

MAG/574.88 - 36/04

107/2

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID. TLEMCCEN

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

THESE DE MAGISTER EN BIOLOGIE

Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire



Inscrit sous le N° B.11.3.40
Date 2007...
Cote

Thème

**Etude de l'activité enzymatique de 3 disaccharidases
et de 3 dipeptidases de biopsies jéjunales de sujets
cœliaques avant et après restriction au gluten.
Etude histologique.**

Présentée par : Mr. MISSOURI Miloud

Soutenu le :

Devant le jury composé de :

Président :

Mr. M. BENYOUCEF

Professeur (Faculté de Médecine, Université de Tlemcen)

Rapporteur :

Mr. O. KHEROUA

Professeur (Faculté des Sciences, Université d'Oran)

Co-Rapporteur :

Mr. A. CHEKROUN

Chargé de Cours (Faculté des Sciences, Université d'Oran)

Examineurs :

Mr. D. SAIDI

Professeur (Faculté des Sciences, Université d'Oran)

M^{lle}. O. GAOUAR

Maître de Conférences (Faculté des Sciences, Université de Tlemcen)

Mr. K. BOUCHERIT

Chargé de Cours (Faculté des Sciences, Université de Tlemcen)

Invité :

Mr. N. ABOUBEKER

Maître Assistant (Faculté de Médecine, Université de Sidi Bel-Abbès)

DEDICACE

Je dédie ce travail à toute ma famille et à tous mes amis

REMERCIEMENTS

Le travail qui a fait l'objet de ce Magister, a été réalisé au service de Pédiatrie et le service d'Anatomie pathologique du C.H-U de Sidi Bel-Abbès, au laboratoire de Biochimie de la Faculté des Sciences de l'université de Sidi Bel-Abbès.

Mes vifs remerciements vont :

Au Professeur O. KHEROUA qui m'a fait l'honneur de guider et orienter judicieusement ce travail.

Je tiens à remercier vivement mon Co-Encadreur, Mr A. CHEKROUN, chargé de cours, pour ses précieux conseils et son aide efficace dans la réalisation de ce travail.

Au Professeur M. BENYOUCEF qui me fait le grand honneur de bien vouloir présider ce jury.

Au Professeur D. SAIDI, d'avoir accepté d'examiner et juger ce travail.

A M^{elle} O. GAOUAR, Maître de Conférences, d'avoir accepté d'être membre du jury.

A Mr K. BOUCHERIT, Chargé de Cours, qu'il trouve ici l'expression de ma gratitude, en acceptant de faire partie du jury.

J'adresse mes vifs remerciements au chef de service de Pédiatrie du C.H-U de Sidi Bel-Abbès, le Docteur N. ABOUBEKER pour sa précieuse collaboration et son attention constante dans la partie clinique.

Je tiens à remercier aussi le Docteur A. TOU et son équipe qui m'ont accueilli dans leur service d'Anatomie pathologique et qui ont mis à ma disposition tout le matériel nécessaire.

Je remercie également Mr F. MEZEMAZE, ainsi que Mr Z. MEHDADI pour leur soutien moral.

Je remercie enfin tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de cette thèse dans les meilleures conditions.

RESUME

Le but de ce travail est de rechercher chez une population de sujets MC, l'existence d'une modification des activités enzymatiques de 3 disaccharidases et de 3 dipeptidases jéjunales en phase active de la maladie. Ce travail est complété par une étude histologique et anthropométrique des sujets MC en phase active de la maladie et après restriction au gluten.

25 sujets des deux sexes comprenant un groupe MC (n=16) et un groupe témoin (n=9) ont été inclus dans cette étude. Sur chaque sujet et dans un but diagnostique a été pratiquée une biopsie jéjunale par voie endoscopique qui a été divisée en 2 parties: un fragment pour l'étude histologique et l'autre pour une étude biochimique. Sont dosées les protéines totales, 3 disaccharidases (lactase, saccharase, maltase) et 3 dipeptidases (L-gly-L-pro dipeptidase, L-ala-L-pro dipeptidase, L-iso-L-iso dipeptidase). Les biopsies ainsi que les mesures anthropométriques des MC sont effectuées à différents stades: B₁, B₂ et B₃.

Les résultats obtenus montrent que:

- Les taux de protéines totales mesurées chez les sujets MC sont comparables durant les 3 phases expérimentales: B₁, B₂ et B₃. Les A.T et A.S de la lactase et de la saccharase ne présentent aucune différence significative chez les sujets MC. Aucune modification significative n'est observée pour l'A.T et A.S de la maltase en phase (B₁). En revanche, les A.T et A.S de cette enzyme sont significativement augmentées respectivement en phase (B₃) ($p < 0.05$; $p < 0.001$). Il en est de même lorsqu'on compare B₁ à B₃ ($p < 0.05$; $p < 0.001$). Aucune modification significative n'est observée pour l'A.T des 3 dipeptidases étudiées durant les 3 phases expérimentales: B₁, B₂ et B₃. Par ailleurs, les A.S de la L-iso-L-iso dipeptidase ne représentent aucune différence significative chez les sujets MC. En revanche, les A.S des 2 autres dipeptidases sont significativement diminuées en phase (B₁) ($p < 0.05$). Ces activités augmentent en période de restriction au gluten ($p < 0.05$).
- Les résultats de l'étude histologique montrent en phase (B₁): une atrophie villositaire totale (6 patients), subtotalaire (8 sujets) et partielle (2 patients). En phase (B₂), nous observons une atrophie villositaire totale (1 sujet), subtotalaire (6 sujets), partielle (6 sujets) et modérée (3 sujets). En phase (B₃), l'histologie montre une atrophie villositaire subtotalaire (2 sujets), partielle (4 sujets), modérée (9 sujets) et une muqueuse jéjunale normale (1 sujet).
- Les résultats de l'étude anthropométrique montrent qu'il n'y a pas de différence significative du poids et de la taille entre B₁ et B₂. En revanche, le rapport P/T est significativement augmenté en phase B₂ ($p < 0.05$). Les différences pour ces paramètres deviennent significatives lorsqu'on compare B₁ à B₃ ($p < 0.05$; $p < 0.02$; $p < 0.01$). Comparées à des données individuelles standards des sujets normaux établies par Sempé et Pédrón (1970), on remarque qu'en phase (B₁), 87,5% des sujets malades présentent une atteinte de la courbe staturo-pondérale. En phase (B₂), l'atteinte de cette courbe persiste chez 75 % des cas. Enfin, en phase (B₃), l'atteinte de cette courbe persiste encore chez 56,25 % des cas.

En conclusion, la MC ne semble pas affecter significativement l'activité enzymatique des disaccharidases. L'activité des dipeptidases diminue significativement en phase active de la maladie suggérant une atteinte probablement partielle des processus de la digestion enzymatique au niveau de l'épithélium intestinal. A la lumière des études histologique et anthropométrique, il apparaît que le degré de récupération de l'épithélium intestinal et la vitesse de croissance staturo-pondérale sont fonctions de chaque individu, probablement en rapport avec sa constitution, sa génétique et d'autres facteurs. Il n'existe pas de durée standard de ces 2 paramètres quant à la période de restriction au gluten.

Mots clés : maladie cœliaque, disaccharidases, dipeptidases, biopsie jéjunale, anthropométrie.

ABSTRACT

The aim of this work is to seek within a population of celiac disease (CD) subjects, the existence of a modification of enzymatic activities of 3 jejunal disaccharidase and 3 jejunal dipeptidase in an active phase of the disease. This work is completed by an histological and anthropometrical study of the CD subjects in active phase of the disease and after gluten withdrawal.

25 subjects of both sexes including a CD group (n=16) and a control group (n=9) have been included in this study. Aiming at a diagnostic, and on each subject, a jejunal biopsy has been practiced by endoscopic way which was divided into 2 parts : a fragment for the histological study and the other for a biochemical study. The total proteins, 3 disaccharidase (Lactase, Saccharase, Maltase) and 3 dipeptidase (L-gly-L-pro dipeptidase, L-ala-L-pro dipeptidase, L-iso-L-iso dipeptidase) are measured. The biopsies and the anthropometric measures of the CD are carried out at different stages: B₁, B₂ and B₃.

The obtained results show that :

- The total protein rates measured with the CD subjects are comparable during the 3 experimental stages : B₁, B₂ and B₃. The T.A and the S.A of the lactase and the saccharase don't present any significative difference within the CD subjects. No significative modification is observed for the T.A and the S.A of the maltase in phase (B₁). On the other hand, the T.A and S.A of this enzyme are respectively increased significantly in phase (B₃) ($p < 0.05$; $p < 0.001$). It is similar when comparing B₁ to B₃ ($p < 0.05$; $p < 0.001$). No significative modification is observed for the T.A of the 3 studied dipeptidase during the 3 experimental stages : B₁, B₂ and B₃. Otherwise, the S.A of the L-iso-L-iso dipeptidase don't represent any significative difference within the CD subjects. On the other hand, the S.A of the 2 other dipeptidase are significantly decreased in phase (B₁) ($p < 0.05$). These activities raise in gluten withdrawal period ($p < 0.05$).

- The results of the histological study show in phase (B₁) : a total villous atrophy (6 patients), subtotal (8 subjects) and partial (2 patients). In phase (B₂), we observe a total villous atrophy (1 subject), subtotal (6 subjects), partial (6 subjects) and moderate (3 subjects). In phase (B₃), the histology shows a subtotal villous atrophy (2 subjects), partial (4 subjects), moderate (9 subjects) and a normal jejunal mucosa (1 subject).

- The results of the anthropometrical study show that there is no significative difference of the weight and height between B₁ and B₂. In the other hand, the P/T ratio is significantly increased in phase B₂ ($p < 0.05$). The differences for these parameters become significative when comparing B₁ to B₃ ($p < 0.05$; $p < 0.02$; $p < 0.01$). compared to some standard individual datas of normal subjects established by Sempé and Pédrón (1970), we notice that in phase (B₁), 87,5% of the sick subjects present an attack of the statur-ponderable curve. In phase (B₂), the attack of this curve persists within 75% of the cases. At the end, in phase (B₃), the attack of this curve still persists within 56,25% of the cases.

In conclusion, the CD doesn't seem affecting significantly the enzymatic activity of the disaccharidases. The dipeptidase's activity significantly diminishes in the disease's active phase suggesting an attack, probably partial, of the enzymatic digestion processes at the level of the intestinal epithelium. Enlightened by the histological and anthropometrical studies, it appears that the recovery degree of the intestinal epithelium and the statur-ponderable growth speed are functions of each individual, probably in keeping with his make-up, his genetics, and other factors. The standard duration of these 2 parameters doesn't exist according to the gluten withdrawal period.

Key words : celiac disease, disaccharidase, dipeptidase, jejunal biopsy, anthropometry.

ملخص

يهدف هذا العمل إلى البحث عند مجموعة من الأفراد المصابين بمرض عدم تقبل الغلوتين، وجود تغيرات للنشاطات الأنزيمية لثلاثة أنزيمات لإمالة السكريات الثنائية وثلاثة أنزيمات لإمالة ثنائيات البيتيد المتواجدة في الصائم في مرحلة النشاط المرضي. يكتمل هذا العمل بدراسة نسيجية وقياسية إناسية للأفراد المصابين بمرض عدم تقبل الغلوتين في مرحلة النشاط المرضي وبعد حذف الغلوتين.

أدرج في هذه الدراسة 25 فرداً من الجنسين مقسمين إلى مجموعة تضم 16 فرداً مصابين بمرض عدم تقبل الغلوتين ومجموعة شاهدة تضم 9 أفراد. عند كل فرد ولغرض تشخيصي، أجريت خزعة على مستوى الصائم عبر مسلك تنظري باطني وقسمت إلى جزئين : جزء للدراسة النسيجية والآخر للدراسة البيوكيميائية. على الجزء الأخير عينت كمية كل من البروتينات الكلية، 3 أنزيمات إمالة السكريات الثنائية (اللاكتاز، السكاراز، المالتاز) و 3 أنزيمات إمالة ثنائيات البيتيد (L-غلي-L-برو ثنائي البيتيداز، L-ألا-L-برو ثنائي البيتيداز، L-إيزو-L-إيزو ثنائي البيتيداز). لقد تمت الخزعات وأيضاً القياسات القياسية الإناسية في مراحل مختلفة : 1،خ و 2،خ و 3.

تبين النتائج المحصل عليها ما يلي :

● قورنت نسبة البروتينات الكلية المقاسة عند الأفراد المصابين بمرض عدم تقبل الغلوتين خلال المراحل التجريبية الثلاثة : 1،خ و 2،خ و 3،خ . إن النشاطات الكلية والنوعية للاكتاز والسكاراز لا تبين أي فارق بليغ عند الأفراد المصابين بمرض عدم تقبل الغلوتين. لم يلاحظ أي تغير بليغ بالنسبة للنشاط الكلي والنوعي للمالتاز في المرحلة (1،خ). بالمقابل، إن النشاطات الكلية والنوعية لهذا الأنزيم ارتفعت ببلاغة على التوالي في المرحلة (3،خ) (>0.05 ؛ >0.001). نفس النتائج تتحصل عليها عندما تقارن 1،خ مع 3،خ (>0.05 ؛ >0.001). لم يلاحظ أي تغير بليغ للنشاط الكلي لأنزيمات إمالة ثنائيات البيتيد الثلاثة المدروسة خلال المراحل التجريبية الثلاثة : 1،خ و 2،خ و 3،خ. من جهة أخرى، أن النشاطات النوعية للأنزيم L-إيزو-L-إيزو ثنائي البيتيداز لم تظهر أي فارق بليغ عند الأفراد المصابين بمرض عدم تقبل الغلوتين. بالمقابل، إن النشاطات النوعية للأنزيمان ثنائي البيتيداز المتبقيان تناقصت تناقصاً بليغاً في المرحلة (1،خ) (>0.05). ترتفع هذه النشاطات في مرحلة حذف الغلوتين (>0.05).

● إن نتائج الدراسة النسيجية تبين في المرحلة (1،خ): ضمور كلي للزغابات (6 مرضى)، شبه كلي (8 أفراد) وجزئي (فردان). في المرحلة (2،خ)، نلاحظ ضموراً كلياً للزغابات (فرد)، شبه كلي (6 أفراد)، جزئي (6 أفراد) ومعتدل (3 أفراد). في المرحلة (3،خ)، يبين علم الأنسجة ضموراً شبه كلياً للزغابات (فردان)، جزئي (4 أفراد)، معتدل (9 أفراد) ومخاط عادي للصائم (فرد).

● إن نتائج الدراسة القياسية الإناسية تبين عدم وجود فارق بليغ للوزن والقامة بين 1،خ و 2،خ. بالمقابل، ارتفعت النسبة الوزن/القامة ببلاغة في المرحلة 2،خ (>0.05). إن الفوارق هذه العوامل تصبح بليغة عندما تقارن 1،خ مع 3،خ (>0.05 ؛ >0.02 ؛ >0.01). مقارنة لمعطيات فردية معيارية للأفراد العاديين المنحزة من طرف سامي وبيدرون (1970)، نلاحظ أنه في المرحلة (1،خ)، 87,5% من الأفراد المرضى تظهر إصابة لمنحنى القامة والوزن. في المرحلة (2،خ)، تستقر إصابة المنحنى عند 75% من الحالات. في النهاية وفي المرحلة (3،خ)، تستقر إصابة المنحنى مرة أخرى عند 56,25% من الحالات.

في اختتام، إن مرض عدم تقبل الغلوتين لا يظهر أنه يؤثر ببلاغة على النشاط الأنزيمي لأنزيمات إمالة السكريات الثنائية. إن نشاط أنزيمات إمالة ثنائيات البيتيد ينخفض ببلاغة في المرحلة النشطة للمرض مقترحاً على الأرجح إصابة جزئية لسياقات الهضم الأنزيمي على مستوى الظهارة المعوية. على ضوء الدراسات النسيجية والقياسية الإناسية، يبدو أن درجة استرجاع الظهارة المعوية وسرعة النمو للوزن والقامة ترتبط حسب كل شخص، على الأرجح نسبة إلى تكوينه، وراثته وعوامل أخرى. لا توجد مدة معيارية لهذين العاملين فيما يخص مرحلة حذف الغلوتين.

كلمات المفتاح : مرض عدم تقبل الغلوتين، أنزيمات إمالة السكريات الثنائية، أنزيمات إمالة ثنائيات البيتيد، خزعة صائمية، قياس إناسي.

SOMMAIRE

Pages

INTRODUCTION GENERALE	1
RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	4
1. Digestion et absorption intestinale des protéines	4
1.1. Structure de l'épithélium intestinal.....	4
1.2. Aspects physiologiques et biochimiques.....	8
2. Historique de la maladie cœliaque	13
3. Diagnostic de la maladie cœliaque	13
3.1. Signes cliniques.....	14
3.2. Signes biologiques.....	14
3.3. Signes radiologiques.....	14
3.4. Données histologiques.....	15
4. Traitement	15
5. Evolution	15
6. Physicochimie du gluten	15
7. Etiopathogénie de la maladie cœliaque	16
7.1. Maladie cœliaque et facteurs génétiques.....	17
7.2. Maladie cœliaque et facteurs d'environnement.....	18
7.3. Maladie cœliaque et immunité.....	19
7.4. Maladie cœliaque et déficit enzymatique.....	21
MATERIELS ET METHODES	27
1. Population examinée	27
2. Description des sujets	27
2.1. Caractéristiques générales.....	27
2.2. Fréquence des principaux signes cliniques.....	29
2.3. Maladies associées.....	29
3. Prélèvement des fragments de muqueuse jéjunale (biopsies)	29
3.1. Technique de prélèvement et coloration.....	29
3.2. Chronologie des prélèvements des sujets MC.....	31
4. Régime et durée	31

5. Paramètres anthropométriques des sujets cœliaques.....	32
6. Techniques d'analyse.....	35
6.1. Dosage des protéines.....	35
6.1.1. Principe.....	35
6.1.2. Préparation des réactifs.....	35
6.1.3. Dosage spectrophotométrique.....	35
6.2. Dosages enzymatiques.....	37
6.2.1. Dosage des disaccharidases.....	37
6.2.1.1. Principe.....	37
6.2.1.2. Préparation de l'homogénat.....	37
6.2.1.3. Préparation des réactifs.....	37
6.2.1.4. Méthode de dosage.....	38
6.2.2. Dosage des dipeptidases.....	40
6.2.2.1. Principe.....	40
6.2.2.2. Préparation des réactifs.....	40
6.2.2.3. Méthode de dosage.....	41
7. Analyse statistique.....	42
RESULTATS.....	43
1. Etude histologique.....	43
1.1. Histologie des biopsies de sujets de référence.....	43
1.2. Histologie des biopsies de sujets cœliaques.....	43
2. Mesures anthropométriques.....	53
3. Analyses biochimiques.....	55
3.1. Teneur en protéines totales des biopsies jéjunales.....	55
3.2. Activité enzymatique des disaccharidases jéjunales.....	55
3.2.1. Lactase.....	55
3.2.2. Saccharase.....	55
3.2.3. Maltase.....	59
3.3. Activité enzymatique des dipeptidases jéjunales	59
3.3.1. L-glycyl-L-proline dipeptidase.....	59
3.3.2. L-alanyl-L-proline dipeptidase.....	59

3.3.3. L-isoleucyl-L-isoleucine dipeptidase.....	63
3.4. Quantification de l'état nutritionnel de la population examinée.....	63
DISCUSSION.....	67
1. Etude histologique.....	67
2. Etude anthropométrique.....	68
3. Etude biochimique.....	70
3.1. Quantité totale de protéines et MC.....	70.
3.2. Activité enzymatique des disaccharidases et MC.....	71.
3.3. Activité enzymatique des dipeptidases et MC.....	73
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	75
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	77
ANNEXE	
PARTICIPATION SCIENTIFIQUE	

ABREVIATIONS

- MC : Maladie ou malade cœliaque.
- ESPGAN : European Society for Paediatric Gastroenterology and Nutrition.
- B : Biopsie.
- C/V : Cryptes / villosités.
- G : Grossissement.
- P/T : Poids / taille.
- P.T : Protéines totales.
- SAB : Sérum albumine bovine.
- T.G.O : Tris-glucose-oxydase.
- U : Unité (1U = 1000u).
- A.T : Activité totale.
- A.S : Activité spécifique.
- g M.J : Gramme de muqueuses jéjunale.
- g P.T : Gramme de protéines totales.
- μM : Micromole.
- mM : Millimole.
- L-gly-L-pro : L-glycyl-L-proline.
- L-ala-L-pro : L-alanyl-L-proline.
- L-iso-L-iso : L-isoleucyl-L-isoleucine.

Liste des tableaux et figures

	Pages
1. <u>Liste des tableaux :</u>	
1. Les peptidases de l'entérocyte.....	10
2. Caractéristiques générales des malades cœliaques.....	28
3. Fréquence des signes cliniques des malades cœliaques à l'admission.....	30
4. Association de la MC avec d'autres maladies et ou / signes cliniques.....	30
5. Liste des aliments autorisés et interdits au sujet cœliaque.....	33
6. Variations du poids (en Kg) et de la taille (en cm) des sujets normaux de la quatrième année à 17 ans révolus selon le sexe.....	34
7. Grade histologique de la biopsie jéjunale chez les sujets examinés pour un retard staturo-pondéral et considérés comme un groupe de référence.....	44
8. Durée du régime sans gluten instauré chez les sujets cœliaques entre la phase active de la maladie (B ₁), la phase d'exclusion du gluten (B ₂) et la phase de guérison (B ₃).....	44
9. Paramètres anthropométriques mesurés à l'admission chez les sujets de référence (n=9) ainsi que chez les sujets cœliaques (n=16) en phase active de la maladie (B ₁), en phase d'exclusion du gluten (B ₂) et en phase de guérison (B ₃).....	54
10. Analyse des coefficients de corrélation entre les paramètres biochimiques étudiés (protéines totales, disaccharidases, dipeptidases) et le rapport poids/taille (P/T) chez les sujets cœliaques (n=16) en phase active de la maladie (B ₁), puis en phase de guérison (B ₃).....	65
11. Analyse des coefficients de corrélation entre les paramètres biochimiques étudiés (protéines totales, disaccharidases, dipeptidases) et le rapport poids/taille (P/T) chez les sujets de référence (n=9) à l'admission (B).....	66
2. <u>Liste des figures :</u>	
1. Détail de la paroi intestinale.....	5
2. Histologie de la muqueuse intestinale.....	7

3. Diagramme schématique d'une cellule épithéliale intestinale. En haut : vue d'ensemble de la cellule. En bas : détail de la jonction entre deux cellules.....	9
4. Différentes formes chimiques de bleu de coomassie.....	36
5. Structure moléculaire de bleu de coomassie.	36
6. Coupe histologique d'un fragment jéjunal obtenu par biopsie chez un sujet examiné pour un retard staturo-pondéral (sujet 3) (coloration à l'hémalum-éosine, G x 200)	45
7. Coupe histologique d'un fragment jéjunal obtenu par biopsie chez un sujet cœliaque examiné pour une diarrhée chronique, distension abdominale, vomissements et un retard staturo-pondéral (sujet 7) (coloration à l'hémalum-éosine, G x 200)	46
8. Coupe histologique d'un fragment jéjunal obtenu par biopsie chez un sujet cœliaque examiné pour une diarrhée chronique, distension abdominale et un retard staturo-pondéral (sujet 2) (coloration à l'hémalum-éosine, G x 200)	47
9. Coupe histologique d'un fragment jéjunal obtenu par biopsie chez un sujet cœliaque traité pendant 114 jours de régime sans gluten (sujet 7) (coloration à l'hémalum-éosine, G x 200)	48
10. Coupe histologique d'un fragment jéjunal obtenu par biopsie chez un sujet cœliaque traité pendant 419 jours de régime sans gluten (sujet 2) (coloration à l'hémalum-éosine, G x 100)	50
11. Coupe histologique d'un fragment jéjunal obtenu par biopsie chez un sujet cœliaque traité pendant 373 jours de régime sans gluten (sujet 7) (coloration à l'hémalum-éosine, G x 200)	51
12. Répartition des divers grades histologiques de la muqueuse jéjunale chez les sujets cœliaques en fonction des différentes phases.....	52
13. Teneur en protéines totales (P.T) mesurées sur des biopsies jéjunales de sujets cœliaques (n=16) en phase active de la maladie (B ₁), puis en phase de guérison (B ₃) comparées à celles des sujets témoins (B) (n=9)	56
14. Activité enzymatique de la lactase mesurée sur des biopsies jéjunales de sujets cœliaques (n=16) en phase active de la maladie (B ₁), puis en	

phase de guérison (B ₃) comparée à celles des sujets témoins (B) (n=9).....	57
15. Activité enzymatique de la saccharase mesurée sur des biopsies jéjunales de sujets cœliaques (n=16) en phase active de la maladie (B ₁), puis en phase de guérison (B ₃) comparée à celles des sujets témoins (B) (n=9).....	58
16. Activité enzymatique de la maltase mesurée sur des biopsies jéjunales de sujets cœliaques (n=16) en phase active de la maladie (B ₁), puis en phase de guérison (B ₃) comparée à celles des sujets témoins (B) (n=9).....	60
17. Activité enzymatique de la L-glycyl-L-proline (L-gly-L-pro) dipeptidase mesurée sur des biopsies jéjunales de sujets cœliaques (n=16) en phase active de la maladie (B ₁), puis en phase de guérison (B ₃) comparée à celles des sujets témoins (B) (n=9)	61
18. Activité enzymatique de la L-alanyl-L-proline (L-ala-L-pro) dipeptidase mesurée sur des biopsies jéjunales de sujets cœliaques (n=16) en phase active de la maladie (B ₁), puis en phase de guérison (B ₃) comparée à celles des sujets témoins (B) (n=9)	62
19. Activité enzymatique de la L-isoleucyl-L-isoleucine (L-iso-L-iso) dipeptidase mesurée sur des biopsies jéjunales de sujets cœliaques (n=16) en phase active de la maladie (B ₁), puis en phase de guérison (B ₃) comparée à celles des sujets témoins (B) (n=9).....	64



INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

La maladie cœliaque (MC) est une affection fréquente, responsable d'une entéropathie due à l'ingestion du gluten. Son étiologie n'est pas entièrement connue à l'heure actuelle (Roy et Morin, 1984 ; Rambaud et Bouhnik, 1992).

Elle a plusieurs synonymes: maladie cœliaque de l'enfant, sprue non tropicale et intolérance au gluten (Potet et al., 1974 ; Nelson et al., 1979). La maladie cœliaque de l'enfant est la même que celle de l'adulte. Elle apparaît le plus souvent au cours de la petite enfance et de l'enfance. Elle est à l'origine d'un peu plus d'un tiers des diarrhées chroniques et de ce fait, elle constitue un véritable problème de santé publique (Despres, 1980 ; Ferre et Courpotin, 1982).

L'incidence de la MC connaît une variation géographique considérable. A titre d'exemple, une grande étude multicentrique menée récemment à l'échelle de l'Europe sous l'égide de l'European Society for Paediatric Gastroenterology and Nutrition (ESPGAN) montre que son incidence varie de 3/1000 en Suède à 1/4000 au Portugal et en Hollande. Elle est évaluée à environ 1/300 en Angleterre et en Irlande, à 0,13 ‰ en Grèce, et serait d'environ 1/1000 en Italie et 1/2000 en Espagne. Curieusement alors qu'elle est très basse au Danemark (1/7000), l'incidence de la MC aurait diminué en Angleterre et en Irlande, alors qu'elle a augmentée considérablement en Suède ces dernières années, et serait stable en Finlande (1/1100) (Desjeux et Touhami,1994 ; Rawashdeh et al.,1996 ; Schmitz,1996). En France, l'incidence de la MC n'est connue que depuis peu, et seulement dans le Sud-Ouest et la Région Parisienne . Elle serait d'environ 1/3500 et touche 1 enfant sur 260 particulièrement au sein de la population maghrébine vivant à Paris. Elle est également fréquente chez les juifs d'origine maghrébine vivants en Israël : 1,75‰ (Rawashdeh et al.,1996).

En Afrique du Nord, l'incidence de cette affection serait aussi très fréquente : en Algérie, elle est de 1,64‰ naissances vivantes (soit 1 malade cœliaque pour 609 enfants), en Tunisie, elle concerne 1,2‰ naissances vivantes. Cependant, cette

dernière estimation est proche de celle retrouvée en Algérie, ce qui place ces deux pays du Maghreb et probablement le Maroc aussi parmi les pays à incidence moyennement élevée, aux alentours de 1‰ naissances vivantes (Desjeux et Touhami, 1994). La répartition selon le sexe est homogène (Khiati et al., 1991).

Les principaux signes cliniques de la maladie cœliaque peuvent apparaître à tout moment après l'introduction d'aliments contenant du gluten dans le régime alimentaire. Ils se manifestent par des troubles digestifs accompagnés par un ralentissement de la croissance et une chute de poids corporel; en l'absence d'un diagnostic et d'un traitement précoce, s'installent progressivement des signes de malnutrition (Courpotin et al., 1982 ; Nikolov et al., 1982 ; Navarro, 1991 ; Corazza et al., 1994 ; Akhmedova, 2002).

Le diagnostic positif d'intolérance au gluten repose sur divers arguments notamment:

- Des arguments cliniques,
- Des arguments biologiques incluant des signes de dénutrition et de malabsorption intestinale,
- Des arguments radiologiques révélant plus tard des anomalies osseuses et intestinales,
- Il semble cependant que l'un des meilleurs arguments du diagnostic positif d'intolérance au gluten repose sur un élément fondamental qui est la biopsie intestinale. Celle-ci révèle l'état structural de la muqueuse intestinale qui peut se traduire par une diminution de la taille des villosités, des altérations de l'épithélium entérocytaire avec un aspect de muqueuse plate par perte du relief villositaire (Bonnemaison et al., 1981 ; Girardet et al., 1982 ; Nikolov et al., 1982 ; Bramble et al., 1985).

Le déterminisme de la MC repose sur des arguments immunologiques, génétiques, enzymatiques et environnementaux (Hermier et Descos, 1989 ; Rambaud et Bouhnik, 1992).

Si de nombreuses données sur la MC sont disponibles sur les aspects immunologiques, génétiques et environnementaux, en revanche peu de données sont

colligées quant à l'hypothèse d'un déficit enzymatique, notamment un déficit en peptidases intestinales.

C'est donc pour cette raison que dans ce travail, nous nous sommes proposés de vérifier chez une population de sujets MC de la région de Sidi Bel-Abbès, l'existence d'une modification des activités enzymatiques de trois disaccharidases (lactase, saccharase, maltase) et de trois dipeptidases (L-glycyl-L-proline dipeptidase, L-alanyl- L-proline dipeptidase, L-isoleucyl-L-isoleucine dipeptidase).

Parallèlement à cela, nous effectuons une étude histologique dans le but de vérifier d'une part, le degré d'atteinte de la structure épithéliale de sujets cœliaques en phase active de la maladie et d'autre part, de s'assurer de la capacité de recouvrement de l'intégrité épithéliale après restriction au gluten.

Enfin, ce travail est complété par une étude anthropométrique dans le but d'apprécier l'état nutritionnel des sujets MC en phase active de la maladie puis en phase de guérison.

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

1. Digestion et absorption intestinale des protéines :

Pour exposer l'état actuel de la question, il est nécessaire de rappeler un certain nombre de faits physiologiques et biochimiques de base.

La digestion du bol alimentaire comporte deux phases distinctes:

- La dégradation des molécules complexes d'origine alimentaire en unités simples sous l'effet des sécrétions digestives,
- L'absorption par la muqueuse de ces unités simples.

Les deux phases se chevauchent largement aux divers étages de la muqueuse digestive où le foie et le pancréas avec leurs sécrétions vont jouer un rôle majeur. Cette dégradation-absorption s'étend tout le long du tube digestif, mais prédomine surtout au niveau du grêle où se fait 90% de l'absorption (Despres, 1980).

1.1. Structure de l'épithélium intestinal :

La paroi de l'intestin comporte quatre tuniques: une tunique péritonéale qui se poursuit dans le mésentère (séreuse), une tunique musculaire en deux couches: profonde circulaire et externe longitudinale, une sous-muqueuse et une muqueuse hérissée de plis permanents transversaux: les valvules conniventes qui sont elles même hérissées de villosités (figure 1) (Potet et al., 1974; Bernier, 1984).

Cette muqueuse intestinale est caractérisée par un aspect velouté normal, dû à l'existence de villosités très profondes tapissées par un épithélium simple et centrées par le chorion (Cabanne et al., 1982; Bernier, 1984).

Elle comprend trois parties distinctes : la muscularis mucosae, la lamina propria et la couche épithéliale.

- La muscularis mucosae est la plus profonde, c'est une couche fine continue de muscle lisse qui sépare la muqueuse de la sous-muqueuse.

- 1- Villosités
- 2- Muscularis mucosae
- 3- Sous-muqueuse
- 4- Couche musculaire circul.
- 5- Couche musculaire longit.
- 6- Séreuse
- 7- Valvule connivente

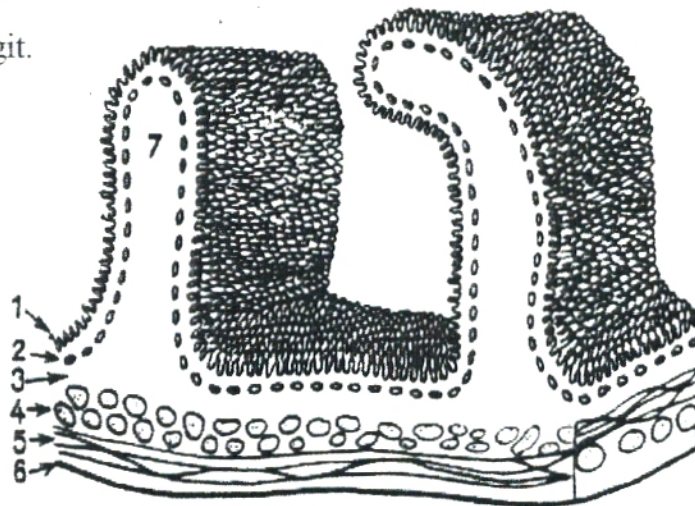


Figure 1 : Détail de la paroi intestinale (d'après Bernier, 1984).

- La lamina propria est une couche moyenne de la muqueuse. Elle représente un espace continu de tissu conjonctif, limité par l'épithélium en surface et par la muscularis mucosae en profondeur. Elle forme l'axe des villosités et entoure les cryptes.
- La troisième couche de la muqueuse intestinale est une couche continue de cellules épithéliales. Cette couche épithéliale qui est en contact avec le contenu de la lumière intestinale, représente l'unité tissulaire fonctionnelle qui permet les dernières phases de la dégradation et de l'absorption des nutriments. L'épithélium est séparé de la lamina propria sous-jacente par une fine membrane basale où des myofibroblastes sont apposés (Desjeux,1996).

A l'intérieur des villosités, on distingue des vaisseaux artériels, veineux et lymphatiques; ceux-ci aboutissent à un centre lymphatique qui descend dans la villosité.

Au dessous des villosités, cette muqueuse est composée des cryptes ou glandes de Lieberkühn qui s'enfoncent dans le chorion jusqu'à la musculaire muqueuse. Au fond des cryptes siègent à côté des cellules à image mitotique plusieurs types cellulaires : des cellules exocrines typiques notamment les cellules de paneth, des cellules endocrines de type argyrophile ou argentaffine, des glandes de Brünner, des cellules caliciformes, quelques rares cellules en forme de touffe et des cellules indifférenciées (Bernier,1984; Fontaine,1989).

L'épithélium recouvrant les villosités ou les «entérons» comprend : un nombre important de cellules absorbantes matures, appelées entérocytes; des cellules caliciformes qui sont dispersées au milieu des précédentes; quelques rares cellules en forme de touffe; parfois des cellules en forme de coupe et des cellules M recouvrant des follicules lymphoïdes isolés ou agrégés en plaques de Peyer (figure 2) (Bernier,1984; Desjeux,1996).

L'unité cellulaire de cet épithélium intestinal est représentée par l'entérocyte. Celui-ci porte un plateau strié extrêmement riche, portant un feutrage cotonneux, muni de cils constituant des microvillosités ou bordure en brosse et sur lesquelles s'insèrent des antennules ou filaments constitués d'un enchevêtrement de glycoprotéines et de glycolipides, appelés glycocalix ou fuzzy-coat. Ces entérocytes matures comportent 2 principaux types de membranes: la membrane microvillositaire apicale ou luminale

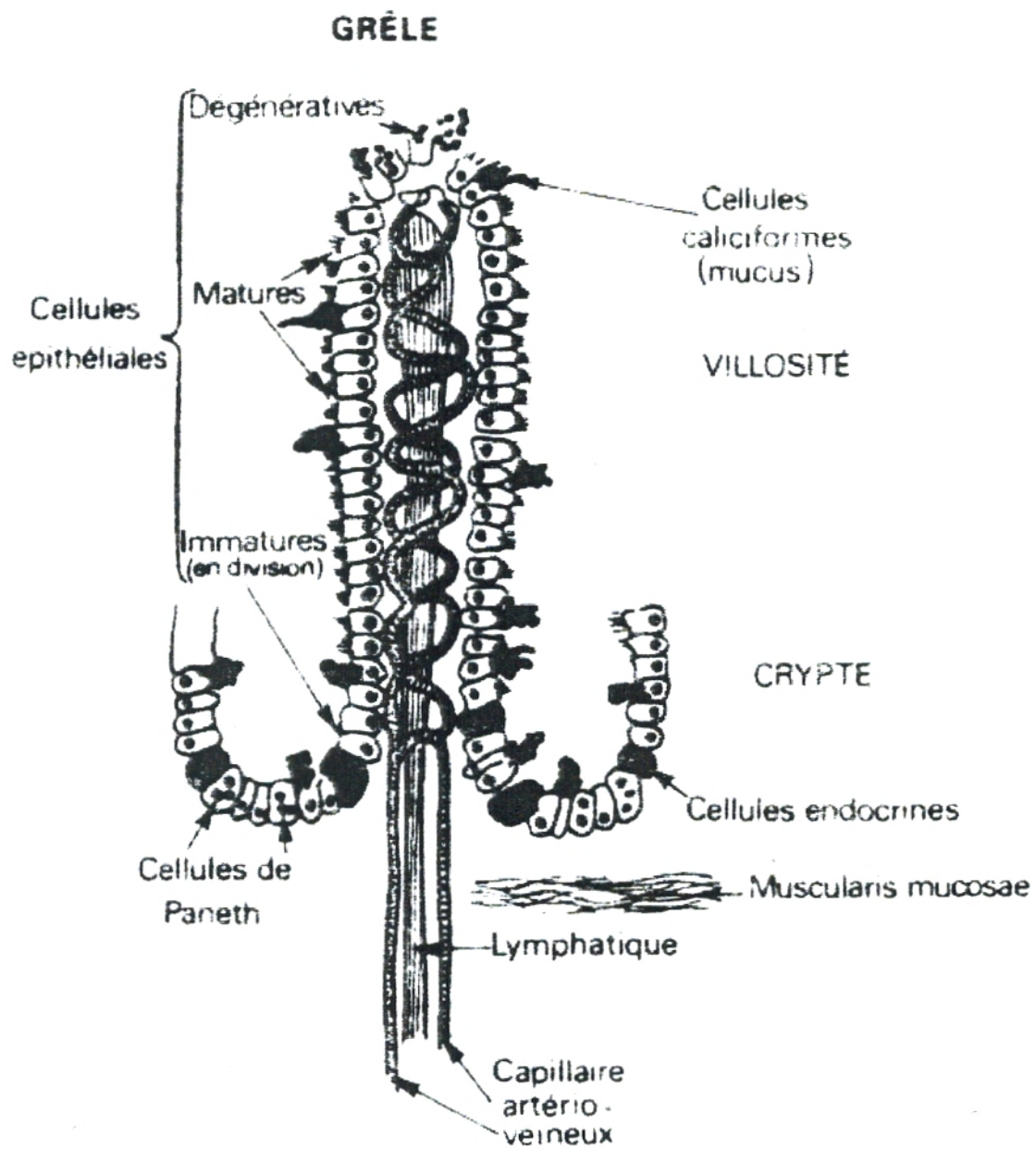


Figure 2 : Histologie de la muqueuse intestinale (d'après Bernier,1984).

constituant la bordure en brosse et la membrane basolatérale.

Entre deux groupes de cellules en brosse, apparaît un lumen se prolongeant entre les deux cellules où l'on peut distinguer des zones de jonction intercellulaire.

Les membranes latérales des deux entérocytes voisins forment successivement la Zonula occludens où les feuillettes externes des membranes cellulaires sont fusionnées, puis la Zonula adherens où s'insèrent les microfilaments du plateau terminal. Enfin, de nombreux desmosomes disséminés unissent les cellules les unes aux autres (figure 3) (Bernier,1984; Madara et Trier,1994; Desjeux,1996).

La bordure en brosse des cellules bordant la lumière intestinale, délimitée par une mince membrane irrégulière, contient ou porte à sa surface des enzymes importantes, spécifiquement synthétisées par l'entérocyte, et attachées au fuzzy-coat des microvillosités tout le long de l'intestin grêle. Il s'agit en particulier des disaccharidases et des peptidases (Nelson et al,1979; Hermier et Descos,1989).

1.2. Aspects physiologiques et biochimiques :

L'hydrolyse finale de très nombreux peptides présents en surface de l'entérocyte est assurée par l'action d'un très grand nombre de peptidases situées au niveau de la membrane luminale ou du cytosol entérocytaire (tableau 1).

On connaît cinq dipeptidases membranaires : la glutathione dipeptidase (Kozak et Tate,1982), la Gly-Leu membranaire et l'Asp-Lys peptidase stable au zinc (Tobey et al.,1985), une dipeptidase membranaire et l'Aps-Leu peptidase stable au zinc (Desjeux,1996) et deux dipeptidases cytosoliques : la Gly-Leu dipeptidase (Bernier,1983 ; Schmitz,1984) et la Gly-Gly dipeptidase (Bernier,1983). La L-leucine aminodipeptidase a été décelée également au niveau de la membrane luminale (Potet,1974 ; Bernier,1983). L'importance relative de ces enzymes dans l'hydrolyse des peptides est incertaine.

Au niveau du contenu luminale proche de la membrane luminale des cellules absorbantes de la muqueuse intestinale, le résultat est un mélange d'environ 30% d'acides aminés libres et de 70% d'oligopeptides de deux à six acides aminés (Desjeux,1996).

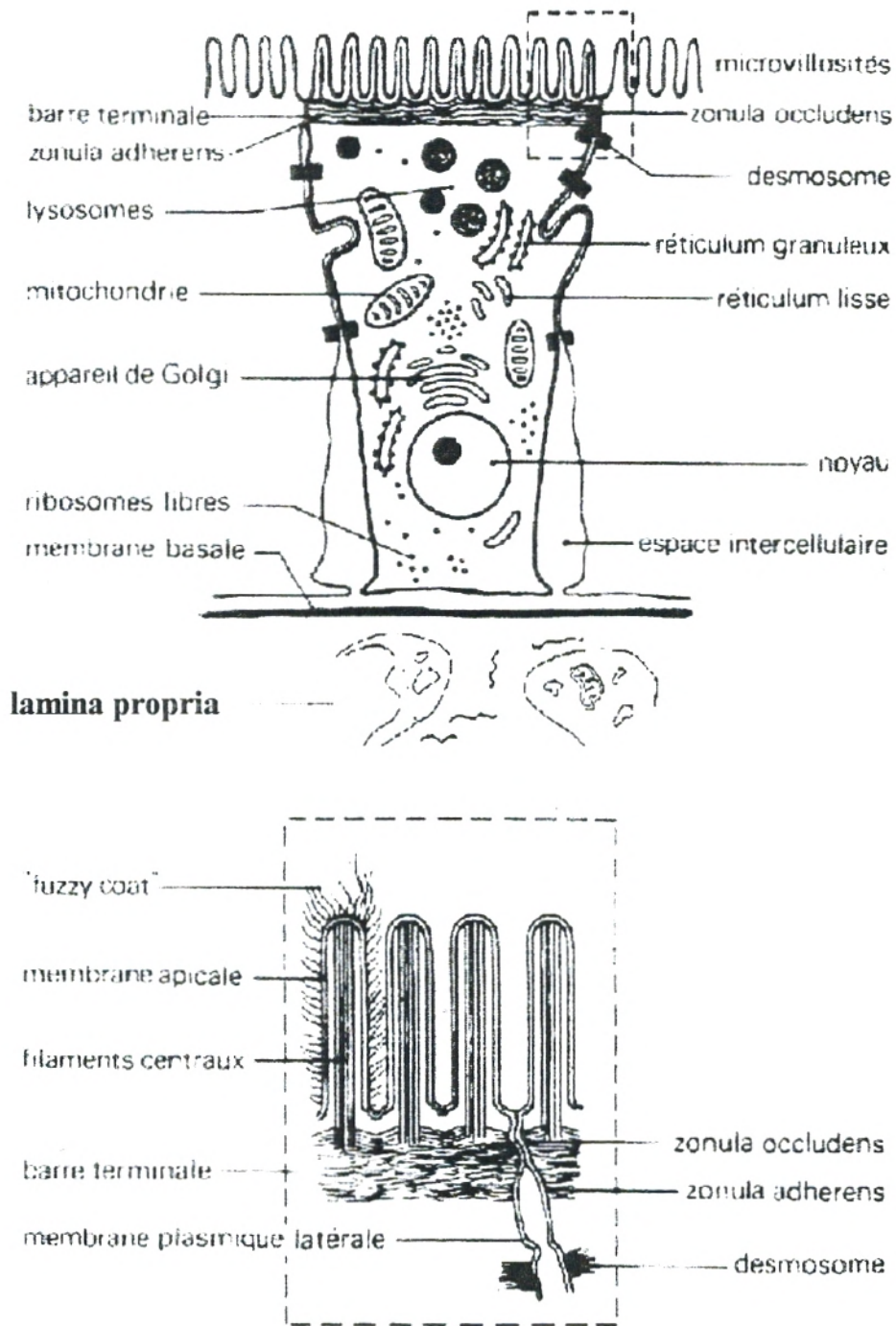


Figure 3 : Diagramme schématique d'une cellule épithéliale intestinale. En haut : vue d'ensemble de la cellule. En bas : détail de la jonction entre deux cellules (d'après Madara et Trier, 1994).

Tableau 1 : Les peptidases de l'entérocyte (d'après Desjeux, 1996).

I- Peptidases de la membrane lumaire		
Enzymes	Substrats	Produits
Endopeptidases Entéropeptidase ou entérokinase	Trypsinogène	Trypsine
Endopeptidase neutre	Acides aminés hydrophobes, par exemple : CCK-8 Substance P, somatostatine-14, neurotensine, gastrine-17, β-casomorphines	Peptides
Endopeptidase neutre (différente de la précédente)	α-caséine Insuline	Peptides
Aminopeptidases Aminopeptidase N E.C.3.4.11.2	Acides aminés neutres-X par exemple :bradykinine, enképhaline	Acides aminés neutres, di-et tripeptides
Aminopeptidase A E.C.3.4.11.7	Acide aspartique-X, glutamine -X par exemple : angiotensine	Acides aminés, acides di-et tripeptides
Aminopeptidase P E.C.3.4.11.9	X-proline, par exemple : bradykinine, substance P	Proline, di-et tripeptides
Aminopeptidase W	Liaison Glu-Trp	Acides aminés
Dipeptidyl-aminopeptidase IV E.C.3.4.14.5	Liaison Glu-Trp Proline-X ou alanine-X	Acides aminés Proline, dipeptide
L-leucine aminodipeptidase	Dipeptides comprenant la leucine	Acides aminés
Carboxypeptidases Dipeptidyl- Carboxypeptidase, ou peptidyl-Dipeptidase A ou enzyme de Conversion de l'angiotensine	-X-proline Angiotensinogène	Proline Angiotensine
Carboxypeptidase M	X-lysine ou X-arginine, par exemple : bradykinine	Acides aminés basiques
Glutamyl-transpeptidase	Liaisons-glutamyl	Peptides
Carboxypeptidase P	-X-proline	Proline
Folate conjugase E.C.3.4.12.10	Polyglutamyl folates	Acide ptérocyglutamique
Dipeptidases Glutathion dipeptidase, peptidase Gly-Leu membranaire, peptidase Asp-Leu stable au zinc, peptidase Asp-Lys stable au zinc, dipeptidase membranaire	Cystine-X du glutathion Glycine-leucine Aspartique-leucine Aspartique-lysine Glutathion conjugués	Acides aminés Acides aminés Acides aminés Acides aminés Acides aminés
II- peptidases intracellulaires		
Aminotripeptidase E.C.3.4.11.4	Tripeptides	Acides aminés dipeptides
Aminodipeptidase	Dipeptides	Acides aminés
Dipeptidases Gly-Leu Dipeptidase Gly-Gly Dipeptidase	Tous dipeptides sauf Gly-Gly, X-Pro, Pro-X Dipeptides comprenant deux glycocolles	Acides aminés Acides aminés
Prodipeptidase	X-proline	Acides aminés
Arginine sélective endoprotéinase	Présomatostatine	Somatostatine 28

X : peptides ; CCK : cholecystokinine

Par ailleurs, les diverses hydrolases principales de la bordure en brosse humaine impliquées dans l'hydrolyse des oligosaccharides sont de type: sucrase-isomaltase, maltase-glucoamylase, lactase-phlorizinhydrolase et tréhalase. Dans ce cas, il n'y a que trois sortes de liaisons à hydrolyser : α -1,4, α -1,6 et β -1,4. De ce fait, les trois α -glucosidases et une β -glucosidase suffisent pour hydrolyser les oligosaccharides du contenu luminal.

La mise en place, dans la membrane de la bordure en brosse de ces enzymes, est maintenant bien établie chez l'homme (Schmitz, 1984; Lentze, 1988; Desjeux, 1996).

Il est intéressant de noter que les phases finales de la digestion et de l'absorption intestinale des peptides sont elles, à la fois plus compliquées et plus subtilement intriquées que celle des oligosaccharides qui avaient, un temps, servi de modèle. Dans le cas des disaccharides, l'intégration des fonctions de digestion et d'absorption ne concerne que la bordure en brosse, en outre, dans le cas des protéines, elle implique aussi le cytoplasme de l'entérocyte. La complémentarité des différentes étapes est évidente pour la longueur des peptides, les peptidases de la bordure en brosse agissent sur les peptides luminaux de plus de trois acides aminés en les réduisant à des di-ou tripeptides, celles du cytoplasme sont probablement actives sur les di-ou tripeptides qui ont passé la membrane luminale en assurant la quasi-totalité de l'hydrolyse finale des dipeptides et environ la moitié de celle des tripeptides (Guyton, 1986; Desjeux, 1996).

Des résultats acquis permettent de conclure que l'absorption de quelques tripeptides est possible et qu'il n'existe pas d'absorption de tétrapeptides.

Par ailleurs, il a été démontré que l'absorption des peptides peut suivre deux voies majeures, dépendantes notamment du nombre et de la nature des résidus d'acides aminés :

- Les peptides sont d'abord hydrolysés par les peptidases membranaires et sont absorbés ensuite sous forme d'acides aminés par des mécanismes impliquant différents transporteurs.
- Les peptides peuvent d'emblée traverser la bordure en brosse, intacts, grâce à un système de transport qui leur est propre et être hydrolysés ensuite dans la cellule absorbante par des peptidases cytoplasmiques (Bernier, 1984).

Aujourd'hui, il est difficile de dire si tous les dipeptides possibles combinés avec les vingt acides aminés sont tous directement absorbables, mais il est probable que l'absorption des protéines s'effectue principalement sous forme de dipeptides (Bernier, 1983; Guyton, 1986).

Il est bien établi que des découvertes récentes viennent confirmer l'existence, à la surface de l'entérocyte, d'une digestion par les membranes qui suit la digestion par les enzymes pancréatiques adsorbées à la surface des fibres du glycocalix (Bernier, 1984).

Il faut noter que la plupart des produits terminaux de la digestion des hydrates de carbone ne sont donc absorbés que sous forme de monosaccharides. Seul un faible pourcentage l'est sous forme de disaccharides et pratiquement aucun sous forme d'hydrates de carbone de taille supérieure.

La digestion des oligosaccharides se répartit de la façon suivante: une digestion du lactose (100%) par la lactase; une digestion des chaînes 1-4 des oligosaccharides (98%) par la glucoamylase; une digestion des embranchements 1-6 des oligosaccharides et de l'isomaltose (100%) par l' α -dextrinase ou isomaltase; une digestion du saccharose (100%) par la sucrase; une digestion du maltose (25%) par la maltase, (25%) par la sucrase et (50%) par l'isomaltase.

Le transport des glucides à travers la membrane cellulaire vers l'organisme est régi par plusieurs mécanismes : diffusion simple et surtout processus actif nécessitant un apport énergétique, lié à la « pompe à sodium » (Bernier, 1984; Guyton, 1986).

Les produits finaux de la digestion des protéines alimentaires sont absorbés par les cellules de l'intestin grêle. Il s'agit d'acides aminés libres, une partie très importante de peptides pénètre aussi dans les cellules épithéliales absorbantes. Ces peptides sont hydrolysés par des enzymes membranaires ou intracellulaires.

Lorsque les aliments ont été correctement mastiqués et qu'ils ne sont pas ingérés en quantités excessives, (98%) environ des protéines sont finalement dégradées puis absorbées rapidement sous forme d'acides aminés. Il ne reste au total pour l'absorption que quelques molécules de protéines intactes, et quelques autres qui restent au stade de protéoses, peptones ou polypeptides de tailles variées, probablement grâce à la pinocytose qui n'est pas,

de loin, le processus habituel de l'absorption. La quantité absorbée est si faible qu'elle n'a aucune signification nutritionnelle.

L'absorption des acides aminés par la bordure en brosse des cellules de la muqueuse dépend d'un mécanisme de transport actif impliquant différents transporteurs, lié aussi au système énergétique de la « pompe à sodium », d'où l'existence d'une interaction entre l'absorption des acides aminés et des sucres. L'absorption de petits peptides est réalisée par des mécanismes distincts de transport sans concurrence avec les acides aminés libres (Guyton, 1986).

2. Historique de la maladie cœliaque :

Sous le nom de maladie cœliaque, Gee en 1883 puis Herter, en 1908, ont décrit un syndrome qui associe une diarrhée chronique et une dénutrition profonde (Perelman et al., 1979). Dicke, Weijers et Van De Kamer ont découvert, en 1953, le rôle toxique du gluten chez certains malades (Potet et al., 1974). Plus tard, l'atrophie villositaire est reconnue en 1957, par Sakula et Shiner sur une biopsie jéjunale (Hermier et Descos, 1989). Charlotte Andersen a mis en évidence, en 1960, les lésions histologiques caractéristiques de la muqueuse intestinale (Perelman et al., 1979 ; Attal et Perelman, 1977).

3. Diagnostic de la maladie cœliaque :

Quatre critères sont jugés suffisants pour retenir le diagnostic de la maladie cœliaque :

- La mise en évidence d'une malabsorption intestinale.
- Une muqueuse intestinale anormale.
- Une réponse clinique et biologique favorable à la suite du retrait du gluten de l'alimentation.
- Une réparation histologique de la muqueuse intestinale sous régime sans gluten (Nelson et al., 1979 ; Nikolov et al., 1982 ; Ferrier, 1984).

Au contraire, un seul critère, en l'occurrence la constatation d'une muqueuse intestinale normale, exclut formellement l'intolérance au gluten (Laplane et al., 1977 ; Nikolov et al., 1982).

3.1. Signes cliniques :

Ils associent une cassure de la courbe de poids puis de taille et des signes digestifs. Ces derniers se résument souvent à une diarrhée chronique qui peut alterner souvent avec des épisodes de constipation, des vomissements mais surtout anorexie, des troubles du caractère à type d'apathie et de tristesse et une pâleur du teint (aspect jamais carotinémiq). Enfin, si le diagnostic est retardé, il apparaît progressivement des signes de malnutrition : abdomen ballonné contrastant avec des membres grêles, hypotonie musculaire diffuse et des anomalies des cheveux et des ongles (Ferre et Courpotin, 1982 ; Courpotin et al.,1982 ; Nikolov et al., 1982) .

3.2. Signes biologiques :

Biologiquement, il existe des signes de dénutrition et de malabsorption intestinale : Les signes de dénutrition les plus fréquemment retrouvés sont : une anémie microcytaire ferriprive constante; généralement hypochrome hyposidérémique, une anémie macrocytaire et mégaloblastique qui est rare, une hypoprotidémie fréquente, une hypolipidémie associée à une hypocholestérolémie, une hypophosphatémie avec hypocalcémie et une hypocalciurie. Les signes de malabsorption se manifestent par une augmentation de la stéatorrhée avec diminution du coefficient d'absorption des graisses, une baisse de la xylosémie après charge orale en xylose et la baisse des taux de vitamines liposolubles sériques (vitamine A, D, E et carotène) et hydrosolubles. Il existe parfois également des troubles de l'hémostase témoignant d'une diminution de l'absorption de la vitamine K qui se traduit par une baisse de la prothrombinémie et de la proconvertinémie (Andersen et al., 1983 b; Khiati et al.,1991; Navarro, 1991 ; Patwari et al., 2003).

3.3. Signes radiologiques :

L'étude radiologique révèle plus tard au niveau des membres inférieurs ou de la main une ostéoporose, rarement un rachitisme avec des déformations parfois sévères et un retard de l'âge osseux correspondant au retard statural, une dilution et floculation de la baryte dans un liquide d'hypersécrétion; de plus, le transit baryté de l'intestin grêle montre une

distension des anses grêles et un épaississement des plis muqueux (Bret et Cuche, 1986 ; De Luca et al., 1988).

3.4. Données histologiques :

Les critères actuellement admis pour le diagnostic sont histologiques et comportent la constatation d'une atrophie villositaire sous régime contenant du gluten (Ferre et Courpotin, 1982; Fontaine, 1989 ; Nikolov et al., 1982).

4. Traitement :

Le traitement de la maladie cœliaque est essentiellement diététique. Il consiste en la suppression complète du gluten de l'alimentation qui reste la principale et unique arme thérapeutique (Dynski-klein, 1982 ; Ferrier, 1984).

5. Evolution :

Sous l'action du régime gluténoprive, nous assistons aux phénomènes suivants : une évolution clinique et biologique qui est habituellement rapide et favorable. Cependant, l'évolution histologique est très lente et c'est en fait, à un an de régime sans gluten, qu'il est raisonnable de s'assurer de la normalisation de la muqueuse (Despres, 1980; Bonnemaïson et al., 1981).

6. Physicochimie du gluten:

Des progrès notables ont été faits sur les principales caractéristiques physicochimiques du gluten et de ses constituants (Tatham et al., 1985 ; Popineau et al., 1985 ; Popineau et al., 1986 ; Sugiyama et al., 1986).

L'accent sera mis ici surtout sur des données récentes concernant l'identification de peptides toxiques purs qui sont rapportés ci-dessous:

Le gluten représente un ensemble de protéines entrant dans la composition de certaines céréales: grains de blé, d'orge, d'avoine et de seigle etc.... Toutes ne présentent pas le même degré de toxicité. Ainsi les céréales les plus toxiques sont le blé et le seigle, puis l'orge. La toxicité de l'avoine est moins certaine (Grenier et al., 1985; Popineau, 1988).

Le gluten renferme environ 80% de protéines, 15% d'amidon, 5% de lipides et de faibles quantités de fibres. Ces protéines sont essentiellement des gliadines et des gluténines. Elles sont associées entre elles par des liaisons covalentes et non-covalentes. Ce sont les gliadines qui sont les produits nocifs des céréales ci-dessus citées (extraits alcooliques du gluten) (Potet et al.,1974 ; Popineau,1988).

Des peptides plus toxiques purs, issus de l'hydrolyse enzymatique de ces gliadines totales ou de fractions de gliadines par les protéases digestives (pepsine et trypsine) sont mieux purifiés et caractérisés. Ces derniers ont des masses moléculaires comprises entre 4000 et 8000, sont très riches en glutamine et proline, et sont dépourvus de résidus basiques et soufrés. Ils comprennent donc au moins une partie du motif répétitif, et plus particulièrement la courte séquence d'acides aminés commune (térapeptide) suivante: proline-sérine-glutamine-glutamine ou sérine-proline-glutamine-glutamine (Popineau, 1988 ; Rambaud et Bouhnik,1992). Par ailleurs, une séquence particulière des peptides toxiques qui composent la gliadine tels que (Gln-Gln-Gln-Pro ou Pro-Ser-Gln-Gln) ou, avec une moindre fréquence, les protéines d'orge, de seigle ou d'avoine a été signalée par De Ritis et al., (1988). Ces peptides toxiques purs de ces gliadines sont impliqués dans le déclenchement des réactions peptidiques et pourraient être en cause.

En fait, des progrès notables ont été accomplis dans la détermination des fragments peptidiques toxiques de la gliadine, mais la séquence précise des acides aminés constitutifs et leur structure secondaire demeurent incomplètement connus.

Finalement, l'utilisation de ces séquences peptidiques dans les études d'étiologie et de pathogenèse devrait permettre de nouveaux progrès dans la connaissance de l'origine de la maladie et son traitement (Popineau,1988; Rambaud et Bouhnik,1992).

7. Etiopathogénie de la maladie cœliaque :

Jusqu'à nos jours, l'étiopathogénie de la maladie cœliaque n'a pas livré son mystère, elle demeure toujours au stade de la discussion. Plusieurs années de recherche pour détecter la cause moléculaire de cette maladie n'ont pas permis de remonter jusqu'à ses origines, mais elles ont fourni une bien meilleure compréhension de ce modèle biologique unique pour

mieux comprendre la complexité des interactions entre le patrimoine génétique, la réponse immunitaire individuelle, les facteurs environnementaux et le déficit enzymatique.

Ces quatre hypothèses plus ou moins probables tentent d'expliquer l'effet délétère sur la muqueuse intestinale du gluten dans la maladie cœliaque (Rambaud et Bouhnik, 1992; Greco et Ciccarelli, 1994).

7.1. Maladie cœliaque et facteurs génétiques :

La survenue fréquente de plusieurs cas de malades cœliaques dans une même famille avait indiqué, depuis de nombreuses années, le déterminisme génétique de la maladie. Il y a en effet un grand nombre de preuves que la réponse excessive envers la gliadine soit génétiquement déterminée (Mougenot, 1988; Greco et Ciccarelli, 1994).

Le taux élevé de concordance entre les jumeaux monozygotes (environ 70%) corrobore l'idée de la maladie cœliaque est une maladie génétique. Le taux de concordance d'environ 30% chez des frères et sœurs ayant un haplotype HLA identique indique de plus qu'une partie importante de la susceptibilité génétique de la maladie est liée au complexe HLA (Navarro, 1991; Schmitz, 1996).

Contrairement, des constatations récentes montrent qu'il n'existe aucune différence structurale dans les gènes HLA de classe II entre malades cœliaques et 25% de sujets sains non apparentés d'Europe du Nord, fait à rapprocher que les taux de discordance entre les jumeaux monozygotes (30%) et entre les membres de la fratrie HLA-identiques (70%) laisse penser cependant, que les molécules HLA ne sont pas à elles seules le facteur déterminant de la maladie et qu'il est donc probable que d'autres gènes, non liés à HLA, jouent aussi un rôle dans la pathogénie de la maladie (Rambaud et Bouhnik, 1992; Greco et Ciccarelli, 1994; Schmitz, 1996).

Sa fréquence dans les familles des malades est 10 à 100 fois supérieure à ce qu'elle est dans la population générale. Selon la majorité des études, elle est de 10% chez des parents de premier degré d'un malade reconnu, l'affection est 10 fois plus fréquente chez les sujets porteurs de certains déterminants antigéniques du système HLA de classe II (Hermier et Descos, 1989; Rambaud et Bouhnik, 1992; Schmitz, 1996).

Les gènes de la sensibilité au gluten sont situés dans la région D du complexe HLA sur le bras court du chromosome 6. Ce complexe comprend plusieurs groupes de gènes (de classe I : A, B, C ; II : DR, DQ, DP ; III : C₂, C₄, HSP 70, TNF_α et β). Beaucoup sont toutefois inconnus (Greco et Ciccarelli,1994; Schmitz,1996).

Il convient de souligner que le caractère familial de la maladie cœliaque est expliqué par la forte association avec certains marqueurs d'histocompatibilité du groupe II (HLA DR3 et DQW2) (Mougenot,1988; Navarro,1991; Desjeux et Touhami,1994). Ceci est confirmé par plusieurs publications qui ont rapporté que 2 gènes du complexe HLA, et non pas un, seraient ensemble responsables de la susceptibilité pour la maladie (Djilali-Saiah et al.,1994; Caillat-Zucman et al.,1995).

Ces molécules agissent en interaction avec la séquence peptidique de la gliadine, et créent des complexes qui sont reconnus par le récepteur de la cellule T. Mais, il a récemment été suggéré que la reconnaissance de l'antigène (le peptide de la gliadine) serait en fait limitée à un hétérodimère α/β particulier (HLA-DQ). Ainsi, seules les molécules présentatrices d'antigène HLA-DQ ayant cette structure pourraient interagir avec le peptide de la gliadine, et ainsi stimuler les lymphocytes T (Rambaud et Bouhnik,1992; Boudjema et al.,1994; Schmitz,1996).

7.2. Maladie cœliaque et facteurs d'environnement:

Il est important de noter que plusieurs faits restent sans explication génétique dans la maladie cœliaque.

En fait, la discordance observée chez des frères et sœurs génétiquement semblables ainsi que chez certains vrais jumeaux s'explique par des facteurs d'environnement qui ont eux aussi une part de responsabilité; parmi ces facteurs qui peuvent intervenir, nous citons la plus ou moins grande précocité d'introduction du gluten à un stade variable de maturité immunologique, ou des infections gastro-intestinales, susceptibles de modifier la perméabilité à la protéine nocive ou encore un allaitement au sein préalable (Hermier et Descos,1989; Rambaud et Bouhnik,1992).

Le type d'alimentation dans la petite enfance peut en fait être lié à la réponse de certains faits sans explication génétique, en particulier en raison du rôle que joue probablement l'exposition précoce au gluten dans l'absence de développement de la tolérance orale, et de l'importance du rôle du lait maternel sur l'immunité humorale et cellulaire (Greco et Ciccarelli, 1994).

Il ne fait pas de doute que, au niveau d'une population, la quantité et la qualité du gluten consommé par les nourrissons et les petits enfants relèvent aussi de l'épidémiologie de la maladie, mais dans chaque individu, ces facteurs de risque sont dépassés par le risque bien plus important qu'est l'absence de lait maternel (Desjeux et Touhami, 1994).

Enfin, le tableau clinique typique de maladie cœliaque a changé ces dernières années en raison de multiples facteurs, passant d'une symptomatologie exubérante bien caractérisée à des symptômes moins spécifiques et plus discrets (Schmitz, 1996).

7.3. Maladie cœliaque et immunité:

Depuis longtemps, plusieurs auteurs ont pensé que la toxicité de la gliadine était liée à une erreur innée du métabolisme. Cependant, Desjeux et al. (1977) pensent qu'il y a une anomalie de la réponse immunitaire au niveau de la muqueuse intestinale; celle-ci est vérifiée par des études sur cultures de muqueuse jéjunale in vitro qui suggèrent que la gliadine n'est pas toxique directement; elle doit d'abord modifier le système immunitaire du tissu avant que la toxicité ne se manifeste. Il est possible que la perméabilité anormale de la muqueuse au début laisse pénétrer la gliadine qui stimulerait la synthèse d'anticorps antigliadine et c'est le complexe gliadine-anticorps antigliadine qui serait toxique pour les cellules épithéliales.

Toutes les recherches actuelles tendent à donner une identité à la plus plausible hypothèse de cette maladie qui indique un désordre immunologique de la muqueuse intestinale qui est génétiquement anormale face à la gliadine et à ses produits de dégradation normaux, en faveur de laquelle s'inscrit toute une série de faits biologiques:

- Lymphocytes T sensibilisés à la gliadine dans le sang (stimulation lymphocytaire);
- Augmentation des plasmocytes à IgA, IgM et IgG dans la muqueuse intestinale;

- Taux anormalement élevés d'IgA et d'IgM dans les sécrétions intestinales;
- Fixation d'IgA sécrétoire antigliadine sur la membrane basale;
- Taux anormalement élevés d'IgA et d'IgG sériques antigliadine;
- Diminution du complément;
- Augmentation des auto-anticorps anti-réticuline;
- Augmentation des auto-anticorps anti-endomysium;
- Infiltration lymphoplasmocytaire du chorion...(Ferrier,1984; Hermier et Descos,1989; Navarro,1991 ; Oberhuber, 2000).

Kilander et al.(1983) montrent par la méthode (DIG-ELISA) que la détermination des anticorps antigliadine de type IgA et IgG est un test sérologique intéressant pour la détection du diagnostic de la maladie cœliaque et la sélection des patients qui devront subir une biopsie intestinale. Contrairement, en 1987 ; ces mêmes auteurs concluent que la méthode de détection de ces anticorps n'évite pas le recours à la biopsie intestinale. Des constatations semblables ont été signalées aussi par Olives et al.(1994).

Crabtree et al.(1989) montrent in vitro par la méthode (ELISA) chez 10 patients cœliaques non traités, des différences majeures dans la capacité de synthèse et de sécrétion des lymphocytes jéjunaux. Ces auteurs suggèrent que cette puissante sécrétion résulte des changements dans la fonction immunorégulatrice des cellules-T périphériques humaines.

Par ailleurs, il a été démontré que la détermination des anticorps anti-réticuline et anti-endomysium dont la positivité est très fortement corrélée à l'atrophie villositaire lors de la phase active de la maladie cœliaque. A l'inverse, aucun résultat positif n'a été observé au cours des atrophies villositaires non liées à une intolérance au gluten. Ces résultats confirment que la recherche de ces anticorps représente un test sérologique fiable pour le dépistage du diagnostic; en particulier dans les formes atypiques ou trompeuses, pour le suivi de la maladie cœliaque de l'adulte ainsi que pour établir l'indication de la biopsie intestinale. Cependant, l'absence de standardisation inter-laboratoire de ces tests sérologiques et le manque d'études multicentriques expliquent qu'à l'heure actuelle, la constatation d'une atrophie villositaire de la muqueuse intestinale représente en effet toujours le seul élément du diagnostic formel de la maladie cœliaque (Stenhammar et al.,

1984). Ces résultats font état des mêmes observations citées par beaucoup d'auteurs comme (Olives et al., 1994; Boige et al., 1996; Mascart-Lemone, 1996; Schmitz, 1996).

Ainsi Papadatou et al. (1993) montrent qu'il existe une plus grande spécificité des anticorps anti-endomysium dans le screening des patients MC à soumettre la biopsie, mais compte tenu de la possibilité d'obtenir de fausse négativité de ces anticorps, ils retiennent la nécessité d'effectuer les deux tests (anticorps antigliadine de type IgA et anticorps anti-endomysium) pour identifier les patients MC à soumettre la biopsie intestinale.

Enfin, plus récemment la possibilité d'anomalies membranaires a été avancée. La réalité d'une réponse immunitaire principalement à médiation cellulaire dans la MC est attestée par de nombreux faits :

- Présentation de l'antigène aux lymphocytes T amplificateurs CD4 de la lamina propria de l'intestin par les molécules du complexe HLA de classe II.
- Réalisation d'un contact antigénique avec la séquence peptidique de la gliadine.
- Formation d'un complexe dans l'entérocyte, activation du complément et interaction avec le récepteur des lymphocytes T principalement de type γ/δ .
- Stimulation des cellules mononucléées de la lamina propria avec sécrétion et libération des cytokines (en particulier l'interféron γ et le TNF_{α}).
- Constitution des lésions histologiques suite aux actions complexes des cytokines et des lymphocytes intra-épithéliaux (atrophie villositaire et hyperplasie des glandes de Lieberkühn).

L'observation de ces faits démontre que les altérations de la perméabilité intestinale apparaissent plus comme une anomalie primitive que comme une conséquence de l'atrophie villositaire (Khiati et al., 1991; Rambaud et Bouhnik, 1992; Greco et Ciccarelli, 1994; Schmitz, 1996).

7.4. Maladie cœliaque et déficit enzymatique :

En réalité, cette hypothèse semble importante et suggère un déficit enzymatique (en peptidase) spécifique intra-luminal ou entérocytaire amenant une dégradation incomplète du

gluten, et l'accumulation de peptide(s) toxique(s) pour la muqueuse intestinale. Il en est de même que le contenu de la muqueuse intestinale en disaccharidases est éffondré.

A notre connaissance, il semble qu'il n'y a pratiquement pas de travaux consacrés à l'étude des activités enzymatiques des disaccharidases et des peptidases membranaires chez le sujet cœliaque avant et après restriction au gluten.

En revanche, des investigations entreprises sur la distribution des activités des peptidases membranaires tout au long de l'intestin grêle, laquelle a été l'objet jusqu'à présent d'un nombre relativement restreint d'études chez des sujets sains et chez des animaux.

En 1960, Robinson et Schaw constatent chez le rat, que l'activité enzymatique des 3 dipeptidases correspondant aux dipeptides utilisés (la Gly-Leu, la Gly-Gly, la Gly-Ala) n'est pas différente entre le duodénum et le jéjunum d'une part et entre le jéjunum et l'iléon d'autre part. Par contre, la différence est significative entre le duodénum et l'iléon.

Josefsson et Lindberg (1965), montrent que le maximum d'activité se situe également au niveau du jéjunum et la partie proximale de l'iléon du cochon. Ces auteurs ont étudié les hydrolases enzymatiques des substrats suivants : la L-Ala-L-Glu acide, la Gly-Gly, la Gly-L-Leu et la Gly-L-Val. En 1966, ces mêmes auteurs montrent que les activités des 4 dipeptidases sus-citées sont élevées tout au long de l'intestin grêle du rat avec un maximum localisé dans sa partie médiane.

Das et Radhakrishnan (1974) notent un maximum d'activité de la glycine-L-leucine dipeptidase chez quatre espèces animales dont le rat, dans les régions proximale et médiane de l'intestin et Krishna (1979) dans diverses autres parties.

De plus, Oleinik (1995) rapporte que la distribution de la glycine-L-leucine dipeptidase est similaire chez certaines espèces animales et en particulier le rat ; elle serait similaire tout le long de l'intestin.

Ainsi , dans le but de déterminer les profils d'activité de 5 peptidases et 3 disaccharidases membranaires de la muqueuse duodénale et jéjunale chez des patients ayant une MC non traitée. Mercer et al. (1990) démontrent que la suppression de l'activité corrélée à

l'histologie avec les enzymes sus-citées étaient spécifiquement supprimées et diagnostiquement utiles dans la MC non traitée.

Parallèlement, à cela peut s'ajouter d'autres études qui concernent l'influence de certains glucides et protéines alimentaires sur les activités des peptidases membranaires.

Parmi ces travaux, on note ceux de Mc. Cance et al. (1970) qui concluent que la carence protéique entraîne une diminution de la synthèse des peptidases en présence d'un épithélium intestinal. Inversement, durant une privation protéique, la vitesse d'hydrolyse des protéines intracellulaires dans les cellules de la muqueuse intestinale est augmentée avec une distribution d'acides aminés à d'autres organes plus vitaux (Kim et al., 1973).

D'autres auteurs comme Raul et al. (1974) indiquent que la réalimentation en saccharose entraîne une baisse significative de l'activité de l'aminopeptidase dans les membranes de la bordure en brosse de la totalité des cellules de la muqueuse intestinale chez des rats wistar. Cependant, Nicholson et al. (1974), Kimura et al. (1978) pensent qu'un régime riche en protéines provoque l'augmentation de l'activité des peptidases et en particulier de l'aminopeptidase sans modifier les activités glycolytiques.

Nicholson et al. (1974), notent une augmentation de 1,5 à 2 fois de l'activité aminopeptidasique dans le jéjunum proximal à l'issue d'une semaine d'alimentation avec un régime à 55% de protéines comparé à un régime hyperglucidique à 10% de protéines.

Ainsi, chez des rats sans jeûne préliminaire, une augmentation d'environ 2 fois de l'activité de l'aminopeptidase est observée au niveau de l'intestin grêle entier après l'ingestion, cinq jours durant un régime hyperprotéique (76 à 91% de protéines) avec ou sans glucides (Saito et Suda., 1975).

D'autres résultats indiquent qu'aucune modification de l'activité spécifique de la leucine-aminopeptidase membranaire n'est observée après 5 jours d'alimentations avec un régime à 5% de caséine mais riche en glucides (86%) par rapport à un régime normal (20% de caséine) (Saito et Suda, 1975).

La stimulation par un régime hyperprotéique de l'activité peptidasique membranaire, mesurée sur d'autres substrats peptidiques (Leu-Ala, Gly-Phe, Phe) dans des bordures en brosses purifiées, est similaire (Mc Carthy et al., 1977).

En 1979, Bleich et al. trouvent que les activités des peptidases jéjunales diminuent significativement au niveau de la bordure en brosse chez des rats soumis au jeûne. Au contraire, en réponse à un régime riche en protéines, les activités de ces enzymes sont élevées au niveau de la bordure en brosse ; il en est de même au niveau du cytosol entérocytaire mais de façon significative.

Inversement, l'activité peptidasique membranaire est augmentée chez des animaux nourris avec un régime contenant 55% de caséine et que cette augmentation est plus marquée que l'activité peptidasique cytoplasmique (Marvin et al., 1979).

Tobey et al. (1986), montrent chez 43 sujets des deux sexes ayant une muqueuse jéjunale normale, qu'il n'existe aucune différence pour les activités des 4 peptidases membranaires. Seule, l'activité enzymatique de l'aminopeptidase A change significativement avec l'âge. Par contre, chez les 32 autres sujets ayant une muqueuse atrophiée, les activités des 4 peptidases et des 3 disaccharidases membranaires sont significativement diminuées. Ces auteurs ont étudié 4 peptidases (Aminopeptidase A, Aminopeptidase N, glycyl leucine peptidase et Zn^{2+} -stable aspartyl lysine peptidase) et 3 disaccharidases (lactase, saccharase, maltase).

De plus, Popov (1995) a montré dans son étude que le lavage répété de l'intestin avec une solution de Ringer réduit l'activité de la maltase alors que celle de la glycine-L-glycine dipeptidase ne varie pas.

Par ailleurs, d'autres études ont été faites aussi sur l'étude des disaccharidases membranaires chez des sujets sains et chez des animaux.

Parmi ces travaux, on note ceux de Mc. Cance et al. (1970) qui indiquent que la carence protéique entraîne une diminution de la synthèse des disaccharidases en présence d'un épithélium intestinal dont toutes les activités disaccharolytiques sont perturbées mais avec une intensité inégale.

Rastogi et al. (1974), montrent que l'insuffisance ou l'épuisement alimentaire en protéines diminue l'activité de la lactase tandis que les activités de la maltase et de la sucrase ne sont pas affectées.

D'après ces constatations, la teneur du régime en protéines joue aussi un rôle important.

Rosensweig (1972) montre chez des militaires volontaires en bonne santé, soumis durant 10 à 14 jours à des régimes dépourvus ou riches en hydrates de carbone, que l'activité lactasique ne change pas malgré des régimes différents : une alimentation riche en lactose ou en lait n'augmente pas l'activité de la lactase et un régime sans lactose ne diminue pas cette activité, alors que l'augmentation des activités de la maltase et de la saccharase est déjà observable après 2 à 5 jours avec des régimes riches en maltose et en saccharose.

Il met ainsi en évidence l'adaptation des disaccharidases à la teneur du régime en certains glucides.

Adams et al. (1973) concluent que les proportions élevées en glucides dans le régime est le seul facteur responsable de l'augmentation des activités des disaccharidases intestinales.

Ces résultats sont confirmés par Jonhson en 1980, qui montre ainsi que les activités des disaccharidases intestinales sont dépendantes non seulement de la quantité en glucides mais aussi de la qualité des protéines du régime. A titre d'exemple, des protéines de valeur biologique faible comme le gluten ou meilleure comme la caséine ou la lactalbumine.

D'autres études réalisées par (Nicholson et al. 1973 ; Itzkowitz et al. 1975 ; Kimura et al. 1978 ; Raul et al. 1980 ; Noirot et al. 1981) indiquent que les activités des disaccharidases sont plus élevées avec un régime riche en hydrates de carbone et plus basses avec un régime sans hydrates de carbone et plus basses encore lors du jeûne.

Ils concluent que les divers glucides alimentaires agissent sur le niveau des activités des disaccharidases. La synthèse et la sécrétion de ces enzymes peuvent se modifier en fonction des teneurs du régime en glucides.

Blum et al. (1979) concluent que l'induction des disaccharidases par les glucides du régime n'est pas très spécifique. Par exemple, le saccharose induit l'augmentation du niveau de toutes les disaccharidases et pas seulement de la saccharase.

Saito et al. (1980) concluent qu'il existe un rythme circadien endogène de synthèse des disaccharidases qui ne dépend pas de la quantité de glucides présente dans la lumière intestinale.

Maroux et al. (1981), concluent que les disaccharidases, pour une espèce donnée, apparaissent au cours de la vie suivant une chronologie précise. Chez le rat par exemple, la

sucrase-isomaltase et la maltase gluco-amylase sont absentes à la naissance, elles apparaissent au moment du sevrage, puis leurs activités augmentent rapidement. A l'inverse, la lactase est présente à un taux maximum à la naissance, mais elle disparaît rapidement après le sevrage.

Parallèlement, à cela peut s'ajouter d'autres études comme celle de Murray et al. (2001) qui indiquent qu'au moins 11 % des malades examinés avec un déficit généralisé en disaccharidases intestinales sans atrophie villositaire développent la MC. Des biopsies entéroscopiques du duodénum distal et du jéjunum proximal doivent être considérées comme une investigation la plus proche si les anticorps anti-endomysium et antigliadines sont positifs.

MATERIELS ET METHODES

MATERIELS ET METHODES

1. Population examinée :

Cette étude est réalisée en collaboration entre le service de Pédiatrie du C.H-U de Sidi Bel-Abbès (Dr N.ABOUBEKER) et le laboratoire de Physiologie Animale et de la Nutrition (Faculté des Sciences, Département de Biologie. Université d'Oran).

Deux groupes de sujets des deux sexes sont constitués à partir des critères objectifs d'inclusion et d'exclusion définis dans notre protocole :

- Un groupe MC formé de 16 sujets, d'âge compris entre 5 et 13 ans ($08,43 \pm 0,49$ ans ; $X \pm SE$) diagnostiqués à leur admission dans le service de Pédiatrie du C.H-U de Sidi Bel-Abbès.
- Un groupe témoin formé de 09 sujets, âgés de 4 à 17 ans ($10,55 \pm 1,47$ ans), hospitalisés pour des motifs autres que la maladie cœliaque et devant subir une biopsie présentent une muqueuse jéjunale d'aspect strictement normal.

2. Description des sujets :

2.1. Caractéristiques générales :

Les caractéristiques générales retrouvées chez nos malades sont rapportées dans le tableau 1:

La durée moyenne de l'allaitement au sein est de 8,39 mois. 62,5% des sujets MC sont allaités au sein au delà de 6 mois.

L'âge moyen d'introduction du gluten est de 5,37 mois. L'introduction précoce du gluten (2^{ème} mois) n'est observée que dans 6,25% des cas, mais 93,75% ont reçu des farines dans leurs régimes à partir de l'âge de 4 mois. L'âge moyen du début des troubles digestifs est de 22,31 mois. Il varie de 4 mois à 4 ans. L'âge moyen au moment du diagnostic est de 64,87 mois; 18,75% des cas sont diagnostiqués à 3 ans, 43,75% au delà de 6 ans et 37,5% entre 3 et 6 ans.

Tableau 1: Caractéristiques générales des malades cœliaques (n=16).

Nom	Sexe	Durée allaitement Maternel (mois)	Age introduction du gluten (mois)	Age début des symptômes (mois)	Age diagnostic (mois)
D . Z .	F	3	4	5	48
B . F .	F	9	8	24	60
B . M .	M	24	4	6	96
E . H .	F	4	5	48	54
B . N .	F	0,25	5	24	84
Z . N .	M	12	5	6	36
T . S .	F	0,25	4	12	48
M . N .	F	12	4	36	72
B . H .	F	12	4	6	114
B . S .	F	12	6	48	72
A . Z .	F	12	8	12	36
Z . M .	F	12	8	36	48
I . H .	F	6	6	36	102
B . K .	F	12	7	18	72
M . N .	F	3	2	4	36
R . A .	M	0,75	6	36	60
$\bar{X} \pm S.E$		08,39 \pm 1,59	05,37 \pm 0,41	22,31 \pm 3,94	64,87 \pm 6,05

\bar{X} : Moyenne; S.E : Erreur standard; n : Nombre de sujets.

2.2. Fréquence des principaux signes cliniques :

Le tableau 2 résume la fréquence des principaux signes cliniques des sujets MC à l'admission :

La présentation clinique de la MC est dominée par des troubles de l'humeur révélés chez 100% des cas. La distension abdominale et le retard staturo-pondéral occupent la deuxième place (87,5% des cas). 81,25% des malades présentent au moment du diagnostic une anorexie et une pâleur. La diarrhée chronique est retrouvée dans 62,5% de l'ensemble des cas. Le retard pubertaire n'est que dans 6,25% des cas.

Les signes biologiques sont dominés par l'anémie microcytaire fériprive (81,25%). Quant aux signes radiologiques, le retard de l'âge osseux s'observe chez 31,25% des cas.

2.3. Maladies associées :

L'association de la MC avec d'autres pathologies et / ou signes cliniques est résumée sur le tableau 3:

Parmi les maladies qui sont retrouvées en association avec la MC, nous notons que 31,25% des cas ont une parasitose. L'Acrodermatitis entéropatica est retrouvée dans 6,25% de l'ensemble des cas.

Enfin, des formes familiales, avec au moins 1 membre atteint de MC, sont notées chez 4 sujets.

3. Prélèvement des fragments de muqueuse jéjunale (biopsies) :

3.1. Technique de prélèvement et coloration :

Après accord des parents de tous les sujets et dans un but diagnostique, une biopsie jéjunale est réalisée à l'aide d'un modèle pédiatrique de la pince à biopsie par voie endoscopique (Meijer et al., 2003). Cette biopsie est divisée en deux parties :

➤ Un fragment destiné à l'étude histologique est fixé au Bouin aqueux puis inclus dans la paraffine. Des coupes longitudinales de 3 à 5µm sont faites au microtome, déparaffinées et colorées à l'hémalun-éosine (Chevreau et al., 1977 ; René, 1984 ; Drut et Rua, 2001). Selon leur aspect, ces coupes sont classées en cinq grades conformément à la classification de Matuchansky et al.,(1970) , Marche et

Tableau 2: Fréquence des signes cliniques des malades cœliaques à l'admission (n=16).

Symptômes	Pourcentage (%)
Diarrhée	62,5
Distension abdominale	87,5
Vomissements	18,75
Anorexie	81,25
Pâleur	81,25
Oedèmes	43,75
Troubles du comportement	100
Retard staturo-pondéral	87,5
Retard pubertaire	06,25

n : Nombre de sujets.

Tableau 3: Association de la MC avec d'autres maladies et / ou signes cliniques (n =16).

Maladies ou signes associés	Pourcentage (%)
Parasitose	31,25
Acrodermatitis entéropatica	06,25

n : Nombre de sujets.

al.,(1972) et de Oberhuber (2000) : normale, Atrophie modérée, partielle, subtotale et totale. Le principe de cette classification, réalisée après observation en microscopie optique, repose sur une estimation des hauteurs respectives des villosités, de la couche des cryptes, du rapport entre cryptes et villosités (C/V) et sur le nombre des entérocytes absorbants par rapport à celui des cellules caliciformes mucosécrétantes (Potet et al., 1974 ; Fontaine, 1989 ; Oberhuber, 2000).

➤ L'autre fragment est destiné à l'étude biochimique. Il est immédiatement mis dans un tube à hémolyse contenant 1 ml de sérum physiologique, pesé et stocké au congélateur à une température de -30°C en vue des dosages ultérieurs. Sont dosées les protéines totales par la technique de Bradford, (1976), les disaccharidases (lactase, saccharase, maltase) par la technique de Dahlquist,(1970) et les dipeptidases (L-glycyl-L-proline dipeptidase, L-alanyl-L-proline dipeptidase et L-isoleucyl-L-isoleucine dipeptidase) par la technique de Doi et al., (1981).

3.2. Chronologie des prélèvements des sujets MC :

Les biopsies sont effectuées à différents stades :

- En phase active de la maladie (B_1),
- En phase d'exclusion du gluten (B_2) c'est à dire, après $111,00 \pm 7,81$ jours/ B_1 ,
- En phase de guérison (B_3), après $261,00 \pm 10,62$ jours/ B_2 .

4. Régime et durée :

Après réalisation de la première biopsie jéjunale (B_1) chez les sujets MC, un traitement essentiellement diététique est institué chez ce groupe jusqu'à une date de guérison définitive.

Le principe de ce traitement repose sur l'exclusion totale de tous les aliments contenant du gluten ainsi que des produits d'origine industrielle qui sont susceptibles de renfermer des petites quantités de gluten sous forme masquées.

La durée d'exclusion des protéines des céréales de l'alimentation des intolérants au gluten est de $372,00 \pm 7,01$ jours.

Pendant toute la durée de l'expérimentation, le suivi du traitement est assuré intégralement pour les sujets cœliaques par la même équipe du service Pédiatrique du CHU de Sidi Bel-Abbès. Pour ces mêmes sujets, une liste des aliments autorisés et

interdits est rapportée dans le tableau 4 (Ferrier, 1984 ; Grenier et al., 1985).

5. Paramètres anthropométriques des sujets cœliaques:

Les paramètres anthropométriques choisis pour apprécier l'état nutritionnel du malade sont: le poids et la taille. Ces indices nutritionnels sont recueillis chez l'ensemble de la population examinée, c'est à dire chez les 16 sujets cœliaques ainsi que chez 9 sujets formant le groupe témoin.

Ces paramètres, en particulier le rapport du poids pour la taille: P/T permettent de rechercher l'existence de différentes corrélations avec les paramètres biochimiques étudiés (protéines totales, disaccharidases, dipeptidases).

Ces mesures anthropométriques des malades cœliaques sont effectuées à différents stades: en phase active de la maladie (B₁), en phase d'exclusion du gluten (B₂) et en phase de guérison (B₃). Elles sont comparées à des données standards établies par Sempé et Pédrón (1970, tableau 5).

Tableau 4 : Liste des aliments autorisés et interdits au sujet cœliaque

(d'après Ferrier, 1984 ; Grenier et al., 1985).

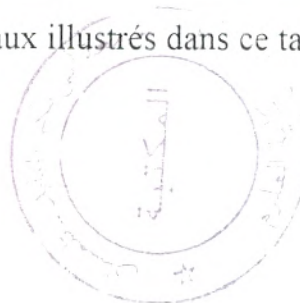
ALIMENTS	AUTORISES	INTERDITS
Laits et Produits laitiers	<ul style="list-style-type: none"> - Tous les fromages: Blancs, fondus, fermentés, à moisissures, gruyère, etc... - Lait: ordinaire, entier, écrémé, liquide, en poudre, concentré, frais, pasteurisé, gélifié, stérilisé. - Desserts frais lactés: yaourts et petits suisses. 	<ul style="list-style-type: none"> - Crèmes de fromage à tartiner.
Viandes Poissons Oeufs	<ul style="list-style-type: none"> - Oeufs : jaune et Blanc. - Toutes les viandes fraîches, surgelées et cuisinées, au naturel, conserves au naturel. - Tous les poissons frais, fumés, salés, surgelés non panés, non cuisinés, au naturel en conserve (ex: à l'huile, etc...). 	<ul style="list-style-type: none"> - Toutes conserves de viande: viande panée, en croûte, la chair à saucisse. - Toutes conserves de poissons: sardines à l'huile, thon au naturel sans sauce, anchois, beurre de poisson. - Poisson pané et fariné, plats de poissons cuisinés et surgelés.
Matières Grasses	<ul style="list-style-type: none"> - Toutes: huiles, beurre, margarine, végétaline, crème fraîche. 	
Légumes	<ul style="list-style-type: none"> - Légumes verts et secs: frais, surgelés et cuisinés au naturel, conserves au naturel. - Potage, bouillon et soupe de légumes. 	<ul style="list-style-type: none"> - Préparations industrielles à base de pomme de terre (ragoût, gratin, etc...). - Toutes conserves de légumes verts et secs.
Céréales	<ul style="list-style-type: none"> - Soja, riz, maïs et leurs dérivés. 	<ul style="list-style-type: none"> - Blé, orge, avoine, seigle et leurs dérivés sous forme de farine, semoule, flocons, pâtes, raviolis, vermicelle, couscous, etc... - Tous les pains. - Biscottes, biscuits, brioches, gâteaux secs salés et sucrés, pâtisserie du commerce, desserts à base de farine, produits cacaotés.
Fruits	<ul style="list-style-type: none"> - Fruits: frais, secs, au sirop, conserve au naturel, mixés, crus ou cuits. - Fruits exotiques: frais, en boîte, en poudre, au sirop, secs, jus de fruits. - Fruits oléagineux: noix, noisettes, amandes, olives, cacahuètes, etc.... - Extraits et essences de fruits. 	<ul style="list-style-type: none"> - Figs sèches en vrac. - Compotes de fruits en conserve.
Sucres et produits Sucrés	<ul style="list-style-type: none"> - Sucre: ordinaire, glace, vanillé, gelé. - Miel, confiture du miel, caramel liquide. - Chocolat en poudre, levure alsacienne. - Crèmes glacées sans pâtisserie, préparations industrielles en poudre pour desserts lactés (crème, flan, entremet, etc...). 	<ul style="list-style-type: none"> - Toute la confiserie: bonbons, sucettes, nougats, dragées, caramels, chewing-gum, pâtes de fruits et d'amandes. - Toutes les chocolats fourrés sauf celui qui est autorisé. - Glaces du commerce, crèmes et entremets à base de farine.
Boissons	<ul style="list-style-type: none"> - Eau du robinet, toutes les eaux embouteillées. - Sirops et concentrés de fruits, jus de fruits passés et frais (sauf jus d'agrumes). - Thé léger, café léger, chicorée, infusions. 	<ul style="list-style-type: none"> - Toutes les boissons gazeuses. - Panaché. - Jus d'agrumes: orange, pample-mousse, citron, raisin, clémentines, mandarine, etc...
Divers	<ul style="list-style-type: none"> - Fines herbes. - Epices pures sans mélange. - Cornichons. 	<ul style="list-style-type: none"> - Epices composées (épices et aromates en poudre). - Toutes conserves de fabrication industrielle: sauce, moutarde et mayonnaise. - Levure artificielle, naturelle. - Cachets médicamenteux, capsules glutinisées.
Produits Infantiles	<ul style="list-style-type: none"> - Laits 1^{er} âge et 2^{ème} âge. - Farines infantiles sans gluten. - Aliments en pots sans gluten. 	

Tableau 5 : Variations du poids (en Kg) et de la taille (en cm) des sujets normaux de la quatrième année à 17 ans révolus selon le sexe (d'après Sempé et Pédrón, 1970).

Age (ans)	Sexe			
	Garçons		Filles	
	Poids (Kg)	Taille (cm)	Poids (Kg)	Taille (cm)
	Moyenne $\pm \sigma$	Moyenne $\pm \sigma$	Moyenne $\pm \sigma$	Moyenne $\pm \sigma$
4	14,30 \pm 1,38	94,9 \pm 3,5	13,76 \pm 1,39	93,4 \pm 3,3
5	16,17 \pm 1,64	101,8 \pm 3,9	15,52 \pm 1,62	100,4 \pm 3,6
6	18,04 \pm 1,94	108,3 \pm 4,2	17,36 \pm 1,97	106,8 \pm 4,0
7	20,06 \pm 2,28	114,3 \pm 4,5	19,20 \pm 2,27	112,7 \pm 4,3
8	22,43 \pm 2,84	120,2 \pm 4,9	21,46 \pm 2,58	118,7 \pm 4,6
9	24,95 \pm 3,29	125,8 \pm 5,1	24,06 \pm 3,05	124,3 \pm 4,8
10	27,69 \pm 3,87	131,0 \pm 5,3	26,90 \pm 3,54	129,9 \pm 5,0
11	30,58 \pm 4,35	136,0 \pm 5,4	29,90 \pm 4,31	135,2 \pm 5,3
12	33,64 \pm 5,09	141,0 \pm 5,7	33,75 \pm 5,24	141,3 \pm 5,7
13	37,42 \pm 6,16	146,4 \pm 6,2	38,38 \pm 6,01	148,3 \pm 6,2
14	42,52 \pm 7,53	153,1 \pm 7,3	43,91 \pm 6,54	154,7 \pm 6,0
15	48,69 \pm 8,75	160,6 \pm 7,9	47,98 \pm 6,98	158,8 \pm 5,7
16	54,40 \pm 8,85	166,9 \pm 7,4	50,80 \pm 6,70	161,0 \pm 5,5
17	58,70 \pm 8,23	171,3 \pm 6,1	52,20 \pm 6,00	162,0 \pm 5,5

Les paramètres anthropométriques des sujets normaux illustrés dans ce tableau sont exprimés par la moyenne \pm E.T.

σ = E.T = Ecart-Type.



6. Techniques d'analyse:

6.1. Dosage des protéines:

Le dosage des protéines se fait selon la technique de Bradford, (1976).

6.1.1. Principe:

Le bleu de coomassie existe sous trois formes différentes (figure1). La forme anionique se fixe préférentiellement aux protéines par des interactions électrostatiques avec les groupements cationiques des protéines. La fixation du bleu de coomassie se réalise si la molécule à évaluer comporte des groupements fonctionnels basiques et/ou aromatiques (figure2).

6.1.2. Préparation des réactifs :

***Le bleu de Coomassie:**

100 mg de bleu brillant de coomassie G250 sont dissous dans une solution contenant 100 ml d'acide phosphorique à 85% et 50 ml d'éthanol à 95%. Le mélange est ajusté à 1 litre avec de l'eau distillée.

***Préparation de la gamme étalon de sérum albumine bovine (SAB):**

La solution mère est établie à partir de 1g de SAB qui est dissous dans de l'eau distillée pour obtenir une concentration finale de 1 mg/ml. A partir de cette solution mère, et par des dilutions successives, on réalise des solutions de SAB aux concentrations suivantes: 100µg/ml, 250µg/ml, 500µg/ml, 750µg/ml et 1 mg/ml. Le bleu de coomassie et la solution mère peuvent être conservées à 4°C pour une longue durée.

6.1.3. Dosage spectrophotométrique:

250µl de soude 1M sont ajoutés à 100µl de la solution étalon ou de l'homogénat muqueux dilué, puis 5 ml de bleu de coomassie sont ensuite ajoutés au tube. Le mélange est agité à l'aide d'un vortex puis incubé pendant 5mn à température ambiante.

La densité optique est déterminée par lecture au spectrophotomètre à 595nm. La concentration en protéines dans les homogénats est mesurée par comparaison à une courbe étalon établie avec de la sérum albumine bovine.

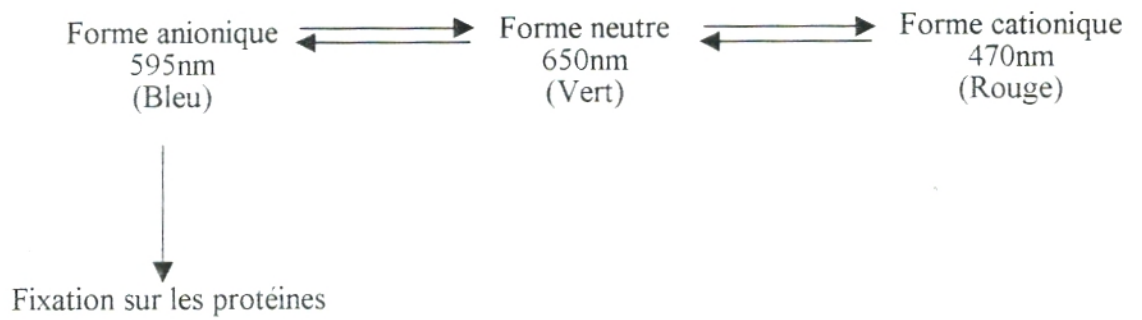


Figure 1 : Différentes formes chimiques de bleu de coomassie (d'après Delobette et al., 1991).

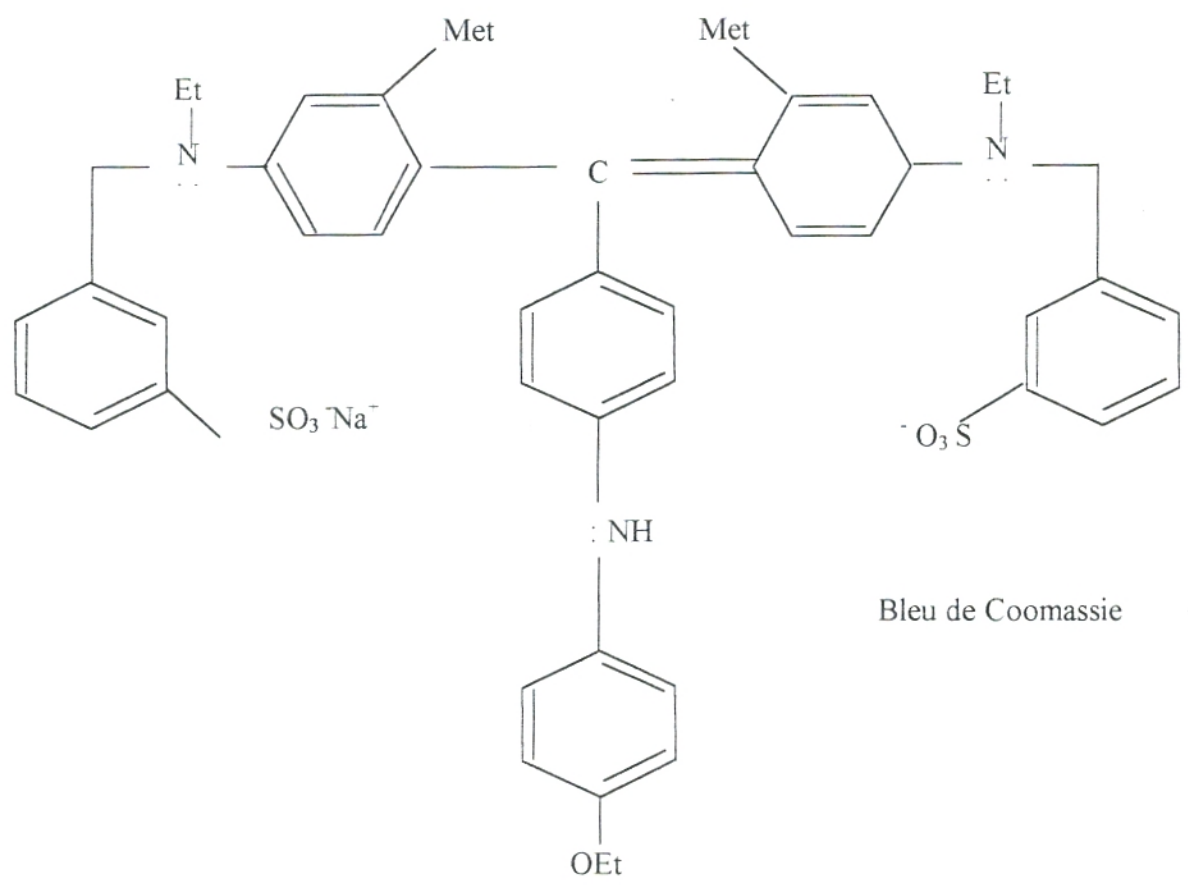


Figure 2: Structure moléculaire de bleu de coomassie (d'après Delobette et al., 1991).

6.2. Dosages enzymatiques:

6.2.1. Dosage des disaccharidases:

La maltase, la lactase et la saccharase sont 3 disaccharidases de la muqueuse jéjunale. Ces enzymes sont dosées dans l'homogénat après broyage de la biopsie jéjunale selon la méthode décrite par Dahlquist, (1970).

6.2.1.1. Principe:

Le principe de cette méthode repose sur la détermination du nombre de molécules de glucose formé après hydrolyse du substrat (maltose, lactose, saccharose) par l'enzyme correspondante. Une unité de disaccharidase hydrolyse une micromole de disaccharide par minute dans les conditions de l'incubation.

6.2.1.2. Préparation de l'homogénat:

On place dans un tube de potter muni d'un piston en téflon et dans l'ordre suivant:

- 2 à 30 mg de muqueuse;
- 1 ml de sérum physiologique (liquide de Ringer) contenant en mmoles/l: (Na^+ :140, K^+ : 5,2, Ca^{++} : 1,2, Mg^{++} : 1,2, Cl^- : 120, HCO_3^- : 25, HPO_4^- : 2,4, H_2PO_4^- : 0,4).

Le tube de potter est refroidi dans un bac contenant de la glace pilée. Les fragments de muqueuse sont alors broyés manuellement pendant au moins 3 minutes à une température de 0°C. Le broyat ainsi obtenu est utilisé pour les différents dosages.

6.2.1.3. Préparation des réactifs:

***Les solutions substrats:**

Les différents substrats utilisés sont le maltose, le lactose et le saccharose (Merck). Ils sont préparés en solution à 0,056M dans un tampon maléate 0,1M, pH =6,0. Les solutions substrats ainsi préparées peuvent être conservées au congélateur jusqu'à utilisation.

***Tampon maléate 0,1M, pH = 6,0:**

1,16g d'acide maléique sont dissous dans 15 ml de NaOH 1N puis complétés à 100 ml avec de l'eau distillée. Le pH de la solution est ensuite ajusté à 6,0 à l'aide d'HCl 1N.

*** Les réactifs:**

- * La solution de glucose-oxydase (Merck) est obtenue après dissolution de 175,61mg de glucose-oxydase 136 U/g dans 2,43 ml de tampon tris 0,5M, pH = 7,0.
- * La solution de peroxydase (Merck) est préparée en dissolvant 10 mg de peroxydase 100 U/mg dans 10 ml d'eau distillée.
- * Le tampon tris 0,5 M, pH = 7,0 est obtenu à partir de 61,0g de tris dissous dans 85 ml d'acide chlorhydrique 5N. L'ensemble est ajusté à 1000 ml avec de l'eau distillée. Si c'est nécessaire, le pH est ajusté à 7,0 avec du HCl 1N.
- * La solution de triton x 100 0,5M, pH =7,0 est préparée en dissolvant 2 grammes de triton x 100 dans 8 g (10 ml) d'éthanol à 95%.
- * La solution d'O-dianisidine 0,4mM est obtenue à partir de 100 milligrammes d'O-dianisidine dissous dans 8 g (10 ml) d'éthanol à 95%.

*** Le réactif tris-glucose - oxydase (T.G.O):**

Ce réactif est obtenu à partir d'un volume de 0,28 ml de la solution glucose-oxydase auquel sont ajoutés:

- 40 ml de la solution de tampon tris 0,5M, pH =7,0;
- 0,40 ml de la solution de triton x 100 3mM;
- 0,40 ml de la solution d'O-dianisidine 0,4mM;
- 0,20 ml de la solution de peroxydase 100 U/mg.

*** Le standard glucose:**

On réalise une solution mère de glucose anhydre du commerce (Merck) à la concentration de 1mg/ml d'eau distillée. A partir de cette solution mère et par des dilutions successives, on réalise des solutions de glucose aux concentrations de 100µg/ml, 200µg/ml et 300µg/ml.

6.2.1.4. Méthode de dosage:

- Préparation de l'homogénat et son substrat:

La préparation enzymatique et son substrat approprié sont incubés dans un bain marie à 37°C pendant 1 heure.

L'homogénat sera dilué de façon à obtenir une activité convenable de la disaccharidase à doser. Les valeurs obtenues doivent être comprises dans les limites de la courbe étalon.

1. Mode opératoire:

20 µl d'homogénat et 20 µl de la solution substrat sont mélangés de façon adéquate et incubés dans un bain marie pendant 60 minutes à 37°C.

La réaction d'hydrolyse est arrêtée par l'ajout de 600 µl de réactif T.G.O. Ensuite, la solution est agitée puis incubée à nouveau pendant 35 minutes à 37°C au terme de laquelle une couleur pourpre apparaît.

La densité optique est lue par rapport à un blanc où la solution enzymatique est remplacée par 20 µl d'eau distillée. La quantité de glucose libérée est déterminée par comparaison à une courbe standard établie. La lecture se fait au spectrophotomètre à 480nm.

2. Calcul de l'activité enzymatique des disaccharidases:

2.1. Activité totale :

Le nombre de micromoles de glucose libéré par ml d'homogénat et par minute est calculé par la relation générale suivante:

$$\frac{a \times d \times H}{n \times p \times 60 \times 180} = \mu\text{M}/\text{mn}/\text{ml} \text{ (d'après Dahlquist, 1970).}$$

a: Quantité de glucose en (µg/ml) libérée après 60 minutes d'incubation.

d: Facteur de dilution de l'homogénat.

d = 1 pour la lactase et la saccharase.

d = 10 pour la maltase.

H:Homogénat = 1ml (indique le volume du sérum physiologique dans lequel la biopsie est broyée).

n: Nombre de molécules de glucose libéré par molécule de substrat (disaccharide).

n = 1 pour le lactose et le saccharose.

n = 2 pour le maltose et l'isomaltose.

p: Poids de la biopsie (g).

60:Durée de l'incubation (mn)

180: Poids moléculaire du glucose (g).

2.2. Activité spécifique :

L'activité spécifique exprimée en micromoles de glucose libéré par gramme de protéines de muqueuse et par minute est calculée par la relation simplifiée suivante:

$$\frac{a \times d \times H}{n \times p_1 \times 10800} = \mu\text{M/mn/g de protéines de muqueuse.}$$

p_1 : Quantité des protéines contenues dans l'échantillon dosé.

6.2.2. Dosage des dipeptidases:

3 dipeptidases de la muqueuse jéjunale (L-glycyl-L-proline dipeptidase, L-alanyl-L-proline dipeptidase et L-isoleucyl-L-isoleucine dipeptidase), sont dosées au niveau des fragments biopsiques par la méthode décrite par Doi et al, (1981).

6.2.2.1. Principe:

Cette méthode consiste à déterminer l'activité enzymatique des dipeptidases jéjunales par spectrophotométrie en présence d'un substrat correspondant (dipeptide).

Elle est basée sur une lecture en absorption d'une solution contenant l'acide aminé libéré correspondant au dipeptide hydrolysé. L'utilisation de la ninhydrine à chaud qui est un colorant spécifique permet de former un complexe avec le groupement α -NH₂ de l'acide aminé libéré pour donner une solution colorée. La coloration obtenue est pourpre avec tous les acides aminés à l'exception de la proline et de l'hydroxyproline qui déterminent une coloration jaune pâle.

Dans les conditions de l'incubation, une unité de dipeptidase hydrolyse une micromole de dipeptide par minute.

6.2.2.2. Préparation des réactifs:

***Les solutions substrats:**

Les dipeptides hautement purifiés utilisés proviennent de chez Sigma, (France):

L-glycyl-L-proline, L-alanyl-L-proline et L-isoleucyl-L-isoleucine.

Ils sont mis en solution dans de l'eau distillée à la concentration de 0,2 mM. Ces solutions substrats ainsi préparées peuvent être conservées au congélateur jusqu'à utilisation.

***Solutions tampon tris-HCl 0,2M, pH =7,2 ;7,4 et 8,6:**

Les réactions enzymatiques ont lieu dans un tampon tris-HCl 0,2 M à pH= 7,2 ; 7,4 et 8,6 respectivement pour les 3 dipeptides: L-glycyl-L-proline, L-alanyl-L-proline et L-isoleucyl-L-isoleucine; pour les 2 derniers dipeptides, il est nécessaire d'ajouter au

milieu du MnCl_2 0,08M.

***Le réactif CD-ninhydrine:**

0,8g de ninhydrine(Merck) est dissous dans un mélange de 80 ml d'éthanol à 99,5% et 10 ml d'acide acétique suivi par l'addition d'1g de CdCl_2 4 mM dissous dans 1ml d'eau distillée (réactif stable pendant 1 mois à 4°C).

***Préparation des gammes étalons avec les acides aminés:**

3 solutions mères avec les équivalents en acides aminés sont préparées à la concentration de 0,05 mM/ml d'eau distillée en vue de l'élaboration d'une gamme étalon correspondante pour chacun des 3 dipeptides utilisés. Les deux acides aminés de 2 solutions mères sont dissous en quantité équivalente.

A partir de ces solutions mères et par des dilutions successives, sont obtenus des échantillons pour chacun des 3 dipeptides aux concentrations suivantes: 0,005 mM; 0,010 mM; 0,015 mM; 0,020 mM et 0,025 mM.

6.2.2.3. Méthode de dosage:

- Préparation de l'homogénat et son substrat:

La préparation enzymatique et son substrat approprié sont réalisés en 2 étapes:

- Une préhydrolyse obtenue après une incubation à 37°C pendant 5 minutes d'un mélange réactionnel contenant le substrat en présence de MnCl_2 0,08M et de tampon tris-HCl 0,2M à pH =7,2 ; 7,4 et 8,6.
- L'ajout dans ce mélange de l'homogénat muqueux contenant les enzymes aboutit au bout de 8mn à 37°C à une hydrolyse du substrat approprié.

L'homogénat sera dilué de façon à obtenir une activité convenable de la dipeptidase à doser. Les valeurs obtenues doivent être comprises dans les limites de la courbe étalon.

-Mode opératoire:

Dans un tube à hémolyse sont mis successivement:

200 μl de la solution substrat, 200 μl de tampon tris-HCl 0,2M à pH =7,2 ; 7,4 et 8,6 et 20 μl de MnCl_2 0,08M. Le mélange est préincubé dans un bain marie pendant 5 minutes à 37°C.

100 μl d'homogénat sont ensuite ajoutés au tube, mélangés à l'aide d'un vortex et l'ensemble est incubé pendant 8 minutes à 37°C.

La réaction d'hydrolyse est arrêtée par l'ajout de 1 ml de réactif CD-ninhydrine. Le mélange est agité puis incubé à nouveau pendant 5 minutes à 84°C au terme de laquelle la solution est colorée.

La densité optique est lue à 507nm par rapport à un blanc où la solution enzymatique est remplacée par 500 µl d'eau distillée. La quantité d'acides aminés libérée est déterminée grâce à la courbe étalon établie.

7. Analyse statistique:

Les résultats sont exprimés par la moyenne ± erreur standard ($X \pm S.E$) établie pour chaque groupe. Les moyennes sont comparées à l'aide du test "t" de Student. Le seuil de signification retenu est celui qui est habituellement considéré, soit 5%.

Les variations des teneurs des différents paramètres (protéines totales, disaccharidases, dipeptidases) en fonction du rapport poids/taille, sont analysées par le calcul du coefficient de corrélation "r" de Pearson, testé par le test "t" de Student selon la formule:

$$t = \frac{|r| \sqrt{n - 2}}{\sqrt{1 - r^2}}$$

RESULTATS

RESULTATS

1. Etude histologique :

L'étude histologique des biopsies jéjunales est effectuée selon les méthodes de la classification de Matuchansky et al., (1970), Marche et al., (1972) et de Oberhuber (2000).

1.1. Histologie des biopsies de sujets de référence :

L'aspect histologique des biopsies jéjunales des 9 sujets examinés pour la plupart d'entre eux pour un retard staturo-pondéral correspond au grade I, c'est à dire à une muqueuse saine. Les hauteurs respectives des villosités et de la couche des cryptes sont normales et le rapport entre cryptes et villosités est toujours inférieur à 1. Ces sujets qui présentent ce grade histologique sont considérés dans notre étude comme des sujets de référence (tableau 1, figure 1).

1.2. Histologie des biopsies de sujets cœliaques :

* Phase active de la maladie (B₁) :

En phase active de la maladie (B₁), nous observons une atrophie villositaire totale (grade V) chez 6 patients (figure 2), une atrophie villositaire subtotale (grade IV) chez 8 sujets (figure 3) et une atrophie villositaire partielle (grade III) chez 2 patients. L'aspect histologique général de ces 3 grades correspond à une muqueuse atrophiée ou plate, une diminution ou un effacement complet des villosités, un épaissement de la couche des cryptes et un rapport entre cryptes et villosités variable selon le degré de l'atrophie.

* Phase d'exclusion du gluten (B₂) :

Après $111,00 \pm 7,81$ jours de régime sans gluten (B₂) (tableau 2), l'atrophie villositaire totale persiste chez 1 seul sujet. Chez 6 sujets, nous constatons une atrophie villositaire subtotale. Une atrophie villositaire partielle apparaît aussi chez 6 autres sujets (figure 4) et enfin chez les 3 derniers sujets, nous observons une atrophie villositaire modérée (grade II) dont la hauteur villositaire est presque normale, la couche des cryptes est normale et le rapport entre cryptes et villosités est constamment inférieur à 1.

Tableau 1 : Grade histologique de la biopsie jéjunale chez les sujets examinés pour un retard staturo-pondéral et considérés comme un groupe de référence (n=9).

Sujets	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Grade Histologique	I	I	I	I	I	I	I	I	I

Tous nos sujets présentent une histologie de type grade I. Le grade I correspond à une muqueuse intestinale normale; la hauteur villositaire est normale, la couche des cryptes est normale, le rapport entre cryptes et villosités (C/V) est toujours inférieur à 1, les cellules absorbantes sont sans particularité et les cellules caliciformes sont rarement observées.

Tableau 2 : Durée du régime sans gluten instauré chez les sujets cœliaques entre la phase active de la maladie (B₁), la phase d'exclusion du gluten (B₂) et la phase de guérison (B₃) (groupe MC, n = 16).

Durée en jours entre B ₁ et B ₂	Durée en jours entre B ₂ et B ₃	Durée totale du régime en jours entre B ₁ et B ₃
111,00	261,00	372,00
±	±	+
7,81	10,62	7,01

Les valeurs indiquées sont des moyennes et leurs erreurs standards.

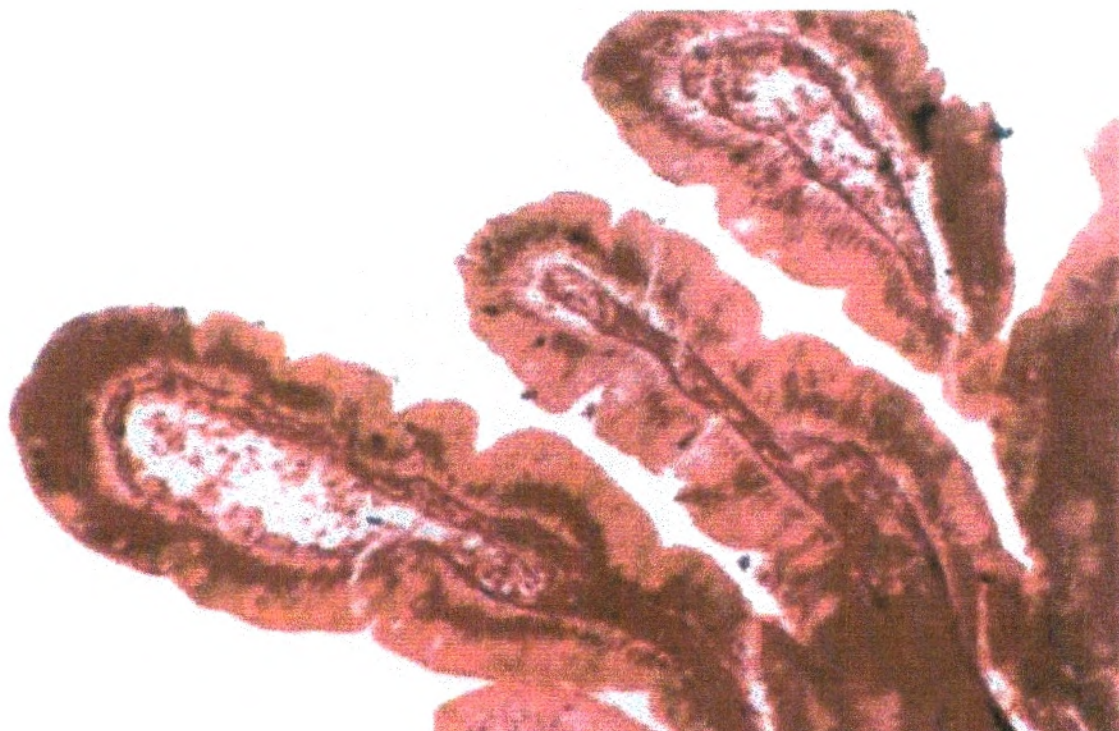


Figure 1 : Coupe histologique d'un fragment jéjunal obtenu par biopsie chez un sujet examiné pour un retard staturo-pondéral (sujet 3) (Coloration à l'hémalum-éosine , G x 200).

La muqueuse est d'aspect strictement normal (grade I). La hauteur villositaire est normale, en « feuilles larges », la couche des cryptes est normale, le rapport entre cryptes et villosités (C/V) est toujours inférieur à 1. Les cellules absorbantes sont sans particularités, leur plateau strié est bien visible et les cellules caliciformes sont rarement observées. Le réseau vasculaire avec arcades sous-épithéliales est bien visible.

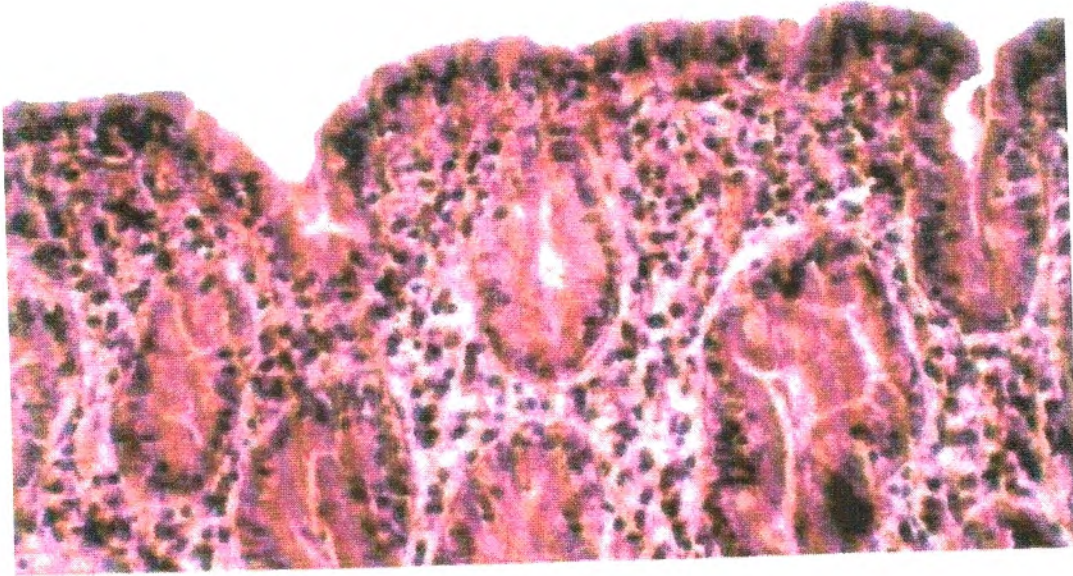


Figure 2 : Coupe histologique d'un fragment jéjunal obtenu par biopsie chez un sujet cœliaque examiné pour une diarrhée chronique, distension abdominale, vomissements et un retard staturo-pondéral (sujet 7) (Coloration à l'hémalun-éosine, G x 200).

On observe une atrophie villositaire sévère totale (grade V). La muqueuse est plate par perte du relief villositaire et présente un aspect en mosaïque. Les villosités sont complètement effacées, les cryptes sont plus épaisses que normalement, les orifices des cryptes sont bien visibles entre les sillons, le rapport entre cryptes et villosités (C/V) est par conséquent très supérieur à 1, les cellules absorbantes sont aplaties et les cellules caliciformes sont manifestement très nombreuses.

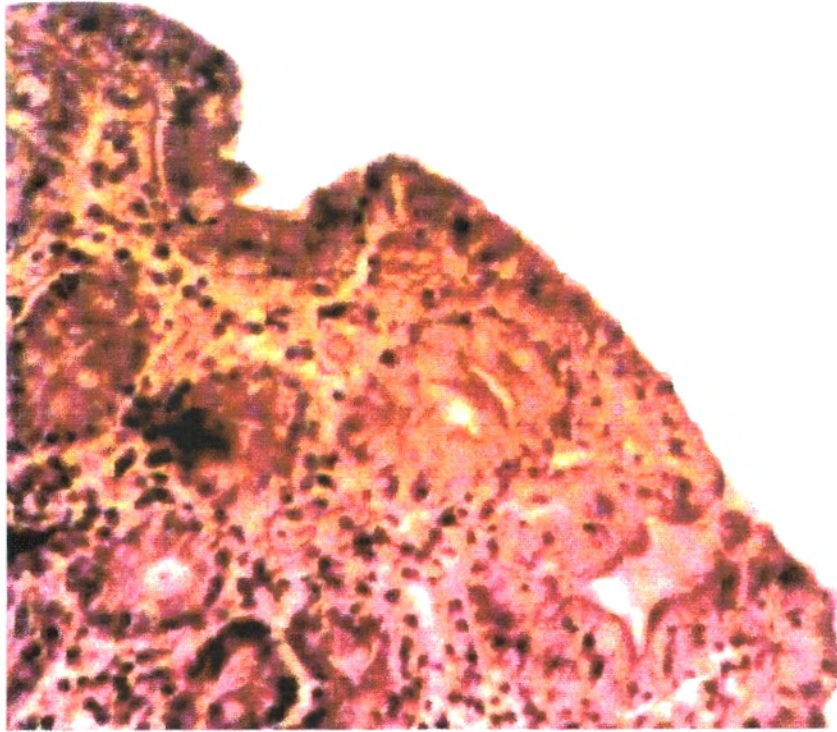


Figure 3 :Coupe histologique d'un fragment jéjunal obtenu par biopsie chez un sujet cœliaque examiné pour une diarrhée chronique, distension abdominale et un retard staturo-pondéral (sujet2) (Coloration à l'hémalum-éosine, G x 200).

On observe une atrophie villositaire sévère subtotale (grade IV) et des rares replis de la muqueuse. La hauteur villositaire est très diminuée, la couche des cryptes est plus épaisse que normalement, les orifices des cryptes sont visibles entre les sillons, le rapport entre cryptes et villosités (C/V) est toujours supérieur à 1, les cellules absorbantes sont constamment altérées et le nombre des cellules caliciformes est très augmenté.

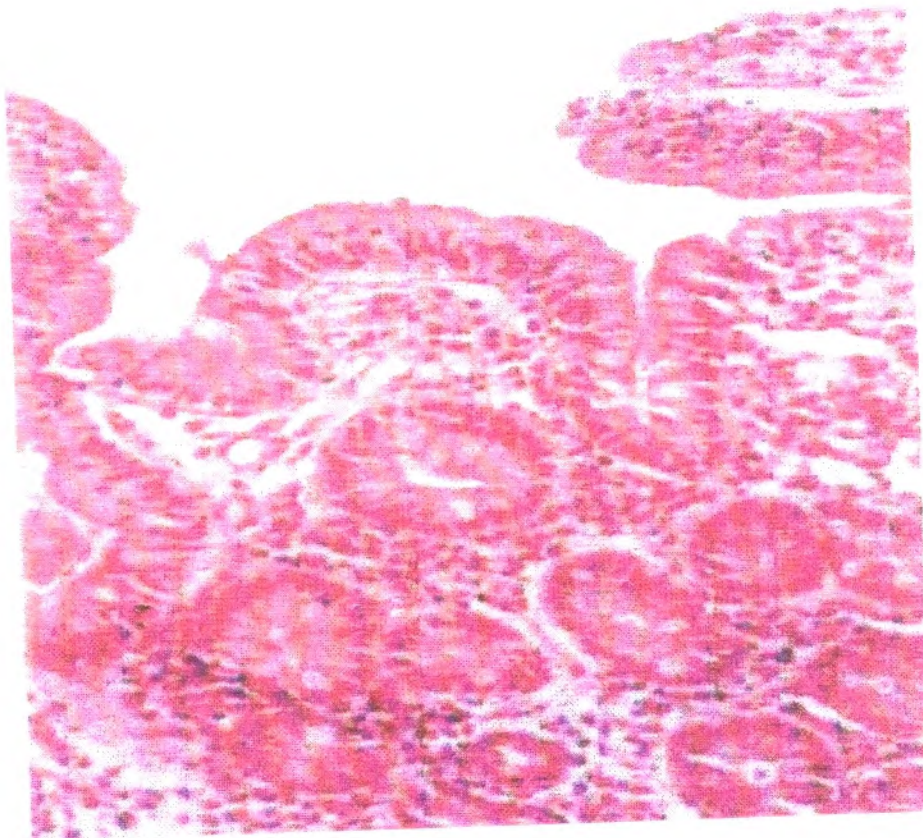


Figure 4 : Coupe histologique d'un fragment jéjunal obtenu par biopsie chez un sujet cœliaque traité pendant 114 jours de régime sans gluten (sujet 7) (Coloration à l'hémalum-éosine, G x 200).

On observe une atrophie villositaire partielle (grade III). La réparation tissulaire s'exprime par une réapparition des villosités dont la hauteur est diminuée. La couche des cryptes est légèrement épaisse que normalement et le rapport entre cryptes et villosités (C/V) est inférieur ou égal à 1. Les cellules absorbantes réapparaissent mais les altérations peuvent toujours exister, leur plateau strié est mal visible et le nombre des cellules caliciformes est augmenté. Le réseau vasculaire avec les arcades sous-épithéliales est peu visible.

*** Phase de guérison (B₃) :**

En phase de guérison et plus précisément après $261,00 \pm 10,62$ jours de diète sans gluten (B₃) (tableau 2), l'histologie montre qu'un seul sujet présente une muqueuse normale (figure 5) alors qu'une atrophie villositaire modérée apparaît chez 9 sujets (figure 6). Une atrophie villositaire partielle apparaît chez 4 sujets alors qu'une atrophie villositaire subtotale est observée chez 2 sujets.

*** Répartition des divers grades histologiques de la muqueuse jéjunale chez les sujets cœliaques en fonction des différentes phases :**

La figure 7 indique qu'en phase active de la maladie (B₁) ; 37,5 % des sujets malades sont de grade V, 50 % sont de grade IV et 12,5 % sont de grade III. En phase d'exclusion du gluten (B₂) ; 6,25 % des sujets malades restent en grade V, 37,5 % en grade IV, 37,5 % présentent un grade III et 18,75 % un grade II. En phase de guérison (B₃) ; le grade IV persiste chez 12,5 % des sujets malades, le grade III chez 25%, en revanche 56,25 % des sujets malades présentent un grade II et 6,25 % un grade I .

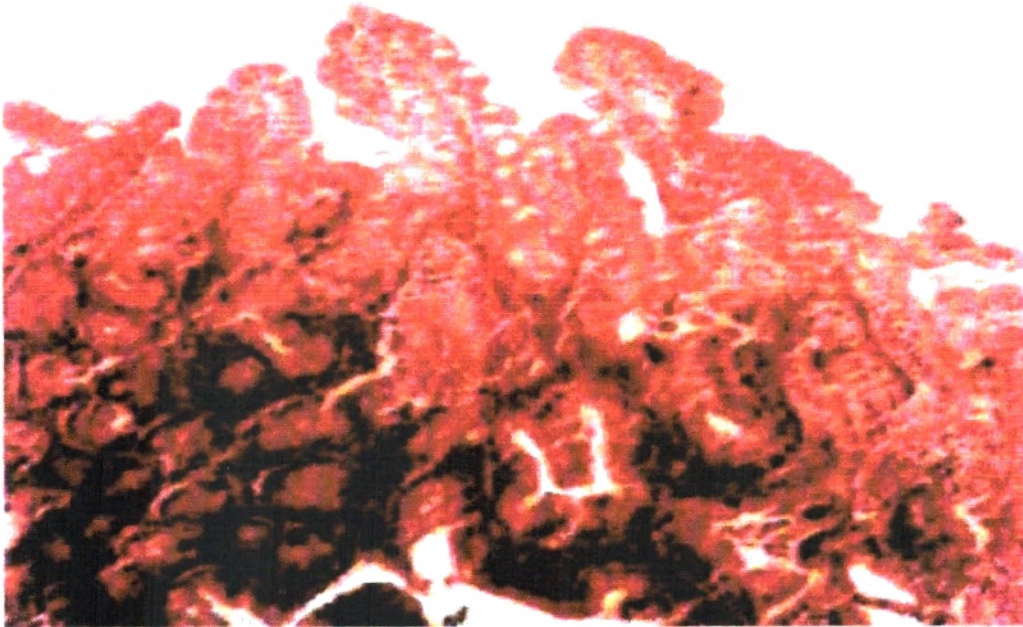


Figure 5 : Coupe histologique d'un fragment jéjunal obtenu par biopsie chez un sujet cœliaque traité pendant 419 jours de régime sans gluten (sujet 2) (Coloration à l'hémalum-éosine , G x 100).

On observe une atrophie villositaire modérée (grade II) . La réparation tissulaire s'exprime par une réapparition des villosités dont la hauteur est presque normale. De même, la couche des cryptes est normale et le rapport entre cryptes et villosités (C/V) est constamment inférieur à 1. On remarque une réapparition des cellules absorbantes mais leur nombre est abaissé , leur plateau strié est visible et les cellules caliciformes tendent à augmenter. Le réseau vasculaire avec arcades sous-épithéliales est visible.

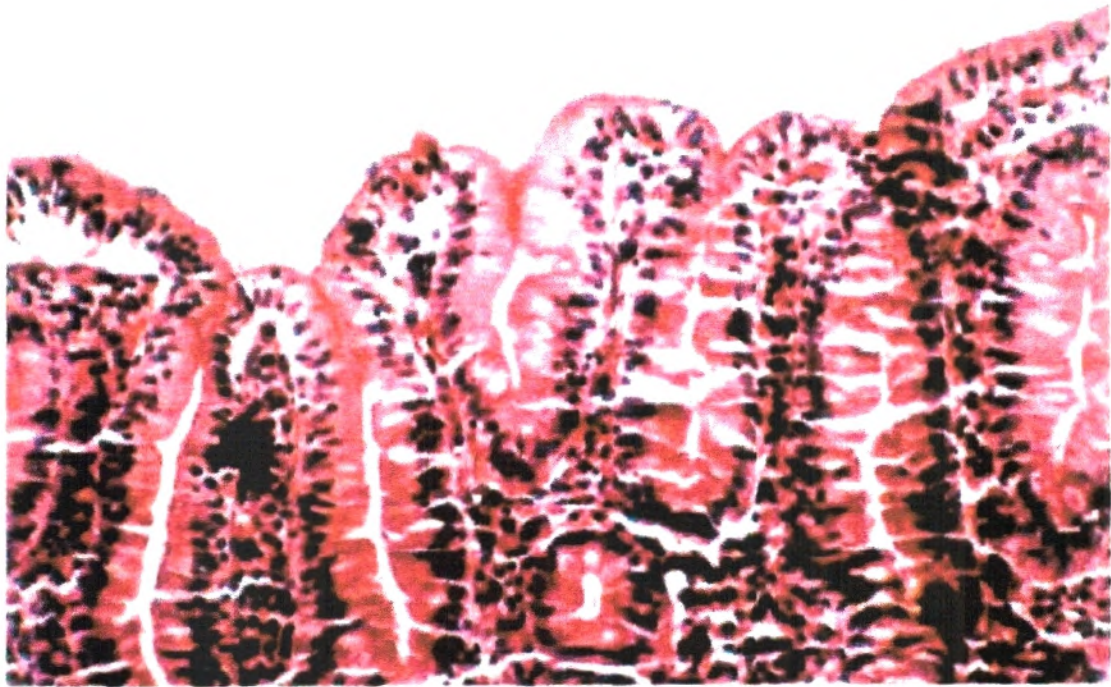
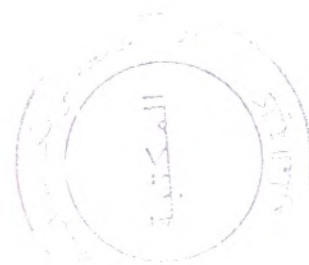


Figure 6 : Coupe histologique d'un fragment jéjunal obtenu par biopsie chez un sujet cœliaque traité pendant 373 jours de régime sans gluten (sujet 7) (Coloration à l'hémalum-éosine , G x 200).

On observe une muqueuse d'aspect strictement normal (grade I) ; la réparation tissulaire s'exprime par une repousse des villosités qui reprennent des dimensions normales, en « feuilles larges », la couche des cryptes est normale, le rapport entre cryptes et villosités (C/V) est toujours inférieur à 1. On observe un renouvellement complet des cellules absorbantes sans particularités, leur plateau strié est bien visible et les cellules caliciformes sont rarement observées. Le réseau vasculaire avec arcades sous-épithéliales est bien visible



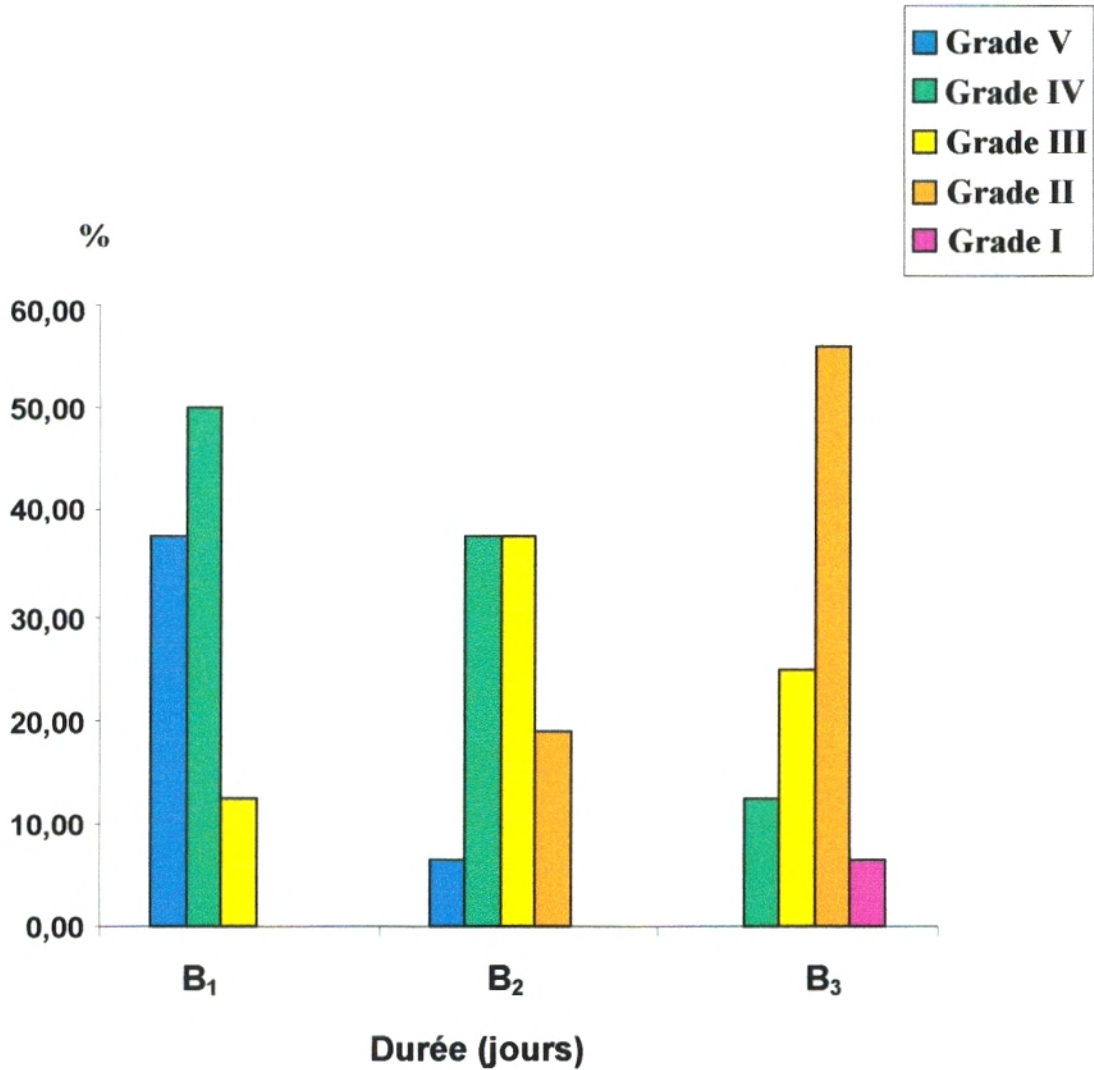


Figure 7 : Répartition des divers grades histologiques de la muqueuse jéjunale chez les sujets cœliaques en fonction des différentes phases.

Nos résultats indiquent que :

*En phase active de la maladie (B₁) ; 37,5 % des sujets malades sont de grade V, 50% sont de grade IV et 12,5 % sont de grade III.

*En phase d'exclusion du gluten (B₂) ; 6,25 % des sujets malades restent en grade V, 37,5 % en grade IV, 37,5 % présentent un grade III et 18,75 % un grade II.

*En phase de guérison (B₃) ; le grade IV persiste chez 12,5 % des sujets malades ,le grade III chez 25 % , en revanche 56,25 % des sujets malades présentent un grade II et 6,25 % un grade I.

2. Mesures anthropométriques :

Les mesures anthropométriques, en particulier le poids et la taille sont un index de l'état nutritionnel des sujets examinés dans notre travail.

Ces paramètres ainsi que le rapport poids / taille sont indiqués dans le tableau 3.

Nos résultats montrent que :

-Le poids et la taille des sujets cœliaques sont comparables durant les deux phases expérimentales : B₁ et B₂. En revanche, le rapport P/T est significativement augmenté en phase d'exclusion du gluten (B₂) par rapport à la phase active de la maladie (B₁) (p<0,05).

-En phase de guérison (B₃), le poids des sujets cœliaques est significativement augmenté par rapport à la phase active de la maladie (B₁) (p<0,01). De même, la différence pour la taille devient significative lorsqu'on compare B₁ à B₃ (p<0,02). Le rapport P/T est significativement supérieur en phase de guérison (B₃) par rapport à celui observé en phase active de maladie (B₁) (p<0,01). Ce rapport P/T est considéré comme un bon indicateur qui renseigne sur l'évolution de la courbe de croissance staturo-pondérale avant et en fin de phase de la restriction au gluten. Si l'on considère les valeurs individuelles des différentes variables anthropométriques des sujets cœliaques par rapport aux valeurs observées chez des sujets normaux (selon Sempé et Pédrón, 1970), on remarque :

-Qu'en phase active de la maladie (B₁), 87,5 % des sujets malades présentent une atteinte de la courbe staturo-pondérale.

-En phase d'exclusion du gluten, c'est à dire après 111,00 ± 7,81 jours de régime sans gluten (B₂), cette atteinte de la courbe staturo-pondérale persiste chez 75 % des cas.

-Enfin, en phase de guérison, c'est à dire après 261,00 ± 10,62 jours de diète sans gluten (B₃), cette atteinte de la courbe staturo-pondérale persiste encore chez 56,25% des cas.

Parallèlement, les 9 sujets hospitalisés pour des motifs autres que la maladie cœliaque présentent une atteinte de la courbe staturo-pondérale dans 100 % des cas comparée aux valeurs observées chez des sujets normaux (selon Sempé et Pédrón, 1970).

Tableau 3 : Paramètres anthropométriques mesurés à l'admission chez les sujets de référence (n = 9) ainsi que chez les sujets cœliaques (n = 16) en phase active de la maladie (B₁), en phase d'exclusion du gluten (B₂) et en phase de guérison (B₃).

Biopsies	Age (ans)	Poids (g)	Taille (cm)	Poids.Taille (g cm)
Sujets de référence	10,55	22444,44	119,44	183,32
	=	=	=	=
	1,47	2657,01	6,90	11,46
Sujets MC Stade B ₁	8,43	18178,12	110,62	162,45
	=	=	=	=
	0,49	1116,27	2,45	7,15
Sujets MC Stade B ₂	8,74	20406,25	112,87	179,84*
	=	=	=	=
	0,48	899,32	2,27	5,28
Sujets MC Stade B ₃	9,45	22293,75 ***	117,50**	188,44***
	=	=	=	=
	0,48	1057,49	2,21	5,96

Les résultats sont exprimés par la moyenne ± E.S.

Les moyennes sont comparées à l'aide du test "t" de Student.

Nos résultats montrent qu'il n'y a pas de différence significative du poids et de la taille entre B₁ et B₂. En revanche, le rapport P/T est significativement augmenté en phase B₂.

Les différences pour ces paramètres deviennent respectivement significatives lorsqu'on compare B₁ à B₃.

*p<0.05 ** p<0.02 ***p<0.01.

3. Analyses biochimiques :

3.1. Teneur en protéines totales des biopsies jéjunales:

La figure 8 présente la teneur en protéines totales (P.T) mesurées sur des biopsies jéjunales de sujets cœliaques en phase active de la maladie (B₁), puis en phase de guérison (B₃) comparées à celles des sujets témoins .

Les valeurs moyennes des teneurs en protéines totales exprimées en mg/g de muqueuse sont de (68,46 ± 14,73) en phase active de la maladie (B₁), de (51,05 ± 12,72) en phase d'exclusion du gluten (B₂) et de (55,42 ± 13,22) en phase de guérison (B₃).

Nos résultats montrent que les taux de protéines totales mesurées chez les patients cœliaques sont comparables durant les trois phases expérimentales: B₁, B₂ et B₃.

3.2. Activité enzymatique des disaccharidases jéjunales :

3.2.1. Lactase:

La figure 9.a présente les activités totales (A.T.) de cette enzyme. Pour rappel, l'activité totale s'obtient en multipliant l'activité spécifique de l'enzyme par la quantité totale de protéines / mg de la muqueuse jéjunale ; elle est exprimée en micromoles de glucose libéré par minute et par gramme de muqueuse jéjunale.

Nos résultats montrent que les activités totales (A.T.) de la lactase ne représentent aucune différence significative chez les malades cœliaques.

La figure 9.b montre les valeurs de l'activité spécifique (A.S.) de la lactase mesurée chez les sujets cœliaques. L'activité spécifique est exprimée en micromoles de glucose libéré par minute et par gramme de protéines totales de la muqueuse jéjunale.

Nos résultats montrent également qu'il n'y a pas de différence significative des activités spécifiques (A.S.) de la lactase chez les malades cœliaques.

3.2.2. Saccharase:

Les figures 10.a et 10.b présentent respectivement les activités totale (A.T.) et spécifique (A.S.) de la saccharase.

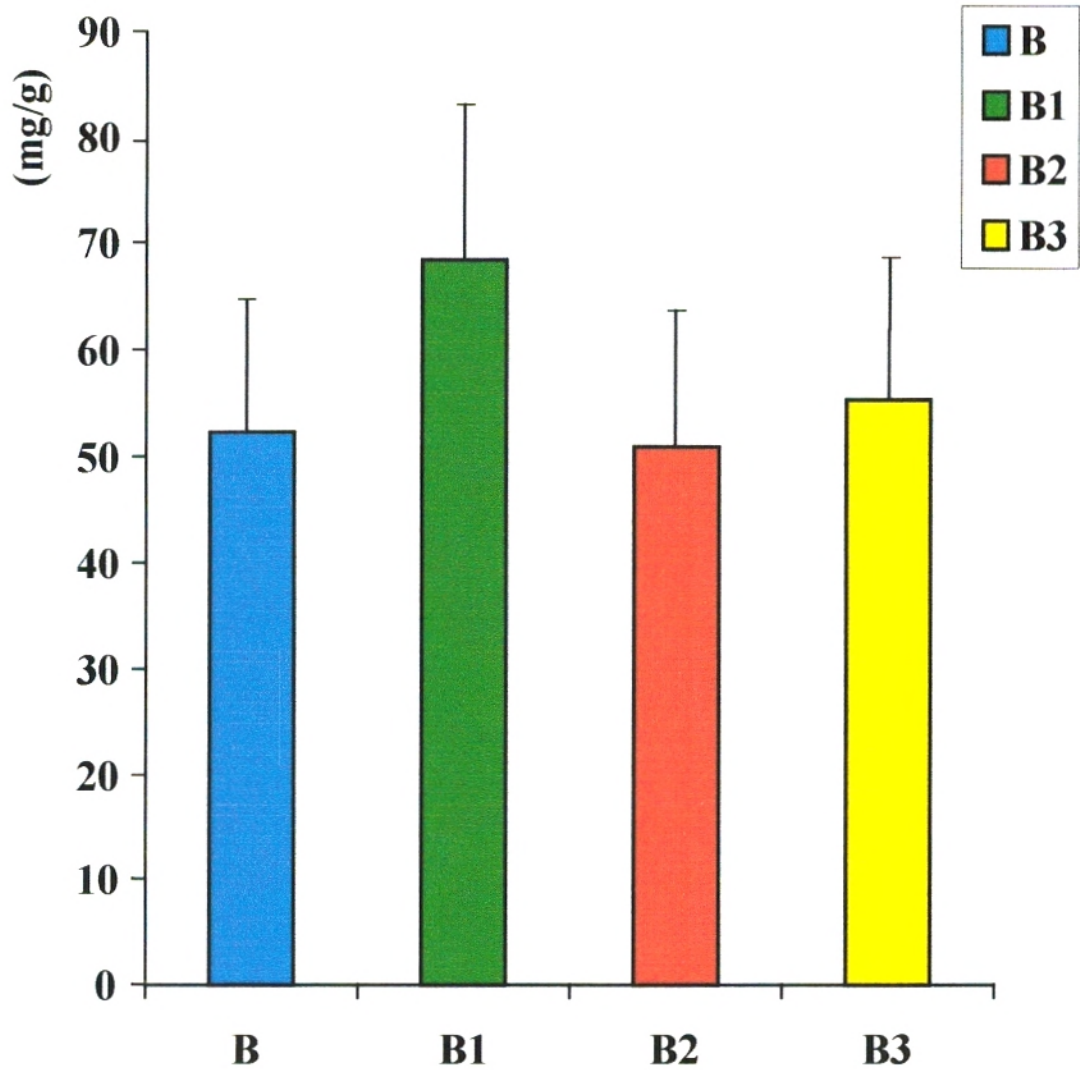


Figure 8: Teneur en protéines totales (P.T) mesurées sur des biopsies jéjunales de sujets cœliaques (n = 16) en phase active de la maladie (B₁), puis en phase de guérison (B₃) comparées à celles des sujets témoins (B) (n = 9).

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm E.S.

Les moyennes sont comparées à l'aide du test "t" de Student entre :

(B₁) et (B₂) ; (B₁) et (B₃)[•] ; (B) et (B₁) ; (B) et (B₃)^{*}.

Il n'existe aucune différence significative.

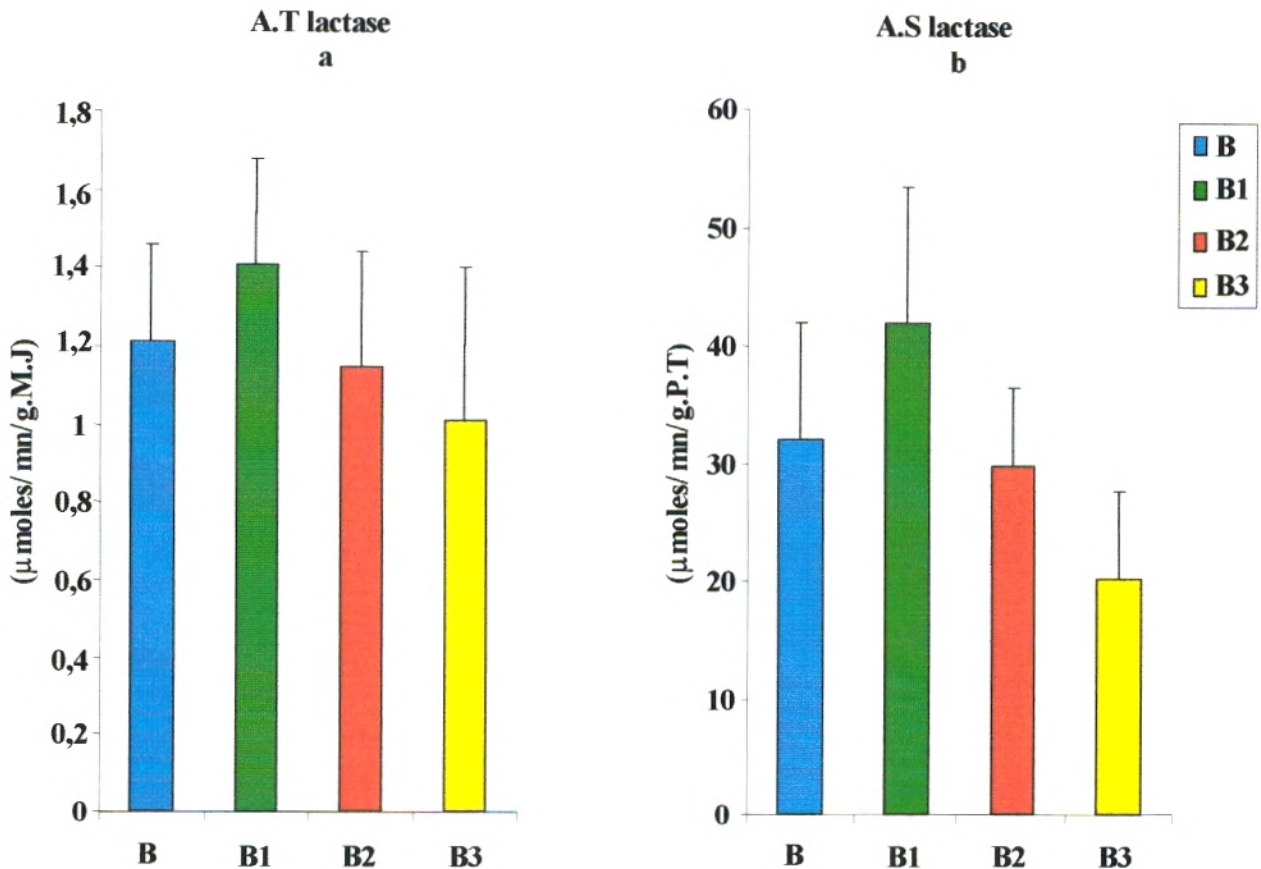


Figure 9: Activité enzymatique de la lactase mesurée sur des biopsies jéjunales de sujets cœliaques ($n = 16$) en phase active de la maladie (B_1), puis en phase de guérison (B_3) comparée à celles des sujets témoins (B) ($n=9$).

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm E.S.

Les moyennes sont comparées à l'aide du test "t" de Student entre :

(B_1) et (B_2) ; (B_1) et (B_3) \bullet ; (B) et (B_1) ; (B) et (B_3) \ast .

(A.T.):Activité totale de la lactase exprimée en micromoles (μ moles) de glucose libéré par minute (mn) et par gramme de muqueuse jéjunale (gM.J).

Nos résultats montrent que les activités totales (A.T.) de la lactase ne représentent aucune différence significative chez les malades cœliaques.

(A.S.):Activité spécifique de la lactase exprimée en micromoles (μ moles) de glucose libéré par minute (mn) et par gramme de protéines totales de la muqueuse jéjunale (g P.T).

Nos résultats montrent également qu'il n'y a pas de différence significative des activités spécifiques (A.S.) de la lactase chez les malades cœliaques.

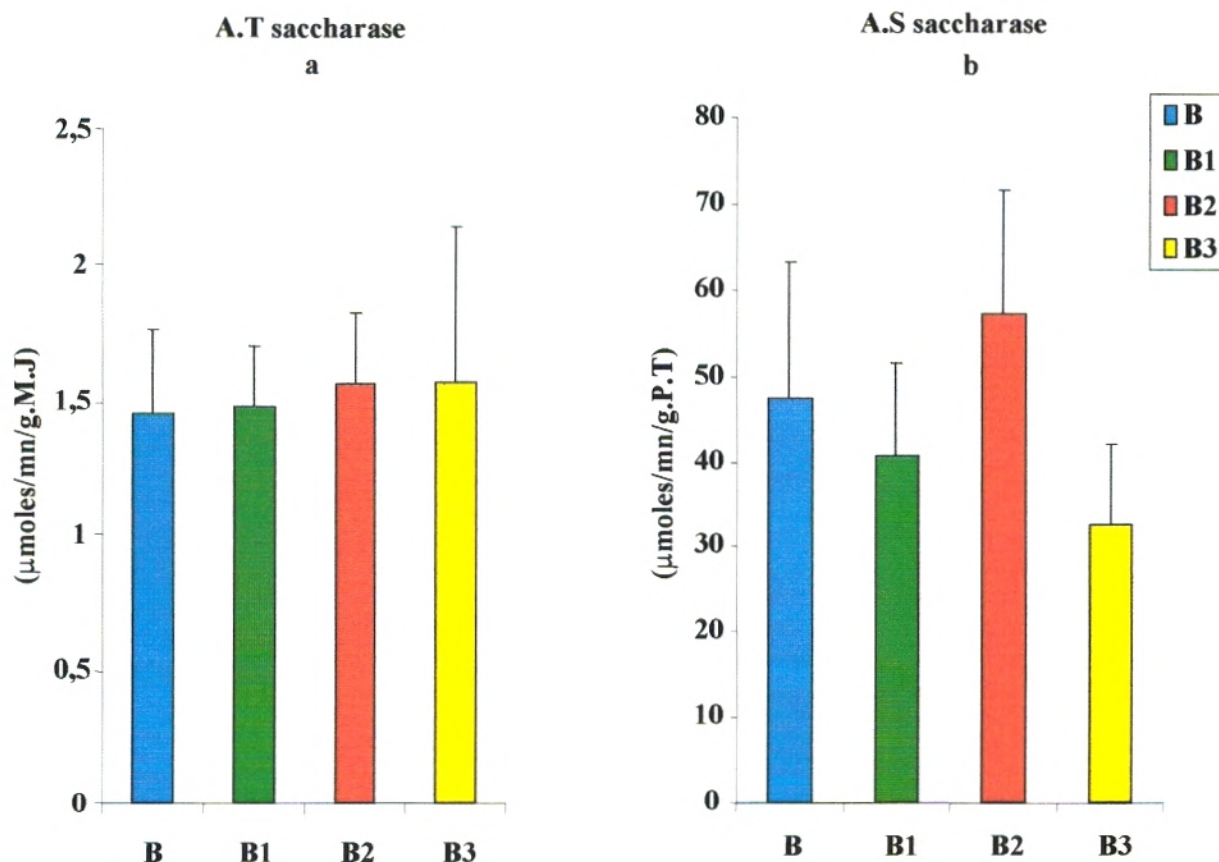


Figure 10: Activité enzymatique de la saccharase mesurée sur des biopsies jéjunales de sujets cœliaques (n = 16) en phase active de la maladie (B₁), puis en phase de guérison (B₃) comparée à celles des sujets témoins (B) (n = 9).

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm E.S.

Les moyennes sont comparées à l'aide du test "t" de Student entre :

(B₁) et (B₂) ; (B₁) et (B₃)[•] ; (B) et (B₁) ; (B) et (B₃)^{*}.

(A.T.):Activité totale de la saccharase exprimée en micromoles (μmoles) de glucose libéré par minute (mn) et par gramme de muqueuse jéjunale (gM.J).

(A.S.):Activité spécifique de la saccharase exprimée en micromoles (μmoles) de glucose libéré par minute (mn) et par gramme de protéines totales de la muqueuse jéjunale (g P.T).

Nos résultats montrent que les activités totale (A.T.) et spécifique (A.S.) de la saccharase ne présentent aucune différence significative chez les sujets MC.

Nos résultats montrent que les activités totale (A.T.) et spécifique (A.S.) de la saccharase ne présentent aucune différence significative chez les sujets MC.

3.2.3. Maltase:

Les figures 11.a et 11.b présentent respectivement les activités totale (A.T.) et spécifique (A.S.) de la maltase.

Chez les malades cœliaques, nos résultats montrent qu'aucune modification significative n'est observée pour l'activité totale (A.T.) et spécifique (A.S.) de cette enzyme en phase active de la maladie. En revanche, les activités totale (A.T.) et spécifique (A.S.) de la maltase sont significativement augmentées respectivement en phase de guérison ($p < 0,05$; $p < 0,001$). Il en est de même lorsqu'on compare B₁ à B₃ ($p < 0,05$; $p < 0,001$).

3.3. Activité enzymatique des dipeptidases jéjunales:

3.3.1. L-glycyl-L-proline dipeptidase:

La figure 12.a présente les activités totales (A.T.) de cette enzyme. L'activité totale s'obtient en multipliant l'activité spécifique de l'enzyme par la quantité totale de protéines / mg de la muqueuse jéjunale ; elle est exprimée en micromoles de dipeptide hydrolysé par minute et par gramme de muqueuse jéjunale.

Nos résultats indiquent qu'aucune modification significative n'est observée pour l'activité totale (A.T.) de cette enzyme durant les trois phases expérimentales : B₁, B₂ et B₃.

La figure 12.b présente les activités spécifiques (A.S.) de cette enzyme. Elles sont exprimées en micromoles de dipeptide hydrolysé par minute et par gramme de protéines totales de la muqueuse jéjunale.

Chez les sujets MC, nos résultats montrent que les activités spécifiques (A.S.) de cette enzyme sont significativement diminuées en phase active de la maladie ($p < 0,05$). Ces activités augmentent en période de restriction au gluten ($p < 0,05$).

3.3.2. L-alanyl-L-proline dipeptidase:

La figure 13.a qui représente les activités totales (A.T.) de cette enzyme, ne montre aucune modification significative dans la muqueuse jéjunale de sujets cœliaques comparée à celle des sujets témoins en période de restriction au gluten.

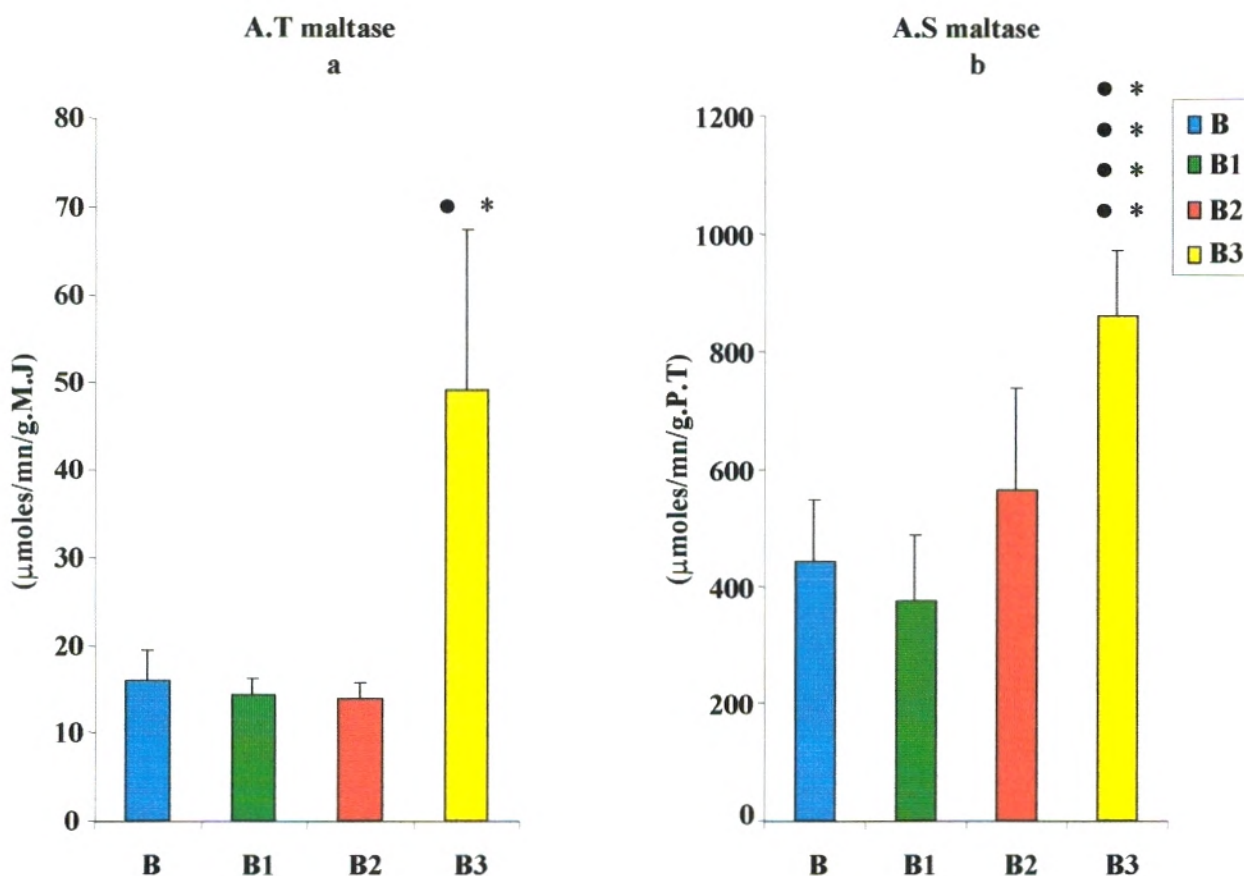


Figure 11:Activité enzymatique de la maltase mesurée sur des biopsies jéjunales de sujets cœliaques (n=16) en phase active de la maladie (B₁), puis en phase de guérison (B₃) comparée à celles des sujets témoins (B) (n=9).

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm E.S.

Les moyennes sont comparées à l'aide du test "t" de Student entre :

(B₁) et (B₂) ; (B₁) et (B₃)[•] ; (B) et (B₁) ; (B) et (B₃)^{*}.

(A.T.):Activité totale de la maltase exprimée en micromoles (μmoles) de glucose libéré par minute (mn) et par gramme de muqueuse jéjunale (gM.J).

(A.S.):Activité spécifique de la maltase exprimée en micromoles (μmoles) de glucose libéré par minute (mn) et par gramme de protéines totales de la muqueuse jéjunale (g P.T).

Chez les malades cœliaques, nos résultats montrent qu'aucune modification significative n'est observée pour l'activité totale (A.T.) et spécifique (A.S.) de cette enzyme en phase active de la maladie. En revanche, les activités totale (A.T.) et spécifique (A.S.) de la maltase sont significativement augmentées respectivement en phase de guérison. Il en est de même lorsqu'on compare B₁ à B₃.

*p< 0,05 ****p< 0,001 •p< 0,05 ••••p< 0,001.

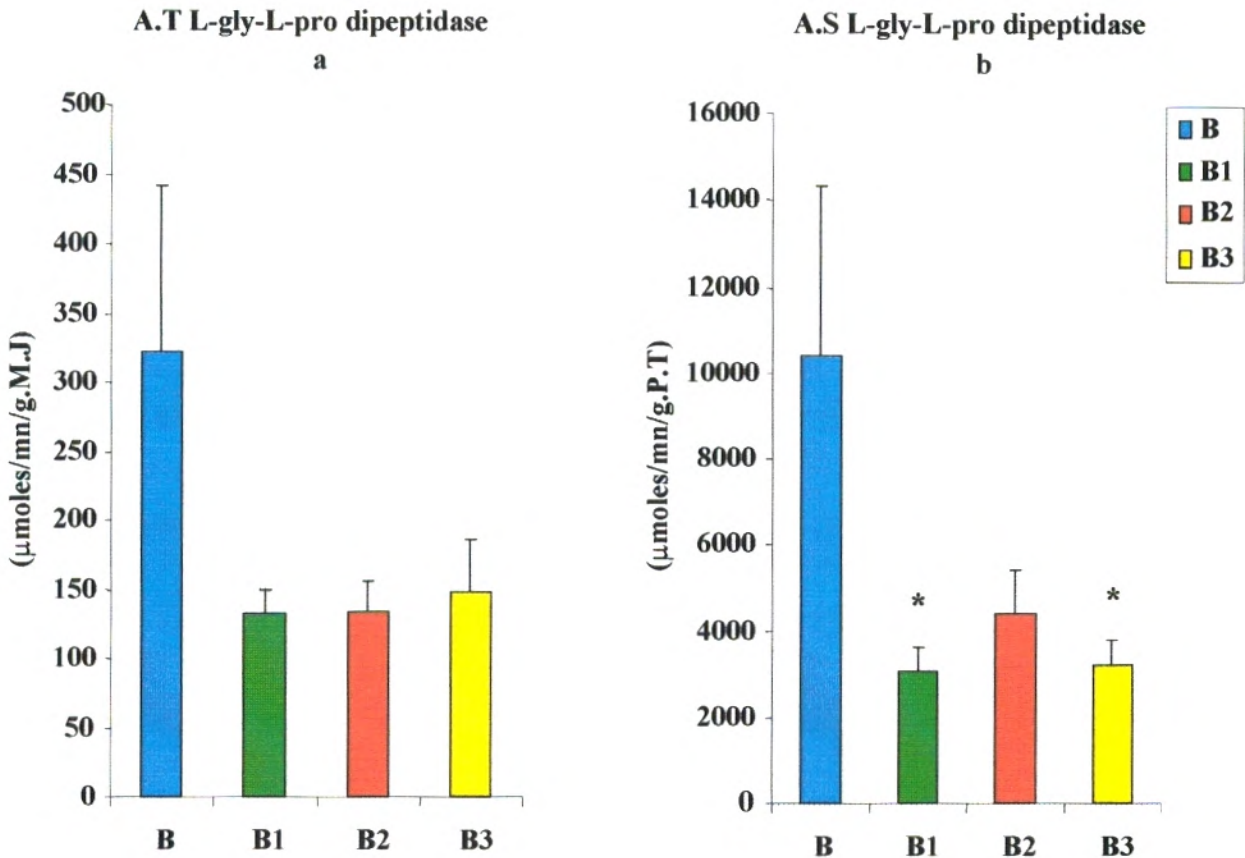


Figure 12: Activité enzymatique de la L-glycyl-L-proline (L-gly-L-pro) dipeptidase mesurée sur des biopsies jéjunales de sujets cœliaques (n=16) en phase active de la maladie (B₁), puis en phase de guérison (B₃) comparée à celles des sujets témoins (B) (n = 9).

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne ± E.S.

Les moyennes sont comparées à l'aide du test "t" de Student entre :

(B₁) et (B₂) ; (B₁) et (B₃) * ; (B) et (B₁) ; (B) et (B₃) *.

(A.T.):Activité totale de la L-gly-L-pro dipeptidase exprimée en micromoles (μmoles) de dipeptide hydrolysé par minute (mn) et par gramme de muqueuse jéjunale (gM.J).

Nos résultats indiquent qu'aucune modification significative n'est observée pour l'activité totale (A.T.) de cette enzyme durant les trois phases expérimentales : B₁, B₂ et B₃.

(A.S.):Activité spécifique de la L-gly-L-pro dipeptidase exprimée en micromoles (μmoles) de dipeptide hydrolysé par minute (mn) et par gramme de protéines totales de la muqueuse jéjunale (g P.T).

Chez les sujets MC, nos résultats montrent que les activités spécifiques (A.S.) de cette enzyme sont significativement diminuées en phase active de la maladie. Ces activités augmentent en période de restriction au gluten.

* p < 0,05 * p < 0,05.

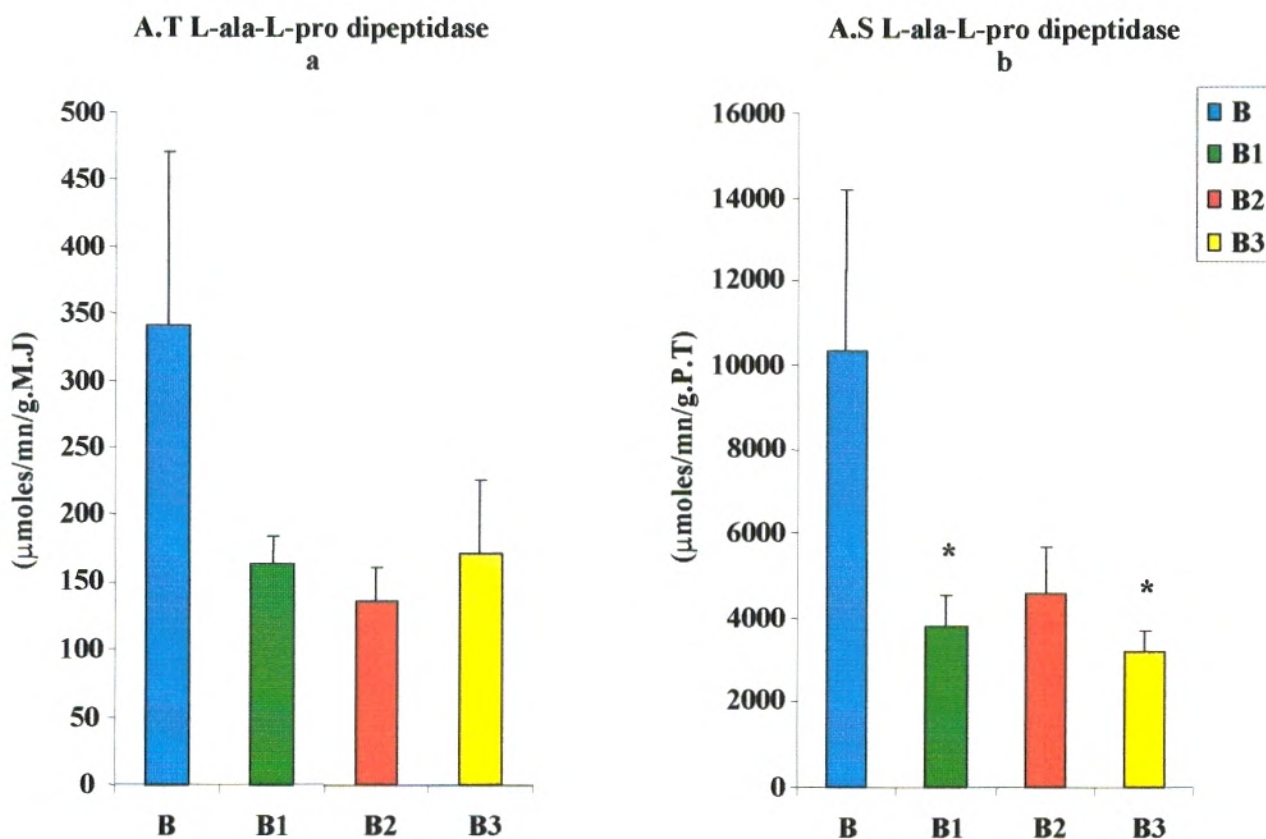


Figure 13: Activité enzymatique de la L-alanyl-L-proline (L-ala-L-pro) dipeptidase mesurée sur des biopsies jéjunales de sujets cœliaques (n=16) en phase active de la maladie (B₁), puis en phase de guérison (B₃) comparée à celles des sujets témoins (B) (n = 9).

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm E.S.

Les moyennes sont comparées à l'aide du test "t" de Student entre :

(B₁) et (B₂) ; (B₁) et (B₃) * ; (B) et (B₁) ; (B) et (B₃) * .

(A.T.):Activité totale de la L-ala-L-pro dipeptidase exprimée en micromoles (μmoles) de dipeptide hydrolysé par minute (mn) et par gramme de muqueuse jéjunale (gM.J).

Nos résultats montrent que les activités totales (A.T.) de cette enzyme ne représentent aucune différence significative chez les malades cœliaques.

(A.S.):Activité spécifique de la L-ala-L-pro dipeptidase exprimée en micromoles (μmoles) de dipeptide hydrolysé par minute (mn) et par gramme de protéines totales de la muqueuse jéjunale (g P.T).

Chez les malades cœliaques, nos résultats montrent que les activités spécifiques (A.S.) de cette enzyme sont significativement diminuées en phase active de la maladie. Ces activités augmentent en période de restriction au gluten.

* p < 0,05 * p < 0,05.

La figure 13.b montre que les activités spécifiques (A.S.) de la L-alanyl-L-proline dipeptidase sont significativement diminuées en phase active de la maladie ($p < 0,05$). Ces activités augmentent en période de restriction au gluten ($p < 0,05$).

3.3.3. L-isoleucyl-L-isoleucine dipeptidase:

Les figures 14.a et 14.b présentent respectivement les activités totale (A.T.) et spécifique (A.S.) de cette enzyme.

Nos résultats montrent que les activités totale (A.T.) et spécifique (A.S.) de la L-isoleucyl-L-isoleucine dipeptidase ne représentent aucune différence significative chez les sujets MC.

3.4. Quantification de l'état nutritionnel de la population examinée :

Les mesures anthropométriques effectuées permettent d'apprécier l'état nutritionnel des malades en utilisant le rapport poids / taille (P/T); index anthropométrique permettant le dépistage d'un retard staturo-pondéral ou une récupération nutritionnelle chez ces malades.

Le tableau 4 présente les variations du rapport poids / taille (P/T) des sujets cœliaques corrélées aux différents paramètres biochimiques.

Nos résultats montrent qu'il n'existe aucune corrélation significative en phase active de la maladie (B_1). Il en est de même en phase de guérison (B_3).

Les variations du rapport poids / taille (P/T) des sujets de référence sont corrélées aux différents paramètres biochimiques à l'aide du test "t" de Student (tableau 5).

Nos résultats montrent que les teneurs en protéines totales exprimées en mg/g de muqueuse jéjunale (PT/PMJ) sont corrélées positivement avec cet index anthropométrique ($r=0,78$, $p < 0,01$); il en est de même pour l'activité totale (A.T.) de la maltase mais à un degré moindre ($r=0,60$, $p < 0,05$). Par contre, aucune corrélation significative n'est observée avec les autres paramètres biochimiques étudiés.

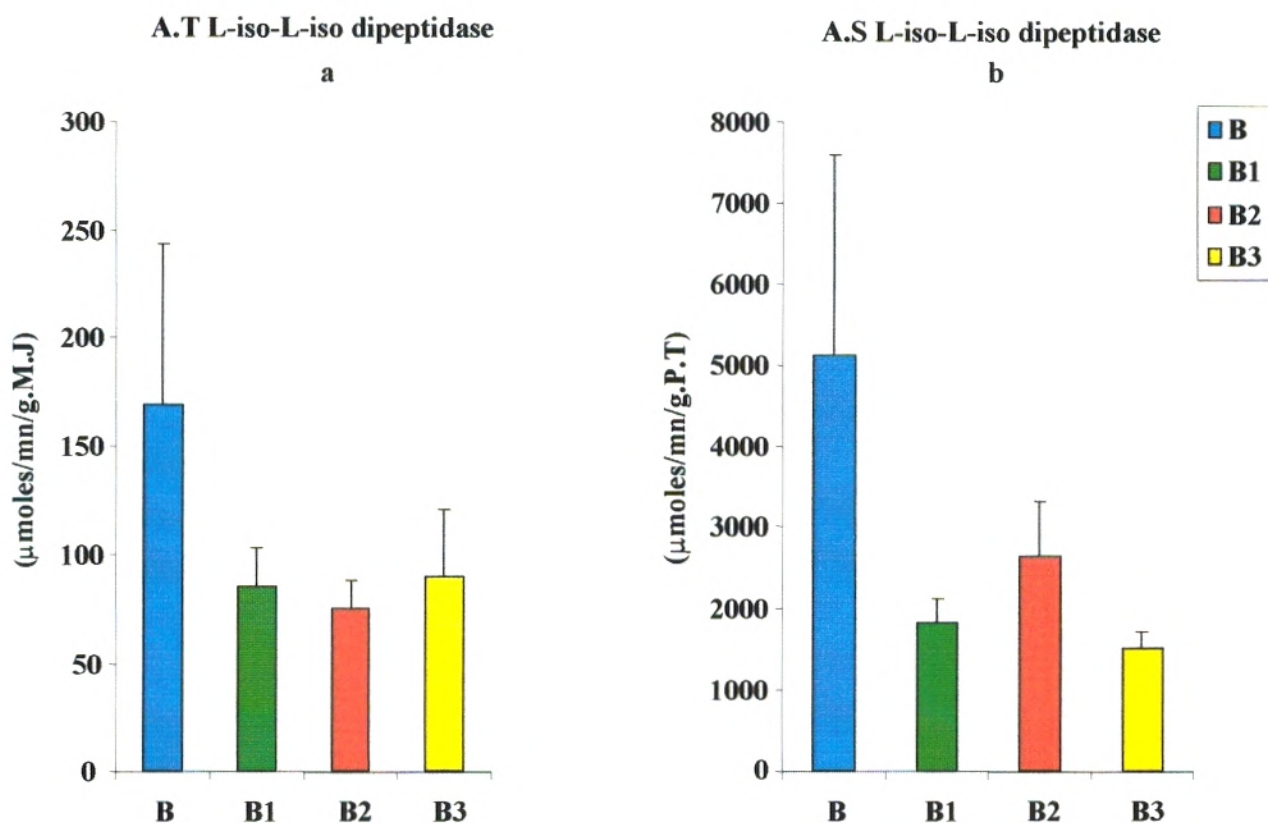


Figure 14: Activité enzymatique de la L-isoleucyl-L-isoleucine (L-iso-L-iso) dipeptidase mesurée sur des biopsies jéjunales de sujets cœliaques (n=16) en phase active de la maladie (B₁), puis en phase de guérison (B₂) comparée à celles des sujets témoins (B) (n = 9).

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm E.S.

Les moyennes sont comparées à l'aide du test "t" de Student entre :

(B₁) et (B₂) ; (B₁) et (B₃) * ; (B) et (B₁) ; (B) et (B₃) *.

(A.T.):Activité totale de la L-iso-L-iso dipeptidase exprimée en micromoles (μmoles) de dipeptide hydrolysé par minute (mn) et par gramme de muqueuse jéjunale (gM.J).

(A.S.):Activité spécifique de la L-gly-L-pro dipeptidase exprimée en micromoles (μmoles) de dipeptide hydrolysé par minute (mn) et par gramme de protéines totales de la muqueuse jéjunale (g P.T).

Nos résultats montrent que les activités totale (A.T.) et spécifique (A.S.) de la L-isoleucyl-L-isoleucine dipeptidase ne représentent aucune différence significative chez les sujets MC.

Tableau 4 : Analyse des coefficients de corrélation entre les paramètres biochimiques étudiés (protéines totales, disaccharidases, dipeptidases) et le rapport poids/taille (P/T) chez les sujets cœliaques (n = 16) en phase active de la maladie(B₁), puis en phase de guérison(B₃).

Caractéristiques : → ↓	P/T	
	B ₁	B ₃
P.T/P.M.J	Δ 0,14	-0,01
A.T. lactase	-0,03	-0,06
A.S. lactase	-0,06	-0,05
A.T. saccharase	-0,11	-0,11
A.S. saccharase	-0,09	-0,14
A.T. maltase	0,10	-0,10
A.S. maltase	-0,19	-0,26
A.T.L-gly-L-pro dipeptidase	0,09	-0,05
A.S.L-gly-L-pro dipeptidase	-0,08	-0,05
A.T.L-ala-L-pro dipeptidase	-0,40	-0,02
A.S.L-ala-L-pro dipeptidase	-0,15	0,03
A.T.L-iso-L-iso dipeptidase	0,01	-0,05
A.S.L-iso-L-iso dipeptidase	-0,10	-0,04

(Δ) : coefficient "r" de corrélation testé par le test "t" de Student.

Il n'existe aucune corrélation significative en phase active de la maladie (B₁). Il en est de même en phase de guérison (B₃).

Tableau 5 : Analyse des coefficients de corrélation entre les paramètres biochimiques étudiés (protéines totales, disaccharidases, dipeptidases) et le rapport poids/taille (P/T) chez les sujets de référence (B) (n = 9).

Caractéristiques : → ↓	B	
		P/T
P.T/P.M.J	Δ	0,78 ***
A. T. lactase		0,42
A.S. lactase		-0,29
A.T. saccharase		0,16
A.S. saccharase		-0,36
A.T. maltase		0,60 *
A.S. maltase		-0,33
A.T.L-gly-L-pro dipeptidase		0,32
A.S.L-gly-L-pro dipeptidase		-0,37
A.T.L-ala-L-pro dipeptidase		0,16
A.S.L-ala-L-pro dipeptidase		-0,52
A.T.L-iso-L-iso dipeptidase		0,25
A.S.L-iso-L-iso dipeptidase		-0,41

(Δ) : coefficient "r" de corrélation testé par le test "t" de Student.

Nos résultats montrent que les teneurs en protéines totales exprimées en mg/g de muqueuse jéjunale(PT/PMJ) et l'activité totale (A.T.) de la maltase sont corrélées positivement avec cet index anthropométrique.

*p<0,05 ***p<0,01.



DISCUSSION

DISCUSSION

1. Etude histologique :

Le diagnostic positif de la maladie cœliaque (MC) est fondé sur les données de la biopsie jéjunale qui révèlent généralement une atrophie villositaire sévère (totale ou subtotale), très rarement une atrophie partielle sous régime contenant du gluten (Laplane et al., 1977; Nikolov et al., 1982 ; Bret et Cuche, 1986).

Ceci est confirmé par les résultats de notre étude qui montrent en phase active de la maladie (B_1) : une atrophie villositaire totale (6 patients), subtotale (8 sujets) et partielle (2 patients).

Après $111,00 \pm 7,81$ jours de régime sans gluten (B_2), l'aspect histologique de la muqueuse jéjunale reste inchangé chez 6 sujets bien qu'une amélioration histologique est notée chez 10 patients.

En phase de guérison (B_3), c'est à dire après $261,00 \pm 10,62$ jours / B_2 , l'aspect histologique de la muqueuse jéjunale persiste encore chez 7 sujets. En revanche, la restriction au gluten entraîne un rétablissement de l'aspect histologique de la muqueuse jéjunale chez 9 patients.

Ceci indique que chez certains sujets, le régime instauré influe sur l'atrophie villositaire au cours de la première phase, mais reste sans effet en deuxième phase. Dans d'autres cas, le phénomène s'inverse et enfin il existe des cas avec des formes sévères qui sont extrêmement sensibles depuis l'institution du régime jusqu'à la phase de guérison. Cela signifie que la restriction au gluten améliore rapidement les lésions, mais, à chaque écart du régime bien suivi peut apparaître une réaction de résistance qui entraîne la persistance de l'atrophie villositaire chez ces malades. Ces résultats sont en accord avec ceux de nombreux auteurs notamment Hamburger et al., (1981), Rambaud et Bouhnik, (1992) et Schmitz (1996).

Par ailleurs, l'atrophie villositaire répond au régime sans gluten au cours des deux phases de restriction au gluten, ce régime entraîne une repousse villositaire favorable qui se traduit par une reprise des dimensions villositaires et une forme allant vers la normale. Cependant, compte tenu de la durée du régime instauré chez

ces malades, la réponse au traitement peut être très rapide chez certains sujets, alors qu'elle est plus tardive pour d'autres. Ces résultats confirment les données selon lesquelles le degré de récupération de l'épithélium intestinal est fonction de chaque individu, probablement en rapport avec sa constitution, sa génétique et d'autres facteurs (Perelman et al., 1979, Courpotin et al., 1982).

Ainsi, il est clair aussi que le régime sans gluten suivi au total chez ces malades pendant $372,00 \pm 7,01$ jours est très efficace chez 10 patients; cette efficacité s'exprime par une réparation histologique totale chez 1 sujet (muqueuse jéjunale normale) et une muqueuse jéjunale quasi normale (atrophie villositaire modérée) chez 9 sujets; ce qui confirme des travaux anciens comme ceux de Potet et al., (1974), Nikolov et al., (1982) et Cabanne et al., (1982) qui montrent que le régime sans gluten entraîne une repousse villositaire favorable mais jamais être totale, même si le régime est parfaitement suivi.

Il en est de même que l'amélioration de la muqueuse jéjunale est notée chez 5 autres patients sous régime d'exclusion, seulement elle n'est pas complète. De cela, nous déduisons que l'absence de réparation histologique totale pourrait être dû à des erreurs involontaires du régime, l'inacceptabilité du régime d'où une anorexie sévère, un déséquilibre alimentaire, la survenue d'une infection gastro-intestinale et une réaction de résistance au régime. De plus, il est plus difficile et lourd d'assurer un régime d'exclusion parfaitement équilibré et acceptable, surtout chez l'enfant d'âge scolaire.

De telles conclusions ont été signalées par de nombreux auteurs comme Dynskiklein, (1982) et Schmitz, (1996).

2. Etude anthropométrique :

En phase active de la maladie (B_1), 87,5% des sujets malades présentent une atteinte de la courbe staturo-pondérale (CSP) comparée à des données standards établies par Sempé et Pédrón, (1970). Ces résultats font état des mêmes observations citées par beaucoup d'auteurs comme (Perelman et al., 1979 ; Ferre et Courpotin, 1982 ; Girardet et al., 1982 et Patwari et al., 2003) qui montrent que les formes cliniques de la maladie cœliaque (MC) sont multiples parmi lesquelles

existe la forme classique qui se manifeste par des troubles digestifs accompagnés par une cassure de la CSP.

Parallèlement, 12,5 % des sujets malades ont une courbe staturo-pondérale normale. Résultats concordants avec les travaux de Gillis et al. (2001).

A ce propos, nous en concluons que les paramètres anthropométriques montrent que les sujets cœliaques présentent un retard staturo-pondéral important en phase active de la maladie.

L'épreuve thérapeutique démontre une évolution clinique rapidement favorable survenue chez 12,5% des cas qui reviennent à une courbe staturo-pondérale normale au bout de $111,00 \pm 7,81$ jours. Ces résultats confirment les travaux de Ferrier, (1984), qui montrent que l'exclusion de la gliadine est en règle générale, rapidement suivie d'un rattrapage staturo-pondéral favorable. L'enfant qui suit correctement le régime grandit et prend du poids normalement, ce dernier retrouve son poids et sa taille idéale entre 3 et 6 mois après le début du régime sans gluten.

Après $261,00 \pm 10,62$ jours de diète sans gluten / B₂, il se produit une récupération pondérale dans 12,5% des cas alors qu'elle est staturale chez 6,25% des cas. Ces résultats vont donc dans le même sens que ceux de Hermier et Descos, (1989) et Schmitz, (1996) qui montrent que le déficit en poids est plus marqué que le déficit en taille et dans ces conditions, l'enfant doit avoir atteint un poids et une taille normal après 6 mois à un an de traitement.

Quant aux cas restants, l'atteinte staturo-pondérale persiste chez 56,25% d'entre eux. Elle est uniquement staturale chez 12,5% des cas alors que celle du poids persiste seulement chez 6,25% des cas. Ces résultats sont en accord avec ceux de Hermier et Descos, (1989) et Khiati et al., (1991) qui montrent que lorsque le déficit statural est majeur, la courbe de poids se redresse plus progressivement et sa récupération met plus de temps dépassant 1 année. Parfois le retard statural est accru par la puberté ou bien il correspond à un retard de maturation globale. La correction de ce déficit statural est plus tardive, dépassant 2 ans de régime (Nelson et al., 1979 ; Hermier et Descos, 1989). Parfois l'évolution de la CSP est moins favorable obligeant le MC à une stricte observation d'un régime sans gluten et sans

interruption qui nécessite donc temps et efforts d'explications de la part des médecins, effort d'application et de compréhension de la part des parents puis des enfants, surtout à l'âge scolaire.

En fait, nous notons chez ces sujets présentant ces atteintes que les différences pour ces trois paramètres sont respectivement significatives lorsqu'on compare B_1 à B_3 ($p < 0,01$; $p < 0,02$ et $p < 0,01$).

De plus, Il est bien établi qu'une augmentation de 16% de l'index anthropométrique est notée en phase (B_3) par rapport à la phase (B_1). Ce qui explique que l'évolution de cet index montre une certaine récupération nutritionnelle chez les sujets cœliaques.

De cela, nous notons que l'exclusion de la gliadine entraîne une normalisation de la CSP chez certains sujets, alors que d'autres présentent un rattrapage staturo-pondéral favorable, mais n'atteignent pas les valeurs observées chez des sujets normaux.

A la lumière de ces constatations faites en période de restriction au gluten, il apparaît que la vitesse de croissance staturo-pondérale varie d'un individu à un autre, puisqu'il est probablement possible que plusieurs facteurs interviennent. D'autant plus, que ces résultats semblent indiquer qu'il n'existe pas de durée standard de la vitesse de croissance quant à la période de restriction au gluten.

Parallèlement, les 9 sujets formant le groupe témoin présentent une atteinte de la CSP dans 100% des cas comparée aux valeurs observées chez des sujets normaux. Ce retard est relié peut être à d'autres origines, endocriniennes et génétiques notamment.

3. Etude biochimique :

3.1. Quantité totale de protéines et MC :

A notre connaissance, il n'y a pas de travaux consacrés à la mesure des protéines totales chez des sujets cœliaques avant et après restriction au gluten. Cependant, à noter dans ce même contexte, qu'une seule étude réalisée par Mc Nicholl et al., (1976) chez 36 sujets cœliaques âgés de 5 à 14 ans, soumis de nouveau à une deuxième période de régime sans gluten sur une moyenne de 6 ans (3 à 11 ans). En fait, au cours de cette période de restriction au gluten, ces auteurs ont

montré les résultats de tous les paramètres retenus dans leur étude, à l'exception de celui concernant la mesure des taux de protéines totales chez les sujets cœliaques. Par ailleurs, les résultats de notre étude indiquent que les taux de protéines totales mesurées chez les patients cœliaques sont comparables durant les trois phases expérimentales; B₁, B₂ et B₃. Ces résultats montrent qu'il n'existe aucune relation entre les divers stades histologiques et les taux de protéines totales mesurées chez les sujets cœliaques durant les différentes phases.

3.2. Activité enzymatique des disaccharidases et MC :

Plusieurs auteurs ont rapporté que les enzymes disaccharidasiques sont surtout localisées dans la bordure en brosse des entérocytes de la muqueuse intestinale et qu'elles peuvent jouer un rôle important dans la digestion terminale et l'absorption des glucides (Schmitz, 1984 ; Delaunay, 1988 ; Lentze, 1988).

Nous avons limité notre travail à l'étude des activités de 3 disaccharidases membranaires qui sont : la lactase, la saccharase et la maltase. Elles sont suffisamment importantes pour donner une bonne idée de la capacité de l'intestin à hydrolyser les disaccharides.

A notre connaissance, très peu d'auteurs se sont penchés sur l'étude de l'activité enzymatique des 3 disaccharidases sus-citées, mesurées chez des sujets MC avant et après restriction au gluten.

Les résultats de notre étude montrent qu'au vu des anomalies histologiques observées chez nos sujets MC en phase active de la maladie (B₁), il n'est pas surprenant de trouver une activité enzymatique affectée mais de façon non significative de ces 3 disaccharidases au niveau de la bordure en brosse.

Nos résultats vont donc dans le même sens des données de la littérature qui rapportent en phase active de la maladie, l'existence d'un déficit enzymatique en disaccharidases et peptidases intestinales de sujets cœliaques (Hermier et Descos, 1989 ; Rambaud et Bouhnik, 1992 ; Schmitz, 1996). Des constatations semblables ont été signalées aussi par des auteurs comme (Sjostrom et al., 1981 ; Nikolov et al., 1982 ; Horvath et al., 1983 ; Andersen et al., 1983 a; Andersen et al., 1983 b; Bramble et al., 1985). Ainsi, selon Schmitz, (1996) l'atrophie villositaire diminue considérablement le nombre d'entérocytes matures, et les anomalies des entérocytes

eux-mêmes expliquent que les activités des enzymes de la bordure en brosse soient d'autant plus diminuées que l'atrophie est plus sévère.

De plus, des taux légèrement abaissés des activités lactasique et saccharasique ont été notés en période de restriction au gluten, mais de façon non significative.

Résultats discordants avec les données de la littérature et d'autres travaux selon lesquelles, il se produit en période de restriction au gluten, une évolution histologique accompagnée par une amélioration de l'équipement enzymatique notamment les disaccharidases et les peptidases (Sjostrom et al., 1981 ; Nikolov et al., 1982 ; Andersen et al., 1983 a; Bret et Cuhe, 1986 ; Rambaud et Bouhnik, 1992 ; Schmitz, 1996 ; Nieminen et al., 2001).

Contrairement, ces mêmes résultats sont en accord avec ceux de O'Grady et al. (1984) ainsi que de Mc Nicholl et al. (1976) qui notent des taux significativement abaissés des activités lactasiques et saccharasiques jéjunales chez 36 sujets cœliaques âgés de 5 à 14 ans qui étaient de nouveau soumis à une deuxième période de régime sans gluten sur une moyenne de 6 ans (3 à 11 ans). De ce fait, il semble que les anomalies histologiques mineures observées chez certains cas et la persistance du degré d'atrophie villositaire chez d'autres, s'accompagnent d'une diminution des capacités d'absorption et de digestion intestinales, ce qui explique dans notre étude la diminution non significative de l'activité des 2 disaccharidases.

En ce qui concerne la maltase, nous notons que les activités totale (A.T.) et spécifique (A.S.) de cette enzyme sont significativement augmentées respectivement en phase de guérison ; il en est de même lorsqu'on compare B₁ à B₃ ($p < 0,05$; $p < 0,001$). Ces résultats concordent avec les données de la littérature et d'autres travaux (Sjostrom et al., 1981 ; Nikolov et al., 1982 ; Bret et Cuhe, 1986; Rambaud et Bouhnik, 1992; Schmitz, 1996 ; Nieminen et al., 2001).

En phase de guérison, il est à noter que les activités totale (A.T.) et spécifique (A.S.) de cette enzyme sont environ 2 fois plus élevées chez les sujets cœliaques comparées à celles des témoins. Ces résultats suggèrent que cette augmentation des A.T et A.S de la maltase peut être induite fortement par un régime riche en glucides.

En conclusion, la maladie cœliaque ne semble pas affecter significativement l'activité enzymatique des disaccharidases.

3.3. Activité enzymatique des dipeptidases et MC :

De très nombreux auteurs rapportent que les phases finales de la digestion et de l'absorption intestinale des peptides présents en surface de l'entérocyte sont assurées par l'action d'un très grand nombre de peptidases membranaires et cytoplasmiques (Guyton, 1986 ; Lentze, 1988 ; Desjeux, 1996).

Notre travail est mené sur l'étude des activités de 3 dipeptidases jéjunales: la L-glycyl-L-proline (L-gly-L-pro) dipeptidase, la L-alanyl-L-proline (L-ala-L-pro) dipeptidase et la L-isoleucyl-L-isoleucine (L-iso-L-iso) dipeptidase. Le choix de dosage de ces 3 dipeptidases dépendra avant tout de la disponibilité des substrats correspondants (dipeptides).

Les erreurs standards des 3 enzymes étudiées mettent en évidence le fait que les différences interindividuelles sont beaucoup plus considérables chez les sujets témoins que chez les sujets cœliaques.

A notre connaissance, il y a peu d'études sur l'activité enzymatique des 3 dipeptidases sus-citées, mesurées chez des sujets MC avant et après restriction au gluten. Rambaud et Bouhnik, (1992) rapportent qu'en phase active de la maladie, aucun argument ne vient pour l'instant étayer l'hypothèse d'un déficit en peptidases intestinales. Ainsi, dans ce même contexte; aucune confirmation n'a été reçue jusqu'à présent en période de rémission sous régime sans gluten.

Nos résultats montrent qu'aucune modification significative n'est observée pour l'activité totale (A.T.) des 3 enzymes étudiées durant les 3 phases; B₁, B₂ et B₃. Par ailleurs, les activités spécifiques (A.S.) de la L-iso-L-iso dipeptidase ne représentent aucune différence significative chez les sujets MC. En revanche, les activités spécifiques (A.S.) des 2 autres enzymes sont significativement diminuées en phase active de la maladie (B₁) ($p < 0,05$). Ces activités augmentent en période de restriction au gluten ($p < 0,05$).

Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature sus-citées lors de la phase active de la maladie et après restriction au gluten (Bret et Cuche, 1986 ; Hermier et Descos, 1989 ; Rambaud et Bouhnik, 1992 ; Schmitz, 1996).

Brasseur et al., (1992) rapportent aussi dans leur étude que lors de la phase active de la maladie, plus l'atrophie était importante ; plus l'activité enzymatique était basse.

De cela, nous notons une nette corrélation entre les activités des 3 enzymes mesurées chez nos sujets MC et les divers stades histologiques obtenus lors de la phase active de la maladie. Donc, il semble que ces anomalies histologiques observées en phase active de la maladie s'accompagnent d'une diminution des capacités d'absorption et de digestion intestinales, ce qui explique dans notre étude la diminution de l'activité des 3 dipeptidases étudiées et seraient donc un facteur important contribuant aux altérations de la perméabilité intestinale aux macromolécules.

De l'ensemble des résultats que nous venons d'analyser, il est important de conclure que :

L'activité des dipeptidases diminue significativement en phase active de la maladie suggérant une atteinte probablement partielle des processus de la digestion enzymatique au niveau de l'épithélium intestinal. Le régime d'exclusion institué chez nos sujets MC, aboutit à la réparation des lésions histologiques accompagnée par une amélioration de l'équipement enzymatique en peptidases intestinales.



CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Au cours de ce travail, nous avons cherché chez une population de sujets MC, si il existe une modification des activités enzymatiques de trois disaccharidases (lactase, saccharase, maltase) et de trois dipeptidases (L-glycyl-L-proline dipeptidase, L-alanyl-L-proline dipeptidase, L-isoleucyl-L-isoleucine dipeptidase). Ce travail est complété par une étude histologique et anthropométrique chez les mêmes sujets MC pendant la phase active de la maladie et après restriction au gluten.

A la lumière de l'étude histologique, il apparaît que le degré de récupération de l'épithélium intestinal est fonction de chaque individu, probablement en rapport avec sa constitution, sa génétique et d'autres facteurs. Nos résultats montrent qu'il n'existe pas de durée standard quant à la période de restriction au gluten.

Les paramètres anthropométriques nous ont permis d'apprécier l'état nutritionnel des sujets cœliaques. Selon ces critères, les sujets cœliaques présentent un retard staturo-pondéral important, indicateur d'une dénutrition précoce en phase active de la maladie. En période de restriction au gluten, il apparaît que la vitesse de croissance staturo-pondérale varie d'un individu à un autre, puisqu'il est probablement possible que plusieurs facteurs interviennent tels que l'âge de l'individu, sa constitution, sa génétique, le niveau socio-économique des parents, le niveau culturel, les facteurs écologiques. Il ne faut pas oublier la non observance stricte du régime sans gluten, qui est la raison la plus fréquente de l'absence d'un résultat clinique favorable. Nos résultats semblent indiquer qu'il n'existe pas de durée standard de la vitesse de croissance quant à la période de restriction au gluten.

Les taux de protéines totales mesurées chez les patients cœliaques étaient comparables durant les trois phases expérimentales : B₁, B₂ et B₃.

Parallèlement, la maladie cœliaque ne semble pas affecter significativement l'activité enzymatique des disaccharidases. En revanche, l'activité des dipeptidases diminue significativement en phase active de la maladie suggérant une atteinte probablement partielle des processus de la digestion enzymatique au niveau de l'épithélium intestinal.

Il paraît plus probable que la gliadine est un facteur d'environnement qui n'est pas toxique directement; elle doit d'abord modifier le système immunitaire du tissu. Le complexe formé dans l'entérocyte interagit avec d'autres facteurs immunologiques. Cette interaction conduirait à des lésions histologiques (atrophie villositaire et hyperplasie des glandes de Lieberkühn). Il est possible qu'une anomalie constitutionnelle de la membrane villositaire conduisant à l'absorption anormale de la gliadine ou de l'un de ses produits de dégradation induisant la réaction immunologique nocive (Rimbaud et Bouhnik, 1992; Greco et Ciccarelli, 1994; Schmitz, 1996).

Il faut retenir que c'est le mode de réaction immunologique qui est génétiquement anormal face à la gliadine et à ses produits de dégradation (Hermier et Descos, 1989; Navarro, 1991). Parmi les facteurs immunologiques en cause, figurent les lymphocytes intra-épithéliaux, les macrophages et un certain nombre de cytokines tels que l'interleukine 2, l'interleukine 6, l'interféron γ et surtout le TNF α (tumor necrosis factor α). L'existence de perturbations de l'immunité humorale et surtout cellulaire est évidente, mais sa place, primitive ou secondaire, dans la genèse de la maladie, reste à établir (Rimbaud et Bouhnik, 1992; Greco et Ciccarelli, 1994; Schmitz, 1996).

A cet égard, nous espérons poursuivre nos recherches dans ce domaine par l'étude de la cytokine TNF α dans le but de vérifier son implication ou non dans l'altération de la barrière épithéliale au cours de la maladie cœliaque.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ADAMS JL, LEICHTER J.** Effect of protein deficient diets with various amounts of carbohydrate on intestinal disaccharidase activities in the rat. *J Nutr* 1973; 103: 1716-22.
- AKHMEDOVA IM.** Some pathogenetic mechanisms of growth retardation in enzymopathy of the small intestine in children. *Lik Sprava* 2002; (8): 50-1.
- ANDERSEN KJ, SCHJONBY H, SKAGEN DW, HAGA HJ.** Enzyme activities in jejunal biopsy samples from patients with adult cœliac disease with and without steatorrhœa. *Scand J Gastroenterol* 1983 b; 18 (3): 365-8.
- ANDERSEN KJ, SCHJONBY H, SKAGEN DW.** Jejunal mucosal enzymes in untreated and treated cœliac disease. *Scand J Gastroenterol* 1983 a; 18 (2): 251-6.
- ATTAL C, PERELMAN R.** *Pédiatrie*. Paris Maloine sa Ed 1977: p48-52.
- BERNIER JJ.** Digestion et absorption. *Encycl Med Chir Glandes-Nutrition Paris* 1983; 2: 10351 A¹⁰ 1-24.
- BERNIER JJ.** Physiologie de la digestion chez l'homme normal et l'opéré du tube digestif. Paris Doin Ed 1984: p64-77.
- BLEICH MD, HOWARD L, BORO ES, MARVIN H, SLEISENGER MD, YOUNG S, KIM MD.** Seminars in Medicine. Protein digestion and absorption. *Med Clin North Am Boston* 1979; 300: N°12 659-63.
- BLUM JC, GAUTHIER A, GUILLAUMIN S.** Variations of intestinal maltase and sucrase activities in chicks according to age and diet. *Ann Biol Anim Bioch Biophys* 1979; 19 (3B): 807-12.
- BOIGE V, BOUHNİK Y, DELCHIER JC, JIAN R, MATUCHANSKY C, ANDRE C.** IgA class anti-endomysium and anti-reticulín antibodies in cœliac adults followed at Paris. *Gastroenterol Clin Biol Paris Masson Ed* 1996; 20: 931-37.
- BONNEMAISON M, JOLY CH, BABINET M.** *Pédiatrie*. Pathologie de l'enfant, techniques de soins, index thérapeutique. Dossiers médico-chirurgicaux de l'infirmière. Fascicule 18 2^{ème} partie Paris Maloine sa Ed 1981: p39-40.
- BOUDJEMA A, ZELIZESWSKI D, DJOULAH S, BOUDRAA G, HAKEM S, MEDJAOUI I, HORS J, STERKERS G, TOUHAMI M, BENHAMAMOUCHE S.** Etude de l'association HLA-maladie cœliaque dans l'ouest Algérien. *J Pediatr Gastroenterol Nutr Marseille* 1994; Chp 2 p115.
- BRADFORD MM.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of proteins utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72: 248-54.
- BRAMBLE MG, ZUCOLOTO S, WRIGHT NA, RECORD CO.** Acute gluten challenge in treated adult cœliac disease: a morphometric and enzymatic study. *Gut* 1985; 26 (2): 169-74.
- BRASSEUR D, GOYENS PH, VIS HL.** Intestinal mucosa enzymes and histologic features in breast-fed African infants. *Ann Pediatr Paris* 1992; 39: N°2 87-93.

BRET P, CUCHE C. Etude radiologique de la malabsorption et des jéjunoléoopathies diffuses. *Encycl Med Chir Radiodiagnostic IV Paris* 1986; 2: N°16 33340 B¹⁰ 1-3.

CABANNE F, BONENFANT JL, GAGNE F, GARNEAU R, JEAN C, LAUMONIER R, ORCEL L, PAGES A. Anatomie pathologique. Principes de pathologie générale et spéciale. Paris Maloine sa Ed 1982: p786-9.

CAILLAT-ZUCMAN S, DJILALI-SALAH I, SCHMTZ J, TIMSIT J, BACH JF. HLA-DM polymorphism analysis in cœliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995; 20: 476 (résumé).

CHEVREAU J, BELLOT J, CABANIER MJ. Formulaire de techniques histologiques. Paris Maloine sa Ed 1977: p113-6.

CORAZZA GR, DI SARIO A, SACCO G, ZOLI G, TREGGIARI EA, BRUSCO G, GASBARRINI G. Subclinical cœliac disease: an anthropometric assessment. *J Intern Med* 1994; 236 (2): 183-7.

COURPOTIN CH, FERRE P, GIRARDET JP, LE BARS MA. Alimentation de l'enfant malade. Paris Flammarion Médecine-Sciences 1982: p24-42.

CRABTREE JE, HEATLEY RV, LOSOWSKY ML. Immunoglobulin secretion by isolated intestinal lymphocytes: Spontaneous production and T-cell regulation in normal small intestine and in patients with cœliac disease. *Gut* 1989; 30: 347-54.

DAHLQUIST A. Assay of intestinal disaccharidases. *Enzym Biol Clin* 1970; 11: 52-66.

DAS M, RADHAKRISHNAN AN. A comparative study of the distribution of soluble and particulate glycyl-L-leucine hydrolase in the small intestine. *Clin Sci and Mol Med* 1974; 46: 501-10.

DE LUCA F, ASTORI M, PANDULLO E, SFERLAZZAS C, ARRIGO T, SINDONI A, MAGAZZU G. Effects of a gluten-free diet on catch-up growth and height prognosis in cœliac children with growth retardation recognized after the age of 5 years. *Eur J Pediatr* 1988; 147 (2): 188-91.

DE RITIS G, AURICCHIO S, JONES HW, LEW E JL, BERNARDIN JE, KASARDA DD. In vitro (organ culture) studies of the toxicity of specific A-gliadin peptides in celiac disease. *Gastroenterology* 1988; 94: 41-9.

DELAUNAY J. Le métabolisme des glucides. *Biochimie Paris Hermann Ed* 1988; 11: N°6060 402-3.

DELOBETTE H, FRIRY A, PLEWNIAK F, EGLY JM. Le dosage des protéines. *Le technoscope de biofutur Strasbourg* 1991; N° 41 3-11.

DESJEUX JF, SARRUT S, MACHINOT S, BALTAKSE V, CHEVROT M. La maladie cœliac. Intolérance permanente au gluten. *La vie médicale* 17 1977; 2: 1471-86.

DESJEUX JF, TOUHAMI M. Alimentation, génétique et santé de l'enfant. *Santé et Sciences Humaines Paris L'harmattan* 1994: 1-272.

DESJEUX JF. Digestion et absorption. *Encycl Med Chir Endocrinologie-Nutrition (Elsevier, Paris)* 1996; 10-351-A-10: 19p.

- DESPRES P.** Pédiatrie. Paris Doin Ed 1980; p130-5.
- DJILALI-SAIAH I, CAILLAT-ZUCMAN S, SCHMITZ J, CHAVES-VIEIRA ML, BACH JF.** Polymorphism of antigen processing (TAP, LMP) and HLA class II genes in celiac disease. *Human Immunol* 1994; 40: 8-16.
- DOI E, SHIBATA D, MATOBA T.** Modified colorimetric ninhydrin methods for peptidase assay. *Anal Biochem* 1981; 118: N°2 173-84.
- DRUT R, RUA EC.** The histopathology of pediatric celiac disease: order must prevail out of chaos. *Int J Surg Pathol* 2001; 9 (4): 261-4.
- DYNSKI KLEIN M.** Atlas en couleurs de pédiatrie. Paris Maloine sa Ed 1982: p175-80.
- FERRE P, COURPOTIN C.** Vomissements de l'enfant. *Encycl Med Chir Pediat Paris* 1982; 3: 4014G¹⁰ 4-5.
- FERRIER PE.** Précis de pédiatrie. Gastroenterol Paris Doin Ed 1984; Chp10 p229-62.
- FONTAINE JL.** La biopsie de l'intestin grêle chez l'enfant. *La médecine infantile. Gastroenterol Nutr Pediat Paris* 1989; N°8 655-8.
- GILLIS D, SHTEYER E, LANDAU H, GRANOT E.** Celiac disease and short stature-not always cause and effect. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2001; 14 (1): 71-4.
- GIRARDET J-PH, COURPOTIN CH, PICHEROT G, BERGER JP, STERU D.** Pédiatrie générale. Collection de l'infirmière. Fascicule 2 Paris Vigot Ed 1982: p19-28.
- GRECO L, CICCARELLI P.** Etiopathogénie de la maladie cœliaque. Rôle de l'allaitement maternel. *J Pediatr Gastroenterol Nutr Italie* 1994; Chp2 p105-14.
- GRENIER B, LEBRANCHU Y, MARCHAND S, NIVET H, ROLLAND JC.** Pédiatrie en poche. Paris Doin Ed 1985: p60-71.
- GUYTON AC.** Traité de physiologie médicale. Les processus de digestion et d'absorption du tube digestif. Paris Doin Ed 1986; 65: 798-809.
- HAMBURGER J, MERY J-PH, LEPORRIER M.** Guide de pratique médicale. Petite Encycl Med Paris Flammarion et Cie Ed 1981; N°9427 304-5.
- HERMIER M, DESCOS B.** Les diarrhées chroniques du nourrisson et de l'enfant. *Encycl Med Chir Gastroenterol Pediat Paris* 1989; 2: N°16 4014P¹⁰ 8-10.
- HORVATH K, HORN G, BODANSZKY H, TOTH K, VARADI S.** disaccharidases in celiac disease. *Acta Paediatr Hung* 1983; 24 (2): 131-6.
- ITZKOWITZ S, LENNETT-CLARK S, ROSENSWEIG NS.** Rat proximal small intestinal glycolytic enzyme activities adapt to ileal glucose perfusion. *Gastroenterology* 1975; 71: 295-8.
- JOHNSON AO-K.** Effect of dietary protein quality and carbohydrate quantity on the activity of intestinal disaccharidases in wistar rats. *Scand J Gastroenterol* 1980; 15: 219-24.
- JOSEFSSON L, LINDBERG T.** Intestinal dipeptidases. II-Distribution of dipeptidases in the small intestine of the pig. *Biochim Biophys* 1965; 105: 162-6.

- JOSEFSSON L, LINDBERG T.** Intestinal dipeptidases. III-Characterization and determination of dipeptidase activity in adult rat intestinal mucosa. *Biochim Biophys* 1966; 66: 410-8.
- KHIATI M, SARI M, ARRADA M.** L'essentiel en pédiatrie. Tome II Alger ENAL Ed 1991; Chp 8,9 et 10 p61-87.
- KILANDER AF, DOTEVALL G, FÄLLSTRÖM SP, GILLBERG RE, NILSSON LÄ TARKOWSKI A.** Evaluation of gliadin antibodies for detection of coeliac disease. *Scand J Gastroenterol* 1983; 18: 377-83.
- KILANDER AF, NILSSON LÄ, GILLBERG R.** Serum antibodies to gliadin in coeliac disease after gluten withdrawal. *Scand J Gastroenterol* 1987; 22: 29-34.
- KIM YS, Mc CARTHY DM, LANE W, FONG W.** Alterations in the levels of peptide hydrolases and other enzymes in brush border and soluble fractions of rat small intestinal mucosa during starvation and refeeding. *Biochem biophys Acta* 1973; 32: 262-72.
- KIMURA T, SETO A, YOSHIDA A.** Effect of diets on intestinal disaccharidases and leucine aminopeptidase activities in refed rats. *J Nutr* 1978; 108: 1087-97.
- KOZAK EM, TATE SS.** Glutathione-degrading enzymes of microvillus membranes. *J Biol Chem* 1982; 257 (11): 6322-7.
- KRISHNA 1979. In: MEZEMAZE F.** Hydrolyse de la glycine-L-leucine et de la glycine-L-proline par les peptidases intestinales chez le jeune rat, au cours d'une malnutrition protéique suivie d'une réalimentation équilibrée. Thèse de Magister 1997: p1-71.
- LAPLANE R, ETIENNE M, LASFARGUES G, GRAVELEAU D, LEPERCQ G, POLONOVSKI C.** Abrégé de pédiatrie Paris Masson Ed 1977: p202-7.
- LENTZE MJ.** Physiology of human intestinal disaccharidases. *Clin Gastroenterol Suisse* 1988: 63-9.
- MADARA JL, TRIER JS.** The functional morphology of the mucosa of the small intestine. New York Raven Press 1994: 1577-616.
- MAROUX S, FERACCI M, GORVEL JP, GAERTNER H, PINGSERVER A.** Hydrolases intestinales : Adaptations nutritionnelles (sous presse) 1981.
- MARVIN et al 1979. In: MEZEMAZE F.** Hydrolyse de la glycine-L-leucine et de la glycine-L-proline par les peptidases intestinales chez le jeune rat, au cours d'une malnutrition protéique suivie d'une réalimentation équilibrée. Thèse de Magister 1997: p1-71.
- MASCART-LEMONE F.** Dépistage sérologique de la maladie cœliaque: quel test utiliser ? *Acta Gastroenterol Belg* 1996: 929-30.
- Mc CANCE et al 1970. In: CHEKROUN A.** Comportement des disaccharidases intestinales chez le jeune rat au cours d'une malnutrition protéique (2% de caséine) suivie d'une réalimentation équilibrée (15% de caséine). Thèse de Magister 1983: p1-78.

- Mc CARTHY DM, NICHOLSON JA, KIM YS.** Alterations in enterokinase trypsin and alkaline phosphatase in response to variation in dietary protein content in the rat. *J Lab Clin Med* 1977; 89: 72-9.
- Mc NICHOLL B, EGAN MITCHELL B, STEVENS F, KEANE R, BAKER S, Mc CARTHY CF, FOTTRELL PF.** Mucosal recovery in treated childhood celiac disease. Gluten sensitive enteropathy. *Journal of Pediatrics* 1976; 89: 418-24.
- MEIJER JW, WAHAB PJ, MULDER CJ.** Small intestinal biopsies in celiac disease: duodenal or jejunal ? *Virchows Arch* 2003; 442 (2): 124-8.
- MERCER J, EAGLES ME, TALBOT IC.** Brush border enzymes in celiac disease: histochemical evaluation. *J Clin Pathol* 1990; 43 (4): 307-12.
- MOUGENOT JF.** Genetic factors of celiac disease. *Excerpta Medica Amsterdam* 1988; 4: 26-38.
- MURRAY IA, SMITH JA, COUPLAND K, ANSELL ID, LONG RG.** Intestinal disaccharidase deficiency without villous atrophy may represent early celiac disease. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36 (2): 163-8
- NAVARRO J.** Maladie cœliaque. Aspects pédiatriques. *Gastroenterol Paris Ellipses Ed* 1991: p506-8.
- NELSON WE, VAUGHAN VC, NICKAY RJ.** *Traité de pédiatrie.* Paris Doin Ed 1979; 1: 959-73.
- NICHOLSON JA, Mc CARTHY DM, KIM YS.** The responses of rat intestinal brush border and cytosol peptide hydrolase activities to variation in dietary protein content. *Clin Invest* 1974; 54: 890-8.
- NICHOLSON JA, PETERS TJ.** Subcellular distribution of hydrolase activities for glycine and leucine homopeptides in human jejunum. *Clin Sci Mol Med* 1973; 54: 205-7.
- NIEMINEN U, KAHRI A, SAVILAHTI E, FARKKILA MA.** Duodenal disaccharidase activities in the follow-up of villous atrophy in celiac disease. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36 (5): 507-10.
- NIKOLOV NP, STOINOV S, KRUSTEV, SAVOV G, SLAVOVA E.** Gluten enteropathy-epidemiologic, clinical, morphologic and enzymatic study. *Vutr Boles* 1982; 21(6): 13-21.
- NOIROT S, OUAGUED M, GIRARD-GLOBA A.** Comparative effects of some carbohydrates on serum sugars, triglycerides and digestive hydrolases. *Reprod Nutr Develop* 1981; 21(5A): 727-35.
- OBERHUBER G.** Histopathology of celiac disease. *Biomed Pharmacother* 2000; 54 (7): 368-72.
- O'GRADY JG, STEVENS FM, KEANE R, CRYAN EM, EGAN-MITCHELL B, MC NICHOLL B, MC CARTHY CF, FOTTRELL PF.** Intestinal lactase, sucrase, and alkaline phosphatase in 373 patients with celiac disease. *J Clin Pathol* 1984; 37 (3): 298-301.
- OLEINIK VM.** Distribution of digestive enzyme activities along intestine in blue fox, mink, ferret and rat. *Comp Biochem Physiol* 1995; 112(1): 55-8.

OLIVES JP, BAUDON JJ, DABADIE A, FONTAINE JL, LAMIREAU T, MORALI A et al. Anticorps antigliadine, anti-réticuline et anti-endomysium: Intérêt dans le diagnostic et le suivi de la maladie cœliaque chez l'enfant. *Arch Pediatr* 1994; 1: 181-5.

PAPADATOU B, FERRETTI F, COLOMBO AM, CRINO A, GIANNOTTI A, COLISTRO F, LUCIDI V, GAMBARARA M, CASTRO M. Les anticorps antigliadine de classe IgA (AGA-IgA) et anti-endomysium (EMA) chez les sujets atteints de S.Down (SD). *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1993; 16: 265.

PATWARI AK, ANAND VK, KAPUR G, NARAYAU S. Clinical and nutritional profile of children with celiac disease. *Indian Pediatr* 2003; 40 (4): 337-42.

PERELMAN R, DESBOIS J-CI, NATHANSON M. Pédiatrie pratique. Le nourrisson et l'enfant (suite). Tome II Paris Maloine sa Ed 1979: p2335-9.

POPINEAU Y, LE GUERROUE JL, PINEAU F. Purification and characterisation of omega gliadin components from common wheat. *Lebensm-wiss Technol* 1986; 19: 266-71.

POPINEAU Y, PINEAU F. Fractionation and characterisation of gamma gliadins from bread wheat. *J Cereal Sci* 1985; 3: 363-78.

POPINEAU Y. The physical chemistry of gluten. Relationship with the aetiology of cœliac disease. *Excerpta Medica Amsterdam* 1988; 4: 39-55.

POPOV B. On the possibilities of existence of enzymatic hydrolysis in the membranes themselves of the intestinal epithelial cells. *Acta Physiol Hung* 1995; 83(3): 259-65.

POTET F, BARGE J, MARTIN E, ZEITOUN P. Histopathologie du tube digestif. Collection d'histopathologie. Paris Masson et Cie Ed 1974: p89-121.

RAMBAUD JC, BOUHNİK Y. Maladie cœliaque: Données récentes. *Cah Nutr Diét* 1992; XXVII 4: 201-6.

RASTOGI M, MISRA RC, SRIVASTAVA PN, SARIN GS, CHUTTANI HK. Intestinal disaccharidases in primary protein malnutrition in adults. *Trop Geogr Med* 1974; 26: 133-6.

RAUL et al 1974. In: CHEKROUN A. Comportement des disaccharidases intestinales chez le jeune rat au cours d'une malnutrition protéique (2% de caséine) suivie d'une réalimentation équilibrée (15% de caséine). Thèse de Magister 1983: p1-78.

RAUL F, SIMON FM, KEDINGER M, GRENIER JF, HAFFEN K. Effects of sucrose refeeding on disaccharidase and aminopeptidase activities of intestinal villus and crypt cells in adult rats. *Biochim Biophys Acta* 1980; 630: 1-9.

RAWASHDEH MO, KHALIL B, RAWEILY E. Celiac disease in arabs. *J Pediatr Gastroenterol Nutr Jordan* 1996; 23: 415-8.

RENE H. Techniques d'histopathologie et de cytopathologie. Montréal Décarie Ed 1984: 139-56.

ROBINSON GB, SHAW B. The hydrolysis of dipeptides by different regions of rat small intestine. *Biochem J* 1960; 77: 351-6.

ROSENSWEIG NS. Dietary sugars intestinal enzymes. *Am J Diet Ass* 1972; 60: 483-6.

ROY C, MORIN C. Précis de pédiatrie. Gastroenterology Suisse Payot Ed 1984; Chp10 p257-62.

SAITO M, KATO H, SUDA M. Circadien rhythm of intestinal disaccharidases of rats fed with adiuurnal periodicity. *Am J Physiol* 1980; 238: 97-101.

SAITO M, SUDA M. Effects of diet on enzymes of the brush border of the small intestine and kidney of rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 1975; 21: 207-15.

SAPORTA G. Théories et méthodes de la statistique. Paris Technip Ed 1978; Chp VI p155-61.

SCHMITZ J. Digestion et absorption des protéines. *Gastroenterol Pediat Paris Flammarion Médecine-Sciences* 4^{ème} Ed 1991; 3: 26-38.

SCHMITZ J. Distinctive features of cœliac disease in children. *Gastroenterol Clin Biol Paris Masson Ed* 1996; 20: B42-B49.

SCHWARTZ D. Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. Paris Flammarion Médecine-Sciences 3^{ème} Ed 1977: p141-61.

SEMPE M, PEDRON G. Repères de la croissance staturo-pondérale. 2^{ème} Ed Paris 1970; 8: 120-7.

SJOSTROM H, NOREN O, KRASILNIKOFF PA, GUDMAND-HOYER E. Intestinal peptidases and sucrase in cœliac disease. *Clin Chim Acta* 1981; 109 (1): 53-8.

STENHAMMAR L, KILANDER AF, NILSON LA et al. Serum gliadin antibodies for detection and control of childhood cœliac disease. *Acta Pediatr Scand* 1984; 73: 657-63.

SUGIYAMA T, RAFALSKI A, SOLL D. The nucleotide sequence of a wheat gamma-gliadin genomic clone. *Plant Sci* 1986; 44: 205-9.

TATHAM AS, MIFLIN BJ, SHEWRY PR. The beta turn conformation in wheat gluten proteins relationship to gluten elasticity. *Cereal Chem* 1985; 62: 405-12.

TOBEY N, HEIZER WD, HEH R, HUANG TI, HOFFNER C. Human intestinal brush border peptidases. *Gastroenterol* 1985; 88: 913-26.

TOBEY NA, LYN-COOK LE, ULSHEN MH, HEIZER WD. Intestinal brush border peptidases: Activities in normal and abnormal peroral intestinal biopsy specimens. *J Lab Clin Med* 1986; 107: 221-7.

• **Sites consultés :**

- **NCBI :** <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

- **EDP Sciences portal :** <http://www.edpsciences.org/>



ANNEXE

FICHE DE RENSEIGNEMENTS

Utilisée pour le recueil des données pour chaque patient

Date d'hospitalisation dans le service : Motifs:
Nom: Prénom : Age : Sexe :
Date et lieu de Naissance : Adresse :
Date d'installation de la diarrhée :
Rang de Naissance (/aux enfants vivants) :
Existence de diarrhée chronique dans la famille :
Nombre de frères et sœurs décédés par : - diarrhée :
- autres :
Antécédents familiaux particuliers : Antécédents personnels :
Niveau socio-économique des parents : Niveau culturel :
Facteurs écologiques : Autres :
Association pathologies ou signes /M.C :
Durée de l'allaitement maternel :
Age de l'introduction du gluten :
Age à l'apparition des troubles digestifs après introduction du gluten :
Examen clinique :
Poids (P) : ; Taille (T) : ; P/T : ; P.C :
Symptomatologie :
Examens complémentaires :
1- Radiologie :
2- Biologie :
Sang :
Selles :
3- Muqueuse du grêle : • B.J : - N° : ; - Date d'effet :
- L'aspect à la loupe binoculaire :
- L'aspect histologique :
Age au moment du diagnostic de la M.C :
Date du régime institué :
Délai de normalisation du transit, de reprise de l'appétit et de
transformation de l'humeur de l'enfant après régime d'exclusion :
Muqueuse du grêle : • B.J : - N° : ; - Date d'effet :
- L'aspect à la loupe binoculaire :
- L'aspect histologique :
Poids (P) : ; Taille (T) : ; P/T : ; P.C :
Existence de troubles cliniques :
Muqueuse du grêle : • B.J : - N° : ; - Date d'effet :
- L'aspect à la loupe binoculaire :
- L'aspect histologique :
Poids (P) : ; Taille (T) : ; P/T : ; P.C :
Existence de troubles cliniques :
Date de guérison :



PARTICIPATION SCIENTIFIQUE

Evaluation des activités des disaccharidases et des dipeptidases dans la muqueuse jéjunale de sujets cœliaques.

MISSOURI M.¹, CHEKROUN A.², ABOUBEKER N.³, KHEROUA O.²

¹Faculté des Sciences, Université de Tlemcen. ² Faculté des Sciences, Université d'Oran.

³Faculté de Médecine, Université de Sidi Bel-Abbès.

1^{er} Congrès des Chercheurs et Universitaires Maghrébins en France (A.J.C.U.M.A.F). Hammamet (Tunisie) les 16,17 et 18 Novembre 1994. **Orale.**

La maladie cœliaque (MC) est une entéropathie caractérisée par une atrophie villositaire totale responsable d'une malabsorption due à une intolérance au gluten.

Le but de ce travail est de vérifier l'existence dans cette pathologie d'une altération des activités de trois disaccharidases (lactase, saccharase, maltase) et de trois dipeptidases (L-glycyl-L-proline dipeptidase, L-alanine-L-proline dipeptidase et L-isoleucyl-L-isoleucine dipeptidase).

Nous avons dosé les activités totales (AT) et spécifiques (AS) de ces enzymes sur des biopsies jéjunales prélevées dans un but diagnostique chez 16 sujets cœliaques âgés de $8,20 \pm 0,55$ ans ($X \pm ES$) en phase active de la maladie (B₁), après une phase de restriction au gluten (B₂) et en phase de guérison (B₃). Les résultats obtenus ont été comparés à ceux de 9 sujets de référence également biopsiés dans les mêmes conditions mais pour des raisons autres que la MC.

Les résultats ont été les suivants:

- Les taux de protéines totales mesurées chez les patients cœliaques étaient comparables durant les trois phases: B₁, B₂ et B₃.
- Chez les MC, seules les activités totale (AT) et spécifique (AS) de la maltase sont significativement augmentées respectivement en phase de guérison ($p < 0,05$; $p < 0,001$). Il en est de même lorsqu'on compare B₁ à B₃ ($p < 0,05$; $p < 0,001$).
- Aucune modification significative n'est observée pour l'activité totale des 3 dipeptidases durant les trois phases expérimentales. En revanche, les activités spécifiques de la L-glycyl-L-proline dipeptidase et de la L-alanine-L-proline dipeptidase sont significativement diminuées en phase active de la maladie ($p < 0,05$). Ces activités réaugmentent en période de restriction au gluten ($p < 0,05$).

En conclusion, nos résultats semblent indiquer que la MC n'affecte pas significativement l'activité enzymatique des disaccharidases. En revanche, l'activité des dipeptidases diminue significativement en phase active de la maladie suggérant une atteinte des processus de la digestion enzymatique au niveau de l'épithélium intestinal.

Mots clés : Maladie cœliaque ; Muqueuse intestinale ; Biopsie jéjunale ; Protéines.

Etude histologique de biopsies jéjunales de sujets cœliaques en phase active de la maladie et après restriction au gluten.

MISSOURI M.¹, CHEKROUN A.², ABOUBEKER N.³, TOU A.³, SAIDI D.², MEZEMAZE F.², KHEROUA O.²

¹Faculté des Sciences, Université de Tlemcen.² Faculté des Sciences, Université d'Oran.
³ Faculté de Médecine, Université de Sidi Bel-Abbès.

1^{er} Colloque des Sciences Fondamentales en Sciences Médicales. 24 Juin 1998. INESSM d'Oran. **Poster.**

Un des arguments du diagnostic positif d'intolérance au gluten est l'étude histologique en microscopie optique de la biopsie intestinale qui révèle en effet une atrophie sévère totale ou subtotale sous régime contenant du gluten.

Le but de notre travail est de réaliser une étude histologique de biopsies jéjunales prélevées dans un but diagnostique chez 16 malades cœliaques âgés de $8,20 \pm 0,55$ ans ($X \pm SE$). Les biopsies ont été effectuées à différents stades: en phase active de la maladie (B₁), après une période de restriction au gluten d'une durée de $111,00 \pm 7,81$ j (B₂) et durant la phase de guérison définitive (B₃), après $261,00 \pm 10,62$ j afin de s'assurer de la normalisation de la muqueuse intestinale.

Les fragments intestinaux sont fixés au Bouin aqueux, coupées et colorées à l'hémalun-éosine. Selon leur aspect, elles sont classées en cinq grades conformément à la classification de Matuchansky et al. (1970), Marche et al. (1972) et de Oberhuber. (2000).

Les résultats sont les suivants:

- En phase active de la maladie (B₁), nous observons une atrophie villositaire totale (grade V) chez 6 patients, une atrophie subtotale (grade IV) chez 8 sujets et une atrophie villositaire partielle (grade III) chez 2 patients.
- Après $111,00 \pm 7,81$ j de régime sans gluten, l'atrophie villositaire totale persiste chez 1 seul sujet. Chez 6 sujets, nous constatons une réparation de la muqueuse qui se traduit par une atrophie villositaire subtotale. Une atrophie villositaire partielle apparaît chez 6 autres sujets et enfin chez les 3 derniers sujets, nous observons une atrophie villositaire modérée.
- En fin de phase de guérison définitive (c'est à dire après $261,00 \pm 10,62$ j de diète sans gluten), l'histologie montre qu'un seul sujet présente une muqueuse normale alors qu'une atrophie villositaire subtotale est observée chez 2 sujets. Une atrophie villositaire partielle apparaît chez 4 sujets alors qu'une atrophie villositaire modérée persiste chez 9 sujets.

En conclusion et à la lumière de ces résultats, il apparaît que le degré de récupération de l'épithélium intestinal est fonction de chaque individu, probablement en rapport avec sa constitution, sa génétique et d'autres facteurs. Nos résultats montrent qu'il n'existe pas de durée standard quant à la période de restriction au gluten.

Mots clés : Histologie ; Biopsie ; Muqueuse intestinale ; Villosités ; Maladie cœliaque ; Gluten.

Etude anthropométrique chez les sujets cœliaques en phase active de la maladie et après restriction au gluten

MISSOURI M.¹, CHEKROUN A.², SAIDI D.², ABOUBEKER N.³, MEZEMAZE F.², KHEROUA O.²

¹Faculté des Sciences, Université de Tlemcen.² Faculté des Sciences, Université d'Oran.

³ Faculté de Médecine, Université de Sidi Bel-Abbès.

²^{ème} Colloque des Sciences Fondamentales en Sciences Médicales. 26 et 27 Mai 1999. INESSM d'Oran. **Poster.**

Un des arguments du diagnostic positif d'intolérance au gluten est l'étude clinique dont les principaux éléments évocateurs sont une cassure nette de la courbe de croissance staturo-pondérale (CSP). Le diagnostic de certitude de cette affection nécessite une épreuve thérapeutique confirmant l'amélioration de cette courbe sous l'action d'un régime gluténoprive.

Le but de ce travail est une étude anthropométrique permettant d'apprécier l'état nutritionnel de 16 malades cœliaques (MC) âgés de $8,20 \pm 0,55$ ans ($X \pm SE$) examinés en phase active de la maladie (B₁), en phase d'exclusion du gluten (B₂) et en phase de guérison (B₃). 2 indices nutritionnels, le poids et la taille ont été recueillis dans un but diagnostique chez ces sujets MC ainsi que chez 9 sujets hospitalisés pour des raisons autres que la MC et formant le groupe témoin. Les résultats obtenus chez les sujets MC sont comparés entre eux à l'aide du test (t) de Student. Les résultats sont les suivants :

- Le poids et la taille des sujets MC sont comparables durant les deux phases expérimentales : B₁ et B₂. En revanche, le rapport P/T est significativement augmenté en phase (B₂) par rapport à la phase (B₁) ($p < 0,05$).
- Les différences pour ces 3 paramètres deviennent respectivement significatives lorsqu'on compare B₁ à B₃ ($p < 0,01$; $p < 0,02$ et $p < 0,01$).

Si l'on considère les valeurs individuelles des différentes variables anthropométriques des sujets MC comparées à des données standards établies par Sempé et Pédrón (1970), on remarque :

- En phase (B₁), 87,5 % des sujets malades présentent une atteinte de la CSP.
- En phase (B₂), cette atteinte de la CSP persiste chez 75 % des cas.
- Enfin en phase (B₃), cette atteinte de la CSP persiste encore chez 56,25 % des cas.
- Parallèlement, les 9 sujets formant le groupe témoin présentent une atteinte de la CSP dans 100 % des cas comparée aux valeurs observées chez des sujets normaux (selon Sempé et Pédrón, 1970).

En conclusion et à la lumière de ces résultats, les sujets cœliaques présentent un retard staturo-pondéral important en phase active de la maladie. En période de restriction au gluten, il apparaît que la vitesse de croissance staturo-pondérale varie d'un individu à un autre, puisqu'il est probablement possible que plusieurs facteurs interviennent. Nos résultats semblent indiquer qu'il n'existe pas de durée standard de la vitesse de croissance quant à la période de restriction au gluten.

Mots clés : Maladie cœliaque ; Gluten ; Anthropométrie ; Intolérance.

RESUME

Le but de ce travail est de rechercher chez une population de sujets MC, l'existence d'une modification des activités enzymatiques de 3 disaccharidases et de 3 dipeptidases jéjunales en phase active de la maladie. Ce travail est complété par une étude histologique et anthropométrique des sujets MC en phase active de la maladie et après restriction au gluten.

25 sujets des deux sexes comprenant un groupe MC (n=16) et un groupe témoin (n=9) ont été inclus dans cette étude. Sur chaque sujet et dans un but diagnostique a été pratiquée une biopsie jéjunale par voie endoscopique qui a été divisée en 2 parties: un fragment pour l'étude histologique et l'autre pour une étude biochimique. Sont dosées les protéines totales, 3 disaccharidases (lactase, saccharase, maltase) et 3 dipeptidases (L-gly-L-pro dipeptidase, L-ala-L-pro dipeptidase, L-iso-L-iso dipeptidase). Les biopsies ainsi que les mesures anthropométriques des MC sont effectuées à différents stades: B₁, B₂ et B₃.

Les résultats obtenus montrent que:

- Les taux de protéines totales mesurées chez les sujets MC sont comparables durant les 3 phases expérimentales: B₁, B₂ et B₃. Les A.T et A.S de la lactase et de la saccharase ne présentent aucune différence significative chez les sujets MC. Aucune modification significative n'est observée pour l'A.T et A.S de la maltase en phase (B₁). En revanche, les A.T et A.S de cette enzyme sont significativement augmentées respectivement en phase (B₃) ($p < 0.05$; $p < 0.001$). Il en est de même lorsqu'on compare B₁ à B₃ ($p < 0.05$; $p < 0.001$). Aucune modification significative n'est observée pour l'A.T des 3 dipeptidases étudiées durant les 3 phases expérimentales: B₁, B₂ et B₃. Par ailleurs, les A.S de la L-iso-L-iso dipeptidase ne représentent aucune différence significative chez les sujets MC. En revanche, les A.S des 2 autres dipeptidases sont significativement diminuées en phase (B₁) ($p < 0.05$). Ces activités augmentent en période de restriction au gluten ($p < 0.05$).

- Les résultats de l'étude histologique montrent en phase (B₁): une atrophie villositaire totale (6 patients), subtotale (8 sujets) et partielle (2 patients). En phase (B₂), nous observons une atrophie villositaire totale (1 sujet), subtotale (6 sujets), partielle (6 sujets) et modérée (3 sujets). En phase (B₃), l'histologie montre une atrophie villositaire subtotale (2 sujets), partielle (4 sujets), modérée (9 sujets) et une muqueuse jéjunale normale (1 sujet).

- Les résultats de l'étude anthropométrique montrent qu'il n'y a pas de différence significative du poids et de la taille entre B₁ et B₂. En revanche, le rapport P/T est significativement augmenté en phase B₂ ($p < 0.05$). Les différences pour ces paramètres deviennent significatives lorsqu'on compare B₁ à B₃ ($p < 0.05$; $p < 0.02$; $p < 0.01$). Comparées à des données individuelles standards des sujets normaux établies par Sempé et Pédrón (1970), on remarque qu'en phase (B₁), 87,5% des sujets malades présentent une atteinte de la courbe staturo-pondérale. En phase (B₂), l'atteinte de cette courbe persiste chez 75 % des cas. Enfin, en phase (B₃), l'atteinte de cette courbe persiste encore chez 56,25 % des cas.

En conclusion, la MC ne semble pas affecter significativement l'activité enzymatique des disaccharidases. L'activité des dipeptidases diminue significativement en phase active de la maladie suggérant une atteinte probablement partielle des processus de la digestion enzymatique au niveau de l'épithélium intestinal. A la lumière des études histologique et anthropométrique, il apparaît que le degré de récupération de l'épithélium intestinal et la vitesse de croissance staturo-pondérale sont fonctions de chaque individu, probablement en rapport avec sa constitution, sa génétique et d'autres facteurs. Il n'existe pas de durée standard de ces 2 paramètres quant à la période de restriction au gluten.

Mots clés : maladie cœliaque, disaccharidases, dipeptidases, biopsie jéjunale, anthropométrie.