrader les peptides intacts de gluten. Ces auteurs ont supposé que les GCP étaient actifs dans l'estomac lors de la digestion des aliments, ainsi que dans l'intestin grêle.

L'étude de Satumarja et al. (2009) a montré que les enzymes du blé peuvent cliver les gliadines en produits peptidiques plus petits que la digestion par PT.

D'autre part, Bethume et al. (2006) ont montré que l'hydrolyse des gliadines (le peptide 33-mère) par EP-B2, une protéase de cystéine d'orge est susceptible d'hydrolyser des hordéines lors de la germination. Pour faciliter la dégradation du gluten, un mélange de deux enzymes, composé d'une protéase de cystéine spécifique de la glutamine dérivée d'orge (B2) et d'un PEP dérivé de bactéries (issu de *S. capsulata*), a été mis au point (Siegel et al., 2006, Gass et al., 2006). Le

mélange enzymatique s'appelait «glutase». L'efficacité des deux enzymes, a été vérifiée dans un modèle de digestion du gluten gastrique chez le rat. En associant deux enzymes à l'activité gastrique, il devrait être possible d'augmenter le seuil de sécurité du gluten ingéré, ce qui allégerait le fardeau d'un régime fortement restreint pour les patients présentant une sprue cœliaque. Récemment, Tye-Din et al. (2010) ont signalé que le prétraitement du gluten par la glutase (ALV003) peut abolir les réponses immunitaires induites par le gluten chez les patients (in vivo) atteints de la MC pendant trois jours.

## 2. Protéases microbiennes

La dégradation du gluten peut se procéder par endopeptidases de type prolyl (PEPs). Ce sont des protéases, trouvées principalement dans les plantes et les microorganismes. Les PEPs d'origine microbienne (bactérienne ou fongique), contrairement à la protéase gastro-intestinale humaine, peuvent facilement cliver les peptides immunostimulants de gluten (riches en proline) (Hausch et al., 2002). L'évaluation de cette propriété a fait l'objectif de plusieurs études ces dernières années.

Helmerhorst et al. (2010) ont mis en évidence l'existence de microorganismes dégradant le gluten dans le tractus gastro-intestinal supérieur (bouche). De tels microorganismes peuvent jouer un rôle dans la digestion du gluten alimentaire. L'étude de Wei et al. (2015) a démontré que Kuma030 est capable de dégrader rapidement et efficacement les régions immunogènes du gluten, du blé, de l'orge et du seigle. En effet, le traitement des aliments avec Kuma030 a permis de réduire la charge de gliadine de plus de 99% en quelques minutes.

Wei et al. (2016) ont rapporté que les PEPs extraites de *Mucilaginosa rothia* peuvent être considérées comme de nouveaux candidats prometteurs pour la dégradation du gluten et donc le traitement enzymatique de la MC.

Gutiérrez et al. (2017) a montré que les enzymes gastro-intestinales ; élastase 3B, élastase 2A et carboxypeptidase A1 ont dégradé le gluten humain. Ces protéines hydrolysent totalement les peptides de gliadine 13-mer et 19-mer et digèrent partiellement le 33-mer.

König et al. (2017) ont prouvé que le prétraitement du gluten par la PEP dérivée d'*Aspergillus niger* (AN-PEP) est capable de dégrader le gluten chez des sujets en bonne santé. La dose élevée et la dose faible AN-PEP ont toutes deux abaissé de manière significative les concentrations de gluten dans l'estomac ainsi que dans le duodénum.

Une étude de Wei et al. (2015) a montré que la *Pseudomonas aeruginosa* ait été identifiée comme une bactérie capable de digérer le gluten efficacement à des valeurs de pH extrêmement

basses. Le potentiel de dégradation du gluten lors du transport gastrique ouvre des possibilités à son application en tant que nouvel agent thérapeutique pour le traitement de la MC.

Na Tian et al. (2017) ont rapporté que l'hydrolyse du 33-mer par les PEPs salivaires est très efficace. Les données présentées suggèrent que les activités enzymatiques dérivées de microbes buccaux sont élevées chez les sujets atteints de la MC, ce qui peut avoir un impact sur le prétraitement du gluten.

L'étude de Socha et al. (2015) a été orientée vers le clivage protéolytique des gliadines de blé à l'aide de protéases microbiennes. Parmi les protéases fongiques, l'activité protéolytique la plus efficace a été observée avec la protéinase d'*A. niger*, les peptides de gliadine de faible poids moléculaire étaient complètement dégradés. Les protéases bactériennes de *B. licheniformis* et de *B. thermoproteolyticus* ont été très efficaces sur les peptides de poids moléculaire inférieur de 15 kDa. Elles peuvent par conséquent être exploitées dans les tentatives de thérapie enzymatique orale ou dans l'industrie alimentaire en développant des produits alimentaires sans peptides cœliaco-actifs.

D'après les résultats rapportés, l'hydrolyse du gluten peut être obtenue par des protéases céréaliennes, bactériennes ou fongiques ou par une combinaison de celles-ci. Les enzymes les plus étudiées sont de la famille des propyl-endopeptidases. Ces enzymes sont résistantes aux protéases digestives et leur pH optimum est compatible avec celui retrouvé dans l'estomac. Un espoir important repose sur la thérapie enzymatique orale, qui a pour avantage une probable innocuité. Sans pour autant remplacer le régime sans gluten, elle pourrait cependant permettre des écarts alimentaires, améliorant ainsi le confort de vie du malade.

La synthèse faite a révélé plusieurs cibles attrayantes pour la dégradation du gluten et la prévention de la MC. Cette technologie alternative pourrait offrir la possibilité de réduire, voire d'éliminer les prolamines toxiques des céréales. Il sera intéressant de voir si l'une d'entre elles deviendra réalité dans les années à venir.

## **Conclusion**

La maladie cœliaque est une maladie auto-immune touchant 1% de la population, selon des études sérologiques et histologiques basées sur la population. La maladie implique une interaction complexe entre des facteurs environnementaux, génétiques et immunologiques. Le gluten des céréales et les protéines associées entraînent une inflammation de l'intestin grêle. L'élimination complète du gluten est le seul traitement actuellement disponible pour la MC. Ils peuvent être remplacés par d'autres grains comme le riz et le maïs. Des améliorations des symptômes sont généralement observées quelques jours à quelques semaines après le début du régime sans gluten.

L'espoir est que, dans les années futures, un nouveau traitement médicamenteux soit disponible pour soulager les patients qui ne répondent que partiellement au régime sans gluten. De nombreuses thérapies sont aujourd'hui à l'étude telle que des doses orales d'endopeptidases microbiennes et végétaliennes pour dégrader les peptides de blé.

D'après les résultats rapportés, l'hydrolyse du gluten peut être obtenue par une protéase de céréales, bactérienne ou fongique ou par une combinaison de celles-ci. Les études montrent qu'il existe des preuves substantielles suggérant l'intérêt de l'utilisation de l'enzyme protéolytique dans le traitement de la maladie cœliaque. Ceci servir certainement de plateforme aux études cliniques.

- Abadie V., Sollid L., Barreiro L.B., Jabri B.** 2011. Integration of Genetic And immunological Insights In to A Model of Celiac disease pathogenesis. *Annu. Rev. Immunol*, **29**: 493–525.
- Abreu M.T.** 2010. Toll-Like receptor signalling in the intestinal epithelium: how bacteriel recognition chapes intestinal function. *Nature Reviews Immunology*, **10**: 131-144.
- Alaedini A., Green P.H.** 2005. Narrative review: celiac disease: understanding a complex autoimmune disorder. *Annals of internal medicine*, **142**: 289-298.
- Bao F., Bhagat G.** 2012. Histopathology of celiac disease. *Gastrointest Endosc Clin N Am*, **22**: 679-694. **Bertrand M., Georgia M., Christof C., Nardin C.B.** 2006. La maladie cœliaque : un modèle d'étude de l'inflammation intestinale et de la lymphomagenèse T. *Hépatogastro*, **13** :223-235.
- Bethune M.T., Strop P., Tang Y., Sollid L.M.** 2006. Heterologous expression, purification, refolding, and structural-functional characterization of EP-B2, a self-activating barley cysteine endoprotease. *Chem. Biol*, **13**: 637–647.
- Bigare M.A.** 2016. La maladie cœliaque de l'adulte : pourquoi et quand la dépister ? Une revue de la littérature. Thèse de doctorat. Université de Paris Descartes.
- Boige V., Bouhnik Y., Delchier J.C., Jian R.** 1996. Anti-endomysium and anti-reticulin antibodies in adults with celiac disease followed-up in the Paris area. *Gastroentérologie clinique et biologique*, **20**: 931-937.
- Boudraa G., Bessahraoui M., Nedjadi K.B., Niar S.** 2008. Epidémiologie–Evolution de l'incidence de la maladie cœliaque chez l'enfant de l'Est Algérien (1975-2007). *Archives de Pédiatrie*, **15** : 949.
- Boudraa G., Hachelaf W., Benbouabdellah M., Belkad M.** 1996. Prevalence of celiac disease in diabetic children and their first-degree relatives in West Algeria: Screening with serological markers. *Acta paediatrica*, **85**: 58-60.
- Boudraa G., Touhami M.** 1997. La maladie cœliaque de l'enfant au Maghreb. *Médecine et nutrition*, **33**: 7-18.
- Bourrillon A.** 2000. Pédiatrie. Editions Masson, Paris, pp. 618.
- Bower S.L., Sharrett M.K., Plogsted S.** 2007. Celiac disease: a guide to living with gluten intolerance. Edition Demos Medical Publishing, USA, P160.
- Breton C.** 2002. Prévention Des Allergies Respiratoires Professionnelles En Boulangerie-Pâtisserie.'Le Souffle Des Boulangers, Un Enjeu De Santé Au Travail'. *Documents Pour Le Médecin Du Travail [Institut National De Recherche Et De Sécurité (INRS)]*, **90**: 111-129
- Briani C., Samaroo D., Alaedini A.** 2008. Celiac disease: from gluten to autoimmunity. *Autoimmunity reviews*, **7**: 644-650.

- Cacciari E., Corazza G.R., Salardi S., Pascucci M.G.** 1991. What will be the adult height of celiac patients? *European journal of pediatrics*, **150**: 407-409.
- Catala M., André J.M., Katsanis G., Poirier J.** 2008. Histologie : organes, systèmes et appareils. In: **André J.M., Catala M., Poirier J.** Edition faculté de médecine Pierre et Marie Curie. L'appareil digestif. *Chups Jussieu*, France, pp. 23-27.
- Catassi C., Doleretta Macis M., Ratsch IM., De Virgiliis S.** 2001. The distribution of DQ genes in the Sahraoui population provides only a partial explanation for the high celiac disease prevalence. *Tissue Antigens*, **58**: 402- 406.
- Catassi C., Gatti S., Lionetti E.** 2015. World perspective and celiac disease epidemiology. *Digestive diseases*, **33**: 141–146.
- Cerf-Bensussan N., Jabri B.** 2001. La maladie cœliaque : une maladie auto-immune induite par un antigène alimentaire. *Médecine/Sciences*, **17**: 1129-1138.
- Chantal K.** 2011. Support de Cours, L'appareil digestif, Collège universitaire et hospitalier des histologistes, embryologistes, cytologistes et cytogénéticiens (CHEC). Université Médicale Virtuelle Francophone.
- Charbonnier L., Jos J., Mougenot J.F., Mossé J.** 1980. Toxicité comparée de différentes céréales pour les sujets intolérants au gluten. *Reproduction Nutrition Développement*, **20**: 1369-1377.
- Chen Y.S., Christensen J.E, Broadbent JR., Steele J.L.** (2003). Identification and characterization of *Lactobacillus helveticus* PepO2, an endopeptidase with post-proline specificity. *Appl. Environ. Microbiol*, **69**: 1276-1282.
- Ciacci C., Cirillo M., Cavallaro R., Mazzacca G.** 2002 Suivi à long terme des adultes coeliaques sous régime sans gluten : prévalence et corrélations des lésions intestinales. *Digestion*, **66**: 178-185.
- Cosnes J., Cosnes C., Cosnes A., Contou J.F.** 2002. Undiagnosed celiac disease in childhood. *Gastroenterologie clinique et biologique*, **26**: 616-623.
- Cosnes J., Nion-Larmurier I.** 2013. Complications of celiac disease. *Pathol Biol Paris*. **61**: 21–26.
- Crowe S.E.** 2008. Celiac disease. In: Nutrition and gastrointestinal Disease. **Delegge M.H.** Humana Press edition, USA, pp.123-148.
- Denery-Papini S., Popineau y., Gueguen J.** 2001. Implication des protéines de céréales dans la maladie cœliaque. *Cah Nut Diét*, **36**: 43-51.
- Diniro R., Mesin L., Zheng N.Y., Stammaes J.** 2012. High abundance of plasma cells secreting transglutaminase 2-specific IgA autoantibodies with limited somatic hypermutation in celiac disease intestinal lesions. *Nature medicine*, **18**: 441- 445.
- Dixit R., Lebwohl B., Ludvigsson J.F., Lewis Sk.** 2014. Celiac Disease Diagnostique Frequently In Youngadult Males. *Dig Dis Sci*, **59**: 3025-3026.

- Dubé C., Rostom A., Sy R., Cranney A.** 2005. The prevalence of celiac disease in average-risk and at-risk Western European populations. *Asystematic review. Gastroenterology*, **128**: 57–67.
- Ducaroug B.** 2012. Régulation des systèmes d'adhérence cellulaire par le CRF2. Thèse de Doctorat. L'université De Grenoble, France.
- El Hannach S.** 2010. L'intérêt De La Biopsie Jéjunale Dans Le Diagnostic De La Maladie Cœliaque Chez L'enfant. Thèse De Doctorat. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah. Maroc.
- El Homsy M.** 2007. Etude des mécanismes de régulation de la sécrétion et de l'expression des mucines gastro-intestinales par la leptine. Thèse de Doctorat. Université Claude Bernard - Lyon 1. France.
- Fasano A., Catassi C.** 2001. Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. *Gastroenterology*, **120**: 636-651.
- Frexinos J.** 1988. Hépto-gastro-entérologie clinique. *Simep*, 127-133.
- Gass J., Bethune M.T., Siegel M., Spencer A.** 2007. Combination enzyme therapy for gastric digestion of dietary gluten in patients with celiac sprue. *Gastroenterol*, **133**: 472-480.
- Gass J., Bethune M.T., Siegel M., Spencer A.** 2007. Combination enzyme therapy for gastric digestion of dietary gluten in patients with celiac sprue. *Gastroenterol*, **133**: 472-480.
- Gass J., Ehren J., Strohmeier G., Isaacs I.** 2005. Fermentation, purification, formulation, and pharmacological evaluation of a prolyl endopeptidase from *Myxococcus xanthus*: implications for celiac sprue therapy. *Biotechnol. Bioeng*, **92**: 674-684.
- Green P.H.** 2005. The many faces of celiac disease: clinical presentation of celiac disease in the adult population. *Gastroenterology*, **128**: 74-78.
- Green P.H., Cellier C.** 2007. *Celiac disease. N En gl J Med*, **357**: 1731-1743.
- Gujral N., Freeman H.J., Thomson A.B.** 2012. Celiac disease: Prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment. *World J Gastroenterol*, **18**: 6036-6059.
- Gujral N., Suh J.W., Sunwoo H.H.** 2015. Effect of anti-gliadin IgY antibody on epithelial intestinal integrity and inflammatory response induced by gliadin. *BMC Immunol*, **9**: 16-41.
- Gutiérrez S., Pérez-Andrés J., Martínez-Blanco H., Ferrero M.A.** 2017. The human digestive tract has proteases capable of gluten hydrolysis. *Molecular metabolism*, **6**: 693-702.
- Hartmann G., Koehler P., Wieser H.** 2006. Rapid degradation of gliadin peptides toxic for coeliac disease patients by proteases from germinating cereals. *J. Cereal Sci*, **44**: 368-371.
- Hartmann G., Koehler P., Wieser H.** 2006. Rapid degradation of gliadin peptides toxic for coeliac disease patients by proteases from germinating cereals. *J. Cereal Sci*, **44**: 368-371.

- Hausch F., Shan L., Santiago N.A., Gray G.M.** 2002. Intestinal digestive resistance of immunodominant gliadin peptides. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol*, **283**: 996-1003.
- Helmerhorst E.J., Zamakhchari M., Schuppan D., Oppenheim F.G.** 2010. Discovery of a novel and rich source of gluten-degrading microbial enzymes in the oral cavity. *PloS one*, **5**: 132-164.
- Hill I.D., Dirks M.H., Liptak G.S., Colletti R.B.** 2005. 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**: 1-19
- Hoffenberg E.J., Emery L.M., Barriga K.J., Bao F.** 2006. Clinical features of children with screening-identified evidence of celiac disease. *Pediatrics*, **113**: 1254-1259.
- Husby S.** 2012. European Society for Pediatric, Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, **54**: 136-160.
- Ivarsson A., Hernell O., Stenlund H., Persson L.Å.** 2002. Breast-feeding protects against celiac disease. *The American journal of clinical nutrition*, **75**: 914-921.
- Jabri B., Sollid L.M.** 2009. Tissue-mediated control of immunopathology in coeliac disease. *Nature Reviews Immunology*, **9**: 858-869.
- Janatuinen E.K., Kemppainen T.A., Julkunen R.J.K., Kosma V.M.** 2002. No harm from five year ingestion of oats in coeliac disease. *Gut*, **50**: 332-335.
- Kasarda D.D.** 2013. Can An Increase In Celiac Disease Be Attributed To An Increase In The Gluten Content Of Wheat As A Consequence Of Wheat Breeding?. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, **61**: 1155-1159.
- König J., Holster S., Bruins M. J., Brummer R. J.** 2017. Randomized clinical trial: Effective gluten degradation by *Aspergillus niger*-derived enzyme in a complex meal setting. *Scientific reports*, **7**: 13100.
- Lamireau T., Clouzeau H.** 2015. Epidemiology of celiac disease. *PatholBiol*, **61**: 1– 4.
- Lamireau T., Clouzeau H.** 2008. Comment confirmer le diagnostic de maladie coeliaque ?. *Archives de Pédiatrie*, **15**: 504-505.
- Lee E., Schiller L.R., Fordtran J.S.** 1988. Quantification of a morphometric point counting method. *Gastroenterology*, **94**: 409-418.
- Lefief A,** 2015. Du blé sans gluten, c'est possible, [en ligne]. Disponible sur : <http://nutrition.aujourd'hui.com/info/du-ble-sans-gluten-cest-possible-24217.asp>

- Lerner A.** 2010. New therapeutic strategies for celiac disease. *Autoimmunity Reviews*, **9**: 144-147.
- Lionetti E., Gatti S., Pulvirenti A., Catassi C.** 2015. Celiac disease from a global perspective, *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology*, **29**: 365–379.
- Loponen J.** 2006. Prolamin degradation in sourdoughs, Thesis, University. Helsinki. p. 77
- Loponen J., Kanerva P, Zhang C, Sontag-Strohm T, Salovaara H, Gänzle M** (2009). Prolamin hydrolysis and pentosan solubilization in germinated-rye sourdoughs determined by chromatographic and immunological methods. *J. Agric. Food Chem*, **57**: 746-753.
- Ludvigsson J.F., Leffler D.A., Bai J.C., Biagi F.** 2013. The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. *Gut*, **62**: 43–52.
- Ludvigsson J.F., Michaëlsson K., Ekblom A., Montgomery S.M.** 2007. Coeliac disease and the risk of fractures—a general population-based cohort study. *Alimentary pharmacology and therapeutics*, **25**: 273-285.
- Malamut G.** 2012. La maladie cœliaque. *Médecine Nutr*, **48**: 24–27.
- Malamut G., Meresse B., Cellier C., Cerf-Bensussan N.** 2009. Celiac disease in 2009: a future without gluten-free diet, *Gastroenterologie Clinique et Biologique*, **33**: 635-647.
- Masson E.** 2014. Les Fondamentaux De La Pathologie Digestive. In: Jéjunum-Iléon. *Edition Collégiale Universitaire En Hépato-Gastro-Entérologie*. Laurent Beaugerie Harry Sokol, P 7
- Matuchansky C., Rousseau S., Morin M.C.** 2004. Maladie cœliaque de l'adulte : actualités du régime sans gluten. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, **39**: 311-317.
- Mccarville J.L., Caminero A., Verdu, E.F.** 2015. Pharmacological approaches in celiac disease. *Current opinion in pharmacology*, **25**: 7-12.
- Megiorni F., Mora B., Bonamico M., Barbato M.,** 2009. HLA-DQ and risk gradient for celiac disease. *Human immunology*, **70**: 55-59.
- Meresse B., Malamu G., Cellier C., Cerf-Bensussan N.** 2006. La maladie cœliaque : un modèle d'étude de l'inflammation intestinale et de la lymphomagenèse T. *Hépatogastro Oncologie Digestive*, **13**: 223-235.
- Messer M., Anderson C.M., Hubbard L.** 1964. Studies on the mechanism of destruction of toxic action of wheat gluten in celiac disease by crude papain. *Gut*, **5**: 295-303.

**Mouterde O., Ben Hariz M., Dumant C.** 2008. Le nouveau visage de la maladie coeliaque. *Archives de Pédiatrie*, **15**: 501 - 503.

**Nardin C.** 2017. Maladie cœliaque: Mieux comprendre pour mieux prendre en charge (Prévention et traitement). Thèse de doctorat. Université de marseille. France

**Nion-Larmurier I., Cosnes J.** 2009. Maladie cœliaque. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, **33**: 508-517.

**Olives J.P.** 2006. Maladie cœliaque. Nouvelles perspectives, **9**: 87-98

**Olives J.P.** 2013 La maladie cœliaque, édition *Post'U*, p 13-20

**Pecquet C., Laurere M.** 2003. New allergens in hydrolysates of wheat proteins. *Revue française d'allergologie et d'immunologie Clinique*, **43**: 21-23.

**Piper J.L., Gray G.M., Khosla C.** 2004. Effect of prolyl endopeptidase on digestive-resistant gliadin peptides *in vivo*. *J. Pharmacol. Exp. Ther*, **311**: 213-219.

**Piper J.L., Gray G.M., Khosla C.** 2004. Effect of prolyl endopeptidase on digestive-resistant gliadin peptides *in vivo*. *J. Pharmacol. Exp. Ther*, **311**: 213-219.

**Plugis N.M., Khosla C.** 2015. Therapeutic approaches for celiac disease. *Best practice and research Clinical gastroenterology*, **29**: 503-521.

**Rampertab SD., Pooran N., Brar P., Singh P.** 2006. Trends in the presentation of celiac disease. *Am J Med*, **119**: 355-359.

**Rashid M., Lee J.** 2016. Tests sérologiques dans la maladie cœliaque: Guide pratique à l'usage des cliniciens. *Canadian Family Physician*, 6211-6217.

**Rémésy C., Leenhardt F., Fardet A.** 2015. Donner un nouvel avenir au pain dans le cadre d'une alimentation durable et préventive. *Cah Nutr Diet*, **50**: 39 - 46.

**Rostom A., Murray J.A., Kagnoff M.F.** 2006. American Gastroenterological Association (AGA). Institute technical review on the diagnosis and management of celiac disease. *Astroenterology*, **131**: 1981-2002.

**Roujon P., Guidicelli G., Moreau J.F., Taupin J.L.** 2011. Immunogénétique De La Maladie Coeliaque. *Pathologie Biologie*, **61**: 5-11.

- Rouviere.H., Delmas A.** 2005. Anatomie Humaine; tome 2: Tronc; organes de l'abdomen ; appareil digestif et péritoines, pp. 400-460.
- Samake D.S.** 2008. Les péritonites par perforation iléales d'origine typique dans le service de chirurgie « A » du C.H.U du point G. Thèse de doctorat en médecine. Université de Bamako, Mali.
- Schapepert S.M., Burt C.W.** 2006. Ambulatory care visits to physician offices, hospital outpatient departments, and emergency: United States 2001-2002. *Vital And Health Statistics*, **13**: 1-66.
- Schmitz J.** 2007. Le régime sans gluten chez l'enfant. *Journal de pédiatrie et de puériculture*, **20**: 337-344
- Seah P.P., Fry L., Rossiter M., Hopfbrand A.V.** 1971. Anti-reticulon antibodies in childhood coeliac disease. *The Lancet*, **298**: 681-682.
- Shan L., Molberg O., Parrot I., Hausch F.** 2002. Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Science*, **297**: 2275-2279.
- Shewry P.R., Halford N.G., Belton, P.S., Tatham A.S.** 2002. The Structure And Properties Of Gluten: An Elastic protein from wheat grain. *Philosophical Transactions Of The Royal Society Of London B: Biological Sciences*, **357**: 133-142.
- Siegel M, Bethune M.T., Gass J., Ehren J.** 2006. Rational design of combination enzyme therapy for celiac sprue. *Chem. Biol*, **13**: 649-658.
- Siegel M., Bethune MT., Gass J., Ehren J.** 2006. Rational design of combination enzyme therapy for celiac sprue. *Chem. Biol*, **13**: 649-658.
- Socha P., Mickowska B., Urminská D., Kacmarova K.** 2015. The use of different proteases to hydrolyze gliadins. *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, **4**: 101.
- 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**: 732-738.
- Stenman S.M., Lindfors K., Venäläinen J.I., Hautala A.,** 2010. Degradation of coeliac disease-inducing rye secalin by germinating cereal enzymes: diminishing toxic effects in intestinal epithelial cells. *Clinical and Experimental Immunology*, **161**: 42-249.

- Stenman S.M., Venalainen J.I., Lindfors K., Auriola S.** 2009. Enzymatic detoxification of gluten by germinating wheat proteases: implications for new treatment of celiac disease. *Annals of medicine*, **41**: 390-40
- Stepniak D., Spaenij-Dekking L., Mitea C., Moester M.** 2006. Highly efficient gluten degradation with a newly identified prolyl endoprotease: implications for celiac disease. *Am. J. Physiol. Gastro intest. Liver Physiol*, **291**: 621-629.
- Stepniak D., Spaenij-Dekking L., Mitea C., Moester M.** 2006. Highly efficient gluten degradation with a newly identified prolyl endoprotease: implications for celiac disease. *Am. J. Physiol. Gastro intest. Liver Physiol*, **291**: 621-629
- Szajewska H., Chmielewska A., Piescik- Lech M., Ivarsson A.** 2012. Systematic review: early infant feeding and the prevention of celiac disease *Aliment. pharmacol Ther*, **36**: 607 -618
- Thomson A.B.R., Shaffer E.A.** 2003. Principes fondamentaux de gastro-entérologie, Etats pathologiques et démarches thérapeutiques. *Janssen-Ortho*, 290.
- Tian N., Faller L., Leffler D. A., Kelly C.P.** 2017. Salivary gluten degradation and oral microbial profiles in healthy individuals and celiac disease patients. *Appl Environ Microbiol*, **83**: 3330-3416.
- Tye-Din J.A., Anderson R.P., Ffrench R.A., Brown G.J.** 2010. The effects of ALV003 pre-digestion of gluten on immune response and symptoms in celiac disease in vivo. *Clin. Immunol*, **134**: 289-2.
- Ventura A., Magazzù G., Greco L.** 1999. Duration of exposure to gluten and risk for autoimmune disorders in patients with celiac disease. *Gastroenterology*, **117**: 297-303.
- Weber A.L.** 2012. *La maladie cœliaque: physiopathologie et traitement*. Thèse de doctorat. Université De Lorraine, France.
- Wei G., Tian N., Siezen R., Schuppan D.** 2016. Identification of food-grade subtilisins as gluten-degrading enzymes to treat celiac disease. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, **311**: G571-G580.
- Wei G., Tian N., Valery A.C., Zhong Y.** 2015. Identification of pseudolysin (lasB) as an aciduric gluten-degrading enzyme with high therapeutic potential for celiac disease, **110**: 899-908.
- Wieser H.** 1996. Relation between gliadin structure and coeliac toxicity. *ActaPaediatr*, **412**: 3-9.
- Wieser H.** 2007. Chemistry of gluten proteins. *Food microbiology*, **24**: 115-119.

**Wolf C., Siegel J.B., Tinberg C., Camarca A.** 2015. Engineering of Kuma030: a gliadin peptidase that rapidly degrades immunogenic gliadin peptides in gastric conditions. *Journal of the American Chemical Society*, **137**: 13106-13113.

**Zingone F., Capone P., Ciacci C.** 2010. Celiac disease: Alternatives to a gluten free diet. *World journal of gastrointestinal pharmacology and therapeutics*, **1**: 36.

## Annexe 1 : Résumé des études utilisant la protéolyse pour dégrader les peptides cœliaco-actifs

Stratégie utilisée	Protéase de microorganisme et / ou de céréale	Référence
Bacterial protease	<i>Flavobacterium meningosepticum</i> <i>Myxococcus xanthus</i> <i>Sphingomonas capsulata</i> <i>Lactobacillus helveticus</i>	Shan et al. (2002) Piper et al. (2004) Gass et al. (2005) Chen et al. (2003)
Fungal protease	<i>Aspergillus niger</i>	Stepaniak et al. (2006)
Germinated cereal protease (GCP)	Wheat, rye and barley	Hartmann et al. (2006) and Loponen et al. (2007,2009)
Mixture: GCP and bacterial protease	GCP from barley (EP-B2) and PEP: <i>Sphingomonas capsulata</i> (SC-PEP)	Siegel et al. (2006), Gass et al. (2007) and Tye-Din et al. 2010

Réalisé par :  
BOURAOUI Safa  
CHAOUI Wissam  
SAIDI Lina

Encadré par :  
Dr. MEDOURI A.

## *Protéolyse du gluten : une alternative thérapeutique de la maladie cœliaque*

### Résumé

La maladie cœliaque résulte de lésions de la muqueuse de l'intestin grêle dues à une réponse immunitaire inappropriée à des protéines de céréale (blé, seigle, orge). Le seul traitement contre la MC consiste à éviter le gluten tout au long de la vie. Les produits sans gluten ne sont pas largement disponibles et sont généralement plus chers. C'est pourquoi ; il est urgent de développer une thérapie alternative. La dégradation enzymatique du gluten entre autres approches, abolissant ses activités immunogènes et toxigènes, est une stratégie alternative attrayante pour la thérapie orale de la MC. Plusieurs études portant sur l'appréciation de l'activité de plusieurs protéases à détoxifier le gluten suivant différentes approches, ont été analysées. Cette revue se concentre sur les enzymes microbiennes et végétales présumées pour digérer le gluten.

**Mots-clés :** maladie cœliaque, gluten, protéolyse, thérapie enzymatique.

### Abstract

Celiac disease results from damage to the small intestinal mucosa due to an inappropriate immune response to a cereal protein (wheat, rye, barley). The only treatment for CD is life-long avoidance of gluten proteins. Gluten-free products are not widely available and usually more expensive. That is why; there is an urgent need to develop an alternative therapy. Enzymatic degradation of gluten among other approaches, abolishing its immunogenic and toxigenic activities, is an attractive alternative strategy for oral therapy in CD. Several studies examining the assessment of the activity of several proteases to detoxify gluten, according to different approaches, have been analyzed. This review focuses on microbial and plant enzymes presumed to digest gluten.

**Key words:** Celiac disease, gluten, proteolysis, enzymatic therapy.

### ملخص

ينتج مرض السيلياك عن تلف بطانة الأمعاء الدقيقة بسبب استجابة مناعية غير مناسبة لبروتين الحبوب (القمح والشيلم والشعير). العلاج الوحيد لمرض السيلياك هو تجنب بروتينات الغلوتين طوال الحياة. المنتجات الخالية من الغلوتين ليست متاحة على نطاق واسع وهي أعلى ثمنًا بشكل عام. لهذا السبب من الضروري تطوير علاج بديل. يعتبر التحلل الأنزيمي للغلوتين ضمن هذه الطرق حيث يسمح بإلغاء الأنشطة المناعية والتسممية، وهو يعتبر استراتيجية بديلة ملفتة للعلاج عن طريق الفم.

وقد تم تحليل العديد من الدراسات التي تبحث في تقييم نشاط العديد من إنزيمات البروتياز لإزالة السموم من الغلوتين وفقًا لنهج مختلفة. تركز هذه المراجعة على الإنزيمات الميكروبية والنباتية المقترضة لهضم الغلوتين.

**الكلمات المفتاحية:** مرض السيلياك، الغلوتين، التحلل البروتيني، العلاج بالإنزيمات

