

Université de Montréal

**FACTEURS GÉNÉTIQUES DE PRÉDISPOSITION A LA
MALADIE COELIAQUE ET L'OESOPHAGITE
ÉOSINOPHILIQUE**

Par
Freha Nour el Hayet CHERIEF

Département de Microbiologie et Immunologie
Faculté de Médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de Maîtrise
en Microbiologie et Immunologie

Novembre 2012

© Freha Nour el Hayet CHERIEF, 2012

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

**FACTEURS GÉNÉTIQUES DE PRÉDISPOSITION A LA
MALADIE COELIAQUE ET L'OESOPHAGITE
ÉOSINOPHILIQUE**

Présenté par :
Freha nour el hayet CHERIEF

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Ali Ahmad
Président-rapporteur

Idriss Djilali-Saïah
Directeur de recherche

Cristophe Faure
Membre du jury

Résumé

Les maladies immunitaires chroniques incluant les maladies auto-immunes et inflammatoires touchent 20 à 25% de la population des pays occidentaux. La comparaison des taux de concordance chez les jumeaux ou l'histoire familiale de sujets atteints de la maladie cœliaque (maladie auto-immune de l'intestin) ou de l'œsophagite éosinophilique (maladie inflammatoire de l'œsophage) indiquent que des facteurs génétiques et environnementaux interviennent dans la susceptibilité à ces maladies. Cependant, ces études ne distinguent pas de manière claire la prédisposition génétique selon l'hétérogénéité clinique (enfants versus adultes) ou ethnique (stratification des populations).

Méthodes. Les haplotypes HLA de prédisposition à la maladie cœliaque et les polymorphismes des gènes candidats IL-13 (R130Q), IL-5 (-746 T/G) et IL-5R (-80A/G) impliqués dans la physiopathologie de l'œsophagite éosinophilique, ont été caractérisés par la technique PCR-SSP sur l'ADN génomique.

Résultats: Nos études familiales et cas-contrôles réalisées chez une population Québécoises avec un fond génétique très homogène nous a permis : i) d'éviter le problème de stratification des populations, ii) de confirmer que les gènes HLA sont également associés à la maladie cœliaque (enfants et adultes) au Québec comme dans les autres populations Caucasiennes, iii) de mettre en évidence le rôle du gène IL-13 dans la prédisposition à l'œsophagite éosinophilique (garçons et filles) et d'exclure les gènes IL-5 et IL-5R comme facteurs de susceptibilité dans notre population.

Conclusion: Ce travail confirme pour la première fois l'impact des gènes HLA dans la prédisposition à la maladie cœliaque et le rôle du facteur génétique dans l'œsophagite éosinophilique chez une population Canadienne Française avec un fond génétique ayant un fort effet fondateur.

Mots-Clés

Maladies immunitaires, Maladies auto-immunes, Maladies inflammatoires (MI), Maladie cœliaque (MC), HLA –II, Œsophagite à éosinophile (OE).

Abstract

Chronic immune diseases including autoimmune and inflammatory diseases affect 20 to 25% of Western country population. The higher concordance of disease in twins or in first-degree relative of patients with celiac disease (bowel autoimmune disease) or eosinophilic esophagitis (inflammatory disease of the esophagus) indicate that genetic and environmental factors are involved in susceptibility to these diseases. However, these studies do not distinguish clearly genetic predisposition according to clinical heterogeneity (children versus adults) or ethnicity (population stratification).

Methods: HLA haplotypes predisposing to celiac disease and polymorphisms of candidate genes IL-13 (R130Q), IL-5 (-746 T / G) and IL-5R (-80A / G) involved in physiopathology of eosinophilic esophagitis, have been evaluated by PCR-SSP on genomic DNA.

Results: Our familial and case-control studies performed in populations having a very similar genetic background with a strong founder effect, allowed us: i) to avoid the problem of population stratification, ii) to confirm that HLA genes are also associated with celiac disease in Quebec (children and adults) as in other Caucasian populations, iii) to identify the role of IL-13 gene in susceptibility to eosinophilic esophagitis (boys and girls) and to exclude IL-5 and IL-5R genes as susceptibility factor in our population.

Conclusion: This study confirms for the first time the impact of HLA genes in predisposition to celiac disease and the role of genetic factors in eosinophilic esophagitis in a French Canadian population with a strong founder effect.

Keywords

Immune diseases, auto-immune diseases, inflammatory diseases, Celiac disease (CD), HLA-II, Eosinophilic esophagitis (OE).

Table des matières

Résumé.....	ii
Abstract.....	iii
Table des matières	iv
Liste des figures.....	vii
Liste des tableaux.....	viii
Liste des abréviations.....	x
Remerciements	xii
Dédicace	xiii
1. Littérature	1
1.1 Introduction	1
1.1.1 Les réponses immunitaires.....	1
1.1.1.1 L'immunité spécifique	3
1.1.2 Le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH).....	5
1.1.3 Maladie immunitaire	7
1.1.3.1 Maladies inflammatoires.....	7
1.1.3.2 Maladies auto-immunes	8
1.2 Maladie cœliaque.....	10
1.2.1 Historique de la maladie cœliaque	10
1.2.2 Épidémiologie de la maladie cœliaque	11
1.2.3 Les caractéristiques cliniques de la maladie cœliaque.....	14
1.2.4 Maladies associées.....	15
1.2.5 Formes de la maladie cœliaque.....	17
1.2.5.1 La maladie cœliaque typique	17
1.2.5.2 La maladie cœliaque atypique.....	17
1.2.5.3 La maladie cœliaque silencieuse.....	17
1.2.5.4 La maladie cœliaque potentielle.....	17
1.2.6 Diagnostique de la maladie cœliaque	19
1.2.6.1 Tests sérologiques.....	19
1.2.6.2 Tests histologiques.....	20

1.2.7 Génétique de la maladie cœliaque.....	21
1.2.7.1 Gènes HLA	21
1.2.7.2 Gènes non CMH (non-HLA).....	23
1.2.8 Physiopathologie de la maladie cœliaque.....	24
1.3 Œsophagite à éosinophile.....	27
1.3.1 Historique de la maladie.....	27
1.3.2 Épidémiologie de l'OE.....	28
1.3.3 Les caractéristiques Clinique de l'OE.....	28
1.3.4 Génétique de l'OE.....	29
1.3.5 Physiopathologie de l'OE.....	31
1.4 Objectif	34
2. Matériel et Méthodes	35
2.1 Sujets.....	35
2.1.1 Maladie cœliaque.....	35
2.1.2 Œsophagite à éosinophile	35
2.2 Méthodes	36
2.2.1 Extraction de l'ADN	36
2.2.2 Génotypage des gènes candidats.....	37
2.2.2.1 Génotypage des gènes HLA	37
2.2.2.2 Étude du polymorphisme des gènes IL13, IL5 et IL 5R ...	41
2.2.2.2.1 Polymorphisme de l'IL13.....	41
2.2.2.2.2 Polymorphisme de l'IL5.....	41
2.2.2.2.3 Polymorphisme de l'IL5-R	42
2.3 Études statistiques	43
3. Résultats.....	45
3.1 Maladie Cœliaque	45
3.1.1 Étude cas-contrôle des gènes HLA -DQ2 et DQ8	46
3.1.2 Étude intrafamiliale des gènes HLA -DQ2 et DQ8.....	48
3.2 Œsophagite à éosinophile.....	51
3.2.1 Polymorphisme du gène IL13.....	51

3.2.2 Polymorphisme du gène IL5 (-746T/C) et de IL-5R (-80 A/G).....	54
4. Discussion.....	55
4.1 Maladie cœliaque et HLA au Québec.....	55
4.2 L'œsophagite eosinophilique au Québec.....	57
5. Conclusion.....	58
6. Références bibliographique	59

Liste de figures

Littérature

Figure 1. Schéma général de la réponse immunitaire innée et adaptative modifié (8).....	02
Figure 2. Structure du CMH chez l'humain (HLA) (15).....	06
Figure 3. Les différents facteurs impliqués dans le développement de maladies auto-immunes (21).....	09
Figure 4. Hétérogénéité clinique de la maladie cœliaque (71)	18
Figure 5. Plan proposé par la « ESPGAN » et la « NASPGHAN » pour l'évaluation des patients suspectés d'avoir la maladie cœliaque (24).....	19
Figure 6. Grades A, B, et C de la maladie coeliaque. Images représentatives de différents grades de l'atteinte histologique dans la maladie coeliaque (79).....	20
Figure 7. Locus génétique dans la maladie coeliaque (87).....	25
Figure 8. Haplotypes associés aux hétérodimères HLA-DQ2 et HLA-DQ8 (81).....	25
Figure 9. Physiopathologie de la maladie cœliaque (88).....	26
Figure 10. Les variants génétiques chez les patients OE (103).....	30
Figure 11. La physiopathologie de l'œsophagite à éosinophile (96).....	34

Matériel et méthodes

Figure 1. Les haplotypes analysés	39
---	----

Résultats

Figure 1. Exemples de familles étudiées.....	51
--	----

Liste des tableaux

Littérature

Tableau 1. Prévalence de la maladie cœliaque (A) chez la population générale, (B) dans des cohortes à risques (39).....	12
Tableau 2. Manifestations de la maladie cœliaque (66).....	15
Tableau 3. Maladies associées à la maladie cœliaque (67).....	16
Tableau 4. Preuve de la susceptibilité génétique à la maladie (20).....	22

Matériel et méthodes

Tableau 1. Les amorces pour les gènes DRB1, DQA1 et DQB1	39
Tableau 2. Amorces utilisées pour étudier le polymorphisme génétique du gène IL13 (R130Q)	41
Tableau 3. Amorces utilisées pour étudier le polymorphisme génétique du gène IL-5 (-746T/G).....	41
Tableau 4. Amorces utilisées pour étudier le polymorphisme génétique du gène IL-5R (-80A/G)	42

Résultats

Tableau 1. Tableau clinique de la maladie cœliaque	45
Tableau 2. Fréquences des haplotypes HLA de prédisposition a la maladie cœliaque au Québec.	46

Tableau 3. Fréquences des haplotypes HLA-DQ2, HLA-DQ8 chez les adultes ou enfants cœliaques par apport au contrôle.	47
Tableau 4. Fréquences des haplotypes transmis.....	48
Tableau 5. Les caractéristiques cliniques des patients OE.....	51
Tableau 6. La distribution de fréquences génotypique et phénotypique du polymorphisme A/G du gène IL 13 chez les patients OE comparé aux contrôles.....	52
Tableau 7. la distribution de fréquences génotypique et phénotypique des polymorphismes simples nucléotides (SNPs) du gène IL 13 chez les garçons (G) et les filles (F) avec OE comparé aux individus sans OE (control).	53
Tableau 8. La distribution de fréquences génotypique et phénotypique des polymorphismes de IL-5 (-746T/C) chez les patients avec OE comparé aux individus sans OE.....	54
Tableau 9. Tableau de la distribution de fréquences génotypique, phénotypique des polymorphismes simples du gène IL 5-R (-80 A/G) chez les patients avec OE comparé aux individus sans OE.....	54

Liste des abréviations

ATG: Anti-transglutaminases tissulaire.

ATCD : Antécédent,

C2: protéines du complément 2

C4: protéines du complément 4

CD: Cellule dendritique.

CELIAC2: gène cœliaque 2

CMH: Complexe majeur d'histocompatibilité.

CMV : Le cytomégalovirus

CTLA4 : Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4

DT1: Diabète de type 1.

EBV: virus Epstein Barr

EDC: Complexe de différenciation épidermique.

ESPGAN: la Société Européenne pour la Gastroentérologie et la Nutrition Pédiatriques.

FASL: Gene transfer of Fas ligand

FQMC: Fondation Québécoise de la Maladie Cœliaque.

HLA: Human leukocyte antigen (antigènes des leucocytes humains).

HPF : High Power Field

Hsps: protéine de choc thermique (heat shock proteins)

IgA: Immunoglobulines A.

IgG : Immunoglobulines G.

IL : interleukine

LB: Lymphocyte B

LT: Lymphocyte T

LTc: Lymphocyte T cytotoxique.

LTh: Lymphocyte T helper.

MAI: Maladie auto-immune.

MC: Maladie Cœliaque.

MI : Maladie inflammatoire

MYO9B : myosine IXB.

NASPGHAN: la Société Nord-Américaine pour la Gastroentérologie, l'Hépatologie et la Nutrition Pédiatrique.

OE: Oesophagite à éosinophiles.

PCR-SSP: Single Specific Primer-Polymerase Chain Reaction.

PRL : prolactine, IgA: immunoglobulines A

RGO: Reflux Gastro-Œsophagien.

RSG : Régime Sans Gluten

SNP: Single-nucleotide polymorphism ou polymorphisme d'un seul nucléotide.

TG2: Transglutaminase 2.

Th1: cellule T Helper de Type 1

Th17: cellule T helper 17

Th2: cellule T Helper de Type 2

TNF: facteur de nécrose tumorale (tumor necrosis factor)

Treg: cellule T régulatrice

TSH : Thyroïd Stimulating Hormone

VHC : virus de L'hépatite C

Remerciements

C'est avec un grand honneur et un grand plaisir que je remercie mon directeur de recherche au Laboratoire d'immunogénétique au sein du centre de recherche de l'hôpital Ste-Justine, Monsieur Idriss Djilali-Saïah, pour m'avoir dirigé tout au long de la réalisation de ce travail, pour ses qualités humaines, son sens de l'écoute, pour son esprit scientifique, ses précieux conseils et ses encouragements.

Je tiens également à témoigner ma profonde gratitude à la fondation de la maladie cœliaque au Québec FMCQ.

Mes remerciements vont aussi au Dr. Éric Drouin pour le recrutement des patients avec œsophagite éosinophilique et le traitement de données cliniques.

Mes sincères remerciements vont au Dr. Ali Ahmad, d'avoir accepté d'évaluer mon travail et de m'honorer par sa participation en tant que président-rapporteur de ce mémoire.

Un grand merci aussi au Dr. Cristophe Faure, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Un grand merci aux membres de mon laboratoire qui étaient comme une deuxième famille pour moi.

Je tiens à remercier le centre de recherche de l'hôpital Ste-Justine, le département de Microbiologie et Immunologie et l'université de Montréal.

Mes remerciements vont à tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à l'avancement de mon mémoire.

Dédicace

Je dédie ce mémoire:

A mes très cher Parents

Pour tous leur sacrifices, leur encouragements et à qui, ce travail revient en premier.

A mon cher Mari

Pour son aide et ses encouragements.

A mes chers frères et sœurs

A mes chers enfants

Qui me sont très chers.

1. littérature

1.1 Introduction

Le système immunitaire est composé d'organes lymphoïdes centraux et périphériques ainsi que de tissus lymphoïdes secondaires. Ce système comporte également des cellules et substances spécifiques. Les organes lymphoïdes centraux sont les organes de production et de maturation des cellules immunitaires. Ces organes centraux sont la moelle osseuse qui produit les lymphocytes B (LB) et les lymphocytes T (LT) et le thymus dans lequel se différencient les LT. Ces cellules produites à partir de cellules sanguines sont sélectionnées dans la moelle osseuse pour les LT et le thymus pour les LT, puis libérées dans la circulation sanguine. Les organes lymphoïdes périphériques encapsulés sont les ganglions lymphatiques, la rate et les accumulations de tissus lymphoïdes distribuées au niveau des muqueuses. Ces organes périphériques sont colonisés par les lymphocytes issus des organes centraux. Ils assurent une partie du renouvellement des lymphocytes et amplifient les réponses immunitaires préalablement initiées. C'est également le lieu de l'amplification clonale et de la coopération cellulaire impliquée dans les réactions immunitaires spécifiques. (1-3).

1.1.1 Les réponses immunitaires

Les réponses immunitaires correspondent aux mécanismes de défenses de l'organisme qui discriminent le « soi » du « non-soi ». Ces mécanismes sont devenus de plus en plus complexes avec l'évolution des espèces afin de combattre des agents pathogènes évoluant également sans cesse. Parmi ces agents pathogènes on compte les bactéries, les virus, les parasites et certaines particules ou molécules « étrangères ». La réponse immunitaire est divisée en deux parties déterminées par la vitesse et la spécificité de la réaction : la réponse immunitaire innée (ou naturelle) qui est immédiate et la réponse immunitaire adaptative (ou spécifique) qui est tardive, bien qu'en pratique il y ait beaucoup d'interaction entre elles (Figure 1) (1, 2, 4 et 5).

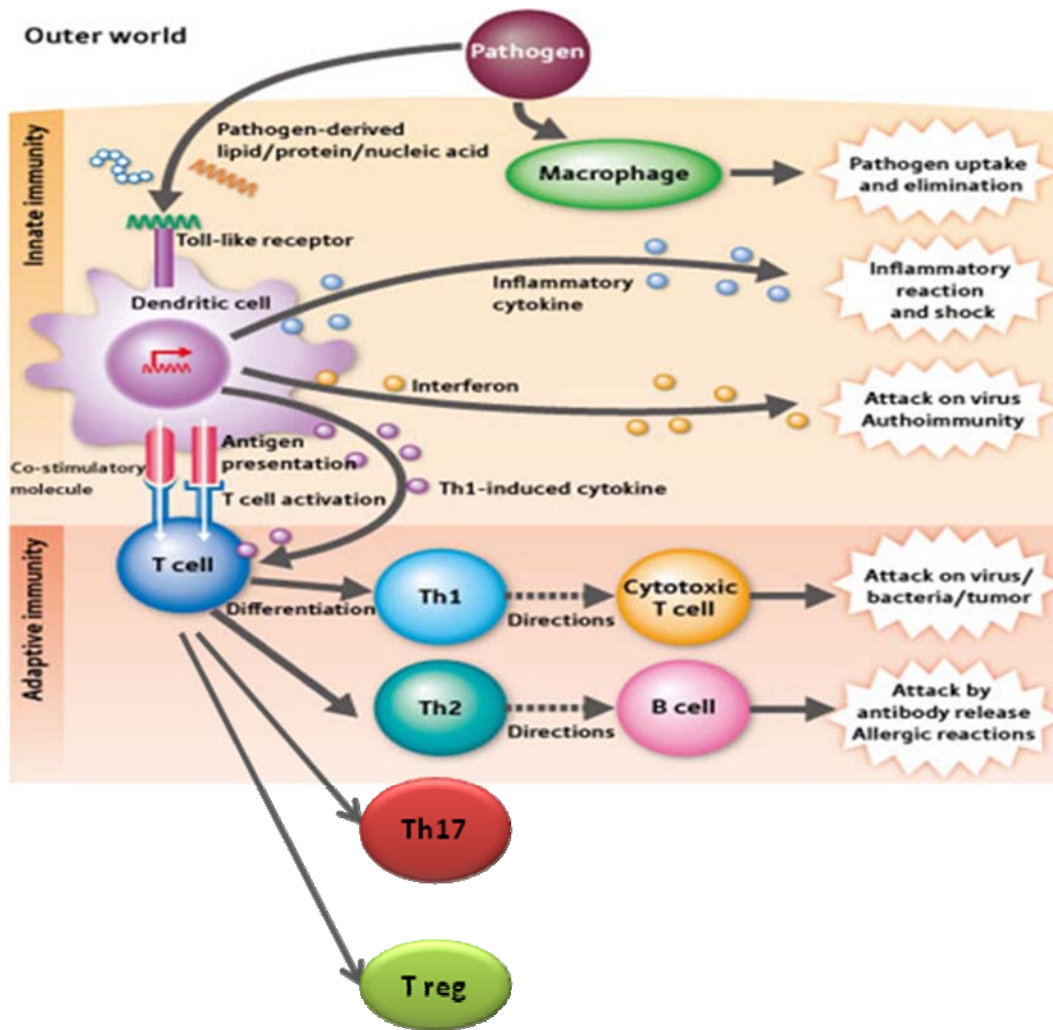


Figure 1. Schéma général de la réponse immunitaire innée et adaptative modifié (8)

T cell: cellule T, B cell: cellule B, Th1: cellule T Helper de Type 1, Th2: cellule T Helper de Type 2, Th17: cellule T helper 17, Treg: cellule T régulatrice.

1.1.1.1 L'immunité spécifique

Plusieurs types de cellules participent à l'initiation et au développement des réactions immunitaires spécifiques : les lymphocytes, les macrophages et les cellules dendritiques (CD). Les LB et LT sont les cellules effectrices de l'immunité spécifique. Chaque lymphocyte porte un récepteur lui permettant d'identifier un motif protéique spécifique grâce à leurs récepteurs BCR pour les LB) et TCR pour les LT. Les LB expriment les molécules du CMH de classe I et celles de classe II. Cette dernière caractéristique fait d'eux des cellules présentatrices d'antigènes dans certaines circonstances. Une fois activée par l'antigène, une partie de la population de LB se transforme en plasmocytes sécréteurs d'anticorps et les autres deviennent des LB mémoires. Contrairement aux LB, les LT ne reconnaissent pas directement les antigènes. Ces derniers doivent être présentés aux LT par une cellule présentatrice d'antigène, c'est-à-dire une cellule porteuse des molécules CMH de classe I et II. Il existe deux grandes populations de LT: les cellules T CD4⁺ et les cellules T CD8⁺. Les LT CD8⁺ sont des lymphocytes cytotoxiques (LTc). La reconnaissance d'un antigène par un lymphocyte CD8⁺ permet l'expression du pouvoir cytotoxique du lymphocyte (1, 2).

Les LT CD4 sont qualifiés de helper ou auxiliaires (LTh). Ils activent les cellules nécessaires à la réaction immunitaire. Ils peuvent aussi activer les cellules B, pousser la prolifération et la différenciation de celle-ci en plasmocytes.

Les LT CD4⁺ T helper (Th) sont composés de différentes sous populations qui diffèrent par leur fonction. Les LT CD4⁺ helper dits effecteurs comprennent :

-Les lymphocytes Th1 (Th1) producteurs d'IFN δ sont impliqués dans l'éradication de pathogènes intracellulaires et dans les maladies auto-immunes et inflammatoires.

-Les lymphocytes Th2 (Th2) producteurs d'interleukines (IL)-4, IL-5 et IL-13, sont impliqués dans la réponse contre les pathogènes extracellulaires multicellulaires (parasites : helminthes...) et dans des maladies allergiques (dermatite atopique, asthme allergique) (1, 2).

-Les lymphocytes Th17 récemment décrits produisent de l'IL-17 et jouent un rôle important dans plusieurs maladies auto-immunes et inflammatoires.

-Une quatrième population de LT CD4⁺ appelés lymphocytes régulateurs (Treg), exprimant le facteur de transcription Foxp3 la chaîne CD25 (CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺) contrôlent à la fois les réponses dues aux LTh1 et LTh2. Ils inhibent les lymphocytes effecteurs par le biais de contacts intercellulaires et/ou par la sécrétion des cytokines IL-10 ou TGFβ (1, 4, 6, 7).

1.1.2 Le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH)

Le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), est un ensemble de gènes multialléliques, d'expression codominante qui permet la reconnaissance du soi présent chez la plupart des vertébrés (9). Chez l'être humain, on le nomme HLA pour Human Leucocyte Antigen et il est localisé sur le bras court du chromosome 6 (6p21.3). La région HLA, totalement séquencée en 1999 (10) porte plus de 200 gènes codant pour des produits très divers, ce qui en fait la région du génome humain la plus riche en gènes exprimés. Les principaux produits codés dans le CMH sont les antigènes de classe I et II chez l'homme appelés HLA, ces protéines sont également responsable de la présentation des déterminants antigéniques (11). La région HLA est connue comme la région la plus polymorphe du génome humain grâce à l'existence d'un très grand nombre de variants alléliques, la transmission de ces gènes se fait en bloc, l'enfant hérite d'un haplotype paternel et d'un haplotype maternel, la plupart sont hétérozygotes pour chaque locus. Le CMH est subdivisé en 3 régions dont les gènes codent pour des produits qui diffèrent par leur localisation, leur structure et leur fonction (figure 2): - CMH de classe I (CMH-I): la plus télomérique, contient les gènes de classe I classiques HLA-A, B, C, ainsi que des gènes HLA de classe I dits non classiques (HLA-E, F et G, MICA et MICB et HFE), et de nombreux autres gènes dont la fonction n'est actuellement pas connue (12).

– CMH de classe II (CMH-II): la plus centromérique, contient les gènes HLA de classe II DR, DQ et DP, ainsi qu'une série de gènes codant pour des produits intervenant dans les voies de présentation antigénique (gènes LMP, TAP, DM, DO). Chacun des 3 locus de classe II (DR, DQ, DP) porte deux gènes A et B (DRA-DRB, DQA-DQB, DPA-DPB) (13). Les molécules de classe II sont exprimées uniquement à la surface des cellules présentatrices d'antigènes (cellules dendritiques, monocytes macrophages, lymphocytes B.- CMH de classe III (CMH-III): intermédiaire, ne contient pas de gènes d'histocompatibilité à proprement parler, mais des gènes codant pour des produits intervenant dans la réponse immunitaire : certains facteurs du complément (C2, C4A, C4B et Bf), facteurs nécrosant des tumeurs (TNFalpha et beta), protéines de choc thermique (HSP 70.2, 70.1 et AOM) ainsi que des gènes qui n'ont a priori rien à voir avec la réponse immune, tels que le gène CYP21-B codant pour la 21 hydroxylase (14).

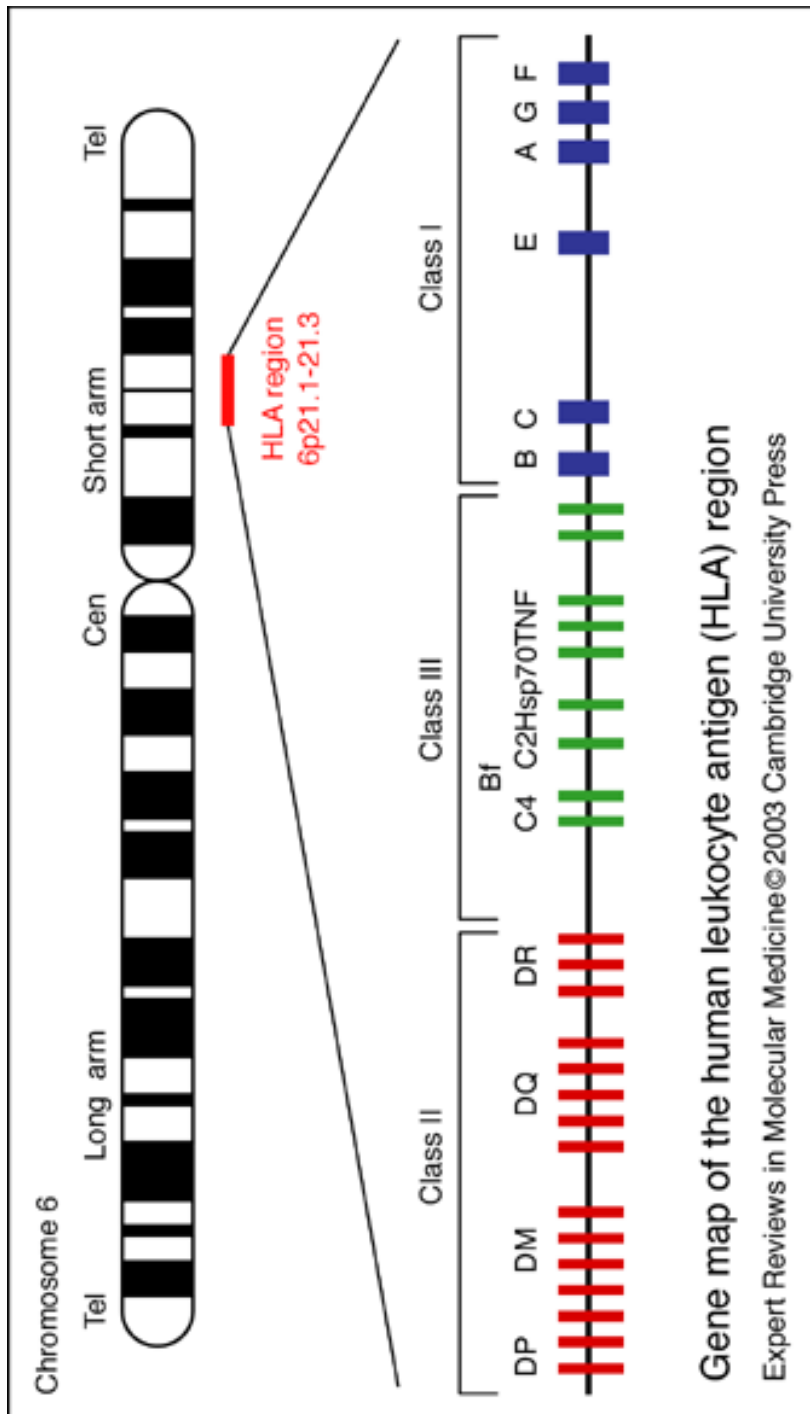


Figure 2. Structure du CMH chez l'humain (HLA) (15)

TNF: facteur de nécrose tumorale (tumor necrosis factor), Hsps: protéine de choc thermique (heat shock proteins), C2 et C4: protéines du complément

1.1.3 Maladie immunitaire

Le système immunitaire est le mécanisme de défense du corps contre les cellules tumorales et les infections. Cependant, ce système immunitaire défectueux pourra être la source d'une longue liste de maladies du système immunitaire (allergie, asthme, maladies auto-immunes, maladies inflammatoires ...).

1.1.3.1 Maladies inflammatoires

Les maladies inflammatoires (MI) se caractérisent par un dérèglement de l'immunité innée et acquise et absence d'auto-anticorps spécifique et de lymphocytes autoréactifs par opposition aux maladies auto-immunes. Ces dernières sont plutôt caractérisées par un défaut de l'immunité acquise et une reconnaissance d'auto-antigènes comme cibles à éliminer.

L'inflammation qui est une réaction physiologique de l'organisme à une agression par un facteur étiologique connu ou inconnu, est caractérisée par l'apparition de fièvre, de douleur, de rougeur et de gonflement provoqués par l'effet de molécules solubles sur les vaisseaux sanguins locaux. Ceux-ci se dilatent et deviennent perméables aux leucocytes circulants. Les neutrophiles, éosinophiles et les monocytes/macrophages sont les principaux leucocytes à intervenir dans l'immunité innée et les LT pour la branche acquise.

Les cellules migrent par chimiotactisme vers le site inflammatoire et sécrètent des médiateurs pro-inflammatoires tels que les cytokines qui amplifient la réponse immunitaire acquise (16, 17).

1.1.3.2 Maladies auto-immunes

Les maladies auto-immunes (MAI) représentent aujourd'hui la 3^e cause de morbidité avec une prévalence de 5 à 10% de la population des pays occidentaux.

L'auto-immunité est la rupture des mécanismes de tolérance qui conduit à l'action pathogénique du système immunitaire vis à vis de constituants naturels de l'organisme et à l'apparition d'une MAI avec une production d'auto-anticorps et/ou LT dirigés contre l'organisme auquel il appartient (1).

Il existe 2 grandes catégories de MAI: celles qui sont limitées à un organe (MAI « spécifiques d'organe ») et celles au cours desquelles plusieurs organes sont touchés successivement ou simultanément (MAI « systémiques ») (18).

Les causes des MAI restent en grande partie indéterminées mais font l'objet d'intenses recherches. Ces maladies sont multifactorielles incluant un terrain génétique prédisposant et des facteurs environnementaux (Figure 3). Les facteurs génétiques sont complexes (gènes multiples de prédisposition). Certains gènes sont principalement responsables de l'augmentation du risque de pathologie auto-immune en général, tandis que d'autres sont impliqués dans le développement de maladies spécifiques. Il est assez fréquent d'observer dans la famille d'un sujet atteint d'une MAI, des parents proches ou éloignés qui présentent la même pathologie auto-immune ou une autre. Les facteurs environnementaux sont toutefois impliqués dans l'apparition d'une réponse auto-immune mais dans la majorité des MAI, ce facteur est inconnu (19).

A ce jour plus de 80 MAI ont été individualisées. Plus de 2/3 des MAI touchent préférentiellement les femmes. Le taux de concordance pour la MAI est de 30 à 85% chez les jumeaux monozygotes, et de 10 à 30% chez les jumeaux dizygotes (19).

Parmi les MAI, la maladie cœliaque représente le model des MAI avec une forte prédisposition génétique avoisinant les 85 % de taux de concordance chez les jumeaux monozygotes, une forte association des gènes CMH et le gluten comme facteur environnemental pathogénique (20).

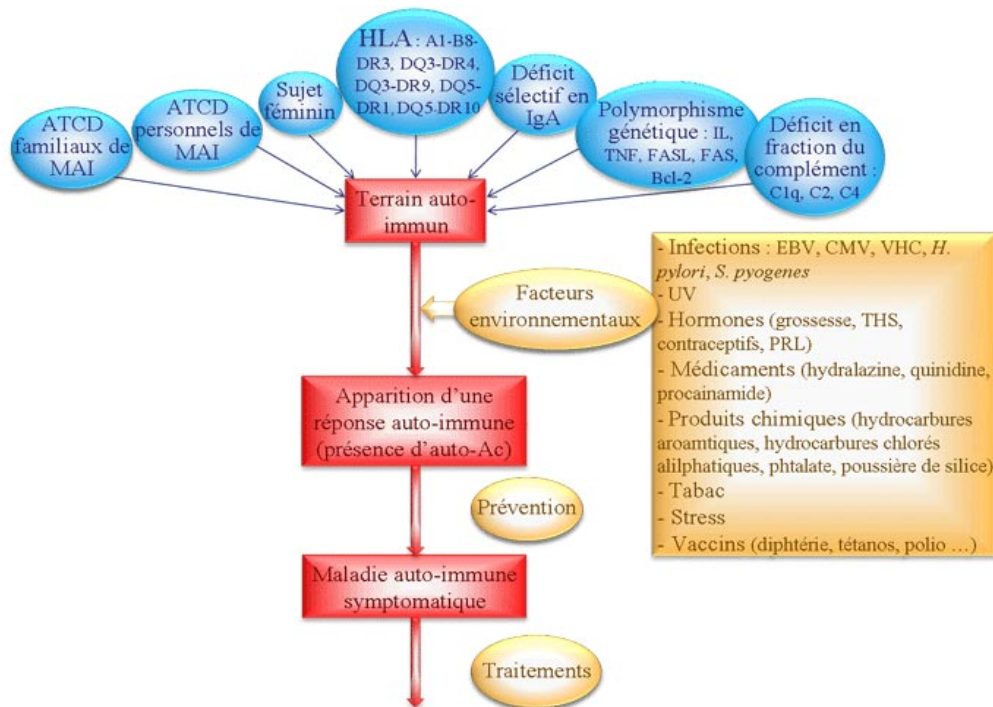


Figure 3. Les différents facteurs impliqués dans le développement de MAI(21).

ATCD : Antécédent, MAI : Maladies auto-immunes, HLA : human leukocyte antigen, EBV: virus Epstein Barr, CMV : Le cytomégalovirus, VHC : virus de L'hépatite C, TSH : Thyroïd Stimulating Hormone, PRL : prolactine, IgA: immunoglobulines A, TNF : facteur de nécrose tumorale, FASL : Gene transfer of Fas ligand, IL : interleukine,

1.2 Maladie cœliaque

La maladie cœliaque (MC) est une MAI chronique, multifactorielle de l'intestin grêle qui se développe chez des individus génétiquement susceptibles après ingestion de gluten (22).

La MC est relativement fréquente et caractérisée par des symptômes intestinaux et/ou extra-intestinaux et même certains patients sont asymptomatiques (23).

Chez les personnes atteintes, l'ingestion de gluten entraîne une réaction inflammatoire endommageant la paroi intestinale. Plus précisément, ce sont les villosités intestinales qui sont détruites. Si l'inflammation persiste, l'intestin devient incapable d'absorber certains nutriments, vitamines et minéraux. Il peut s'ensuivre une malnutrition malgré une alimentation normale (24).

Cette maladie a des étiologies multifactorielles qui impliquent des composantes immunitaires, environnementales et de nombreux facteurs génétiques dans lequel le facteur de risque génétique majeur est représenté par les gènes HLA-DQ du CMH-II (25, 26).

En dehors de ces prédispositions génétiques et le gluten, d'autres facteurs environnementaux, probablement infectieux, viraux et bactériens encore mal identifiés sont susceptibles de déclencher la phase active de la maladie (27). D'autres facteurs pourraient aussi jouer un rôle, comme une introduction précoce du gluten dans le régime alimentaire du nourrisson (28). L'allaitement maternel serait, au contraire, un facteur protecteur (29).

1.2.1 Historique de la maladie cœliaque

La première description de la MC date, à notre connaissance, de la deuxième moitié du deuxième siècle après Jésus-Christ. L'auteur de cette description est Aretaeus de Cappadoce, dont les écrits furent traduits du grec par Francis Adams en 1856. En 1888, Samuel Gee reprend, après Francis Adams, la description de la maladie en s'appuyant sur plusieurs cas cliniques observés chez des enfants (30). Le pédiatre Hollandais Dicke qui, en 1950, a décrit dans sa thèse de doctorat que l'état des enfants cœliaques s'améliore de façon spectaculaire grâce à l'exclusion de toutes les farines de blé, de seigle, de l'orge et d'avoine de leur alimentation (31).

Cette description a été ensuite confirmée par Charlotte Anderson qui montrera le caractère toxique du gluten chez les patients cœliaques (32), la présence d'anticorps circulants spécifiques à la maladie a été découverte en 1980, l'association avec un phénotype HLA particulier est connue depuis 1989. L'identification décisive des anticorps dirigés contre la Transglutaminase II (TtG2) au milieu des années 90 et les biopsies intestinales ont permis de faire des progrès pour comprendre la physiopathologie de la maladie et en faire le diagnostic. Les séquences toxiques du gluten ont été étudiées depuis une quinzaine d'années (plus de 100 peptides différents) dont un est particulièrement dominant (p57-89) (33).

Cette maladie a longtemps été considérée comme une maladie européenne ou chez les personnes de descendance Européenne. Cependant, L'épidémiologie démontre que la MC résulte en fait de l'interaction de l'homme avec son environnement au cours de l'histoire (22).

La MC est le résultat de deux facteurs : environnementaux (gluten) et génétiques (HLA et non HLA-gènes), et la distribution de ces deux composants peuvent probablement être utilisés pour identifier les régions du monde au risque de l'intolérance au gluten. À cet égard, la répartition géographique mondiale de la maladie semble avoir suivi la propagation de la consommation de blé et les flux migratoires de l'humanité.

1.2.2 Épidémiologie de la maladie cœliaque

Aujourd'hui, la MC est considérée comme la plus fréquente des Maladies inflammatoires intestinales avec une prévalence de 1% dans la population générale et augmente jusqu'à 30% chez les populations à risque (Tableau 1) (34, 35). Le plus haut taux au monde connu selon Catassi et al. (2001) s'élève à 5,6% chez la population Sahraouie en Afrique du nord, cette forte prévalence pourra être expliquée potentiellement par des niveaux élevés de consanguinité, des fréquences élevées de HLA-DQ2 et par l'ingestion de gluten (36). On estime qu'en Amérique du Nord, elle affecte une personne sur 100. Le nombre de Canadiens et de Canadiennes atteints de MC pourrait atteindre 300 000. Cependant, la majorité des cas demeurent non diagnostiqués (23).

Tableau 1. Prévalence de la maladie cœliaque (A) chez la population générale, (B) dans des cohortes à risques (39).

(A)

Pays	Test de détection durant l'étude	Échantillon	Prévalence	Année	Référence
Amérique	IgA et IgG AGA et IgA AEM, IgA AtTG, génotypage HLA	Population générale	1:133	2003	38
Argentine	IgA AEM, IgA et IgG AGA	Population générale	1:167	2001	41
Brésil	IgA A AtTG	Population générale	1:214	2007	42
Égypte	IgA et IgG A AtTG, IgA AEM	Enfants	1:187	2008	43
Estonie	IgA A AtTG	Enfants scolarisés	1:288	2006	44
Finlande	IgA AEM, IgA AtTG	Enfants scolarisés	1:99	2003	45
Inde du Nord	IgA AtTG	Enfants	1:100	2009	46
Iran	IgA AGA, IgA AEM	Population générale	1:166	2003	47
Islande	IgA AtTG	Population générale	1:136	2009	48
Portugal	IgA AEM, IgA AtTG	Adolescents	1:134	2006	49
Royaume -uni	IgA AtTG, IgA AEM IgA AEM	Enfants scolarisés Adultes	1:100 1:100	2004 2003	50 51
Suisse	IgA AEM, IgA AtTG, IgA et IgG AGA	Adolescents	1:132	2002	52
Syrie		Population générale	1:150	2004	53
Tunisie	IgA AEM, IgA AtTG	enfants scolarisés	1:157	2007	54
Turquie	IgA AtTG	Enfants scolarisés	1:115	2005	55

(B)

Pays	Étude	Échantillon	Prévalence	Année	Référence
Amérique	IgA et IgG AGA et IgA AEM, IgA AtTG, génotypage HLA	Famille au 1 ^{er} degré* Famille au 2 nd degré**	1:22 1:30	2003	40
Inde du Nord	IgA AtTG	Famille au 1 ^{er} degré*	1:12	2007	56
Italie	IgA AEM, IgA AtTG, génotypage HLA	Famille au 1 ^{er} degré*	Jusqu'à 1:3	2007	57
Suède	IgA et IgG AtTG	Enfants nés en 1993	3:100	2009	58

IgA AGA : Immunoglobuline A anti-gliadine ; IgG AGA: Immunoglobuline G anti-gliadine ; IgA AtTG : Immunoglobuline A anti-transglutaminase ; IgG AtTG: Immunoglobuline G anti-transglutaminase; IgA AEM: Immunoglobuline A anti-endomysal ; IgG AEM: Immunoglobuline G anti-endomysal. * la famille au 1^{er} degré d'une personne atteinte de la maladie cœliaque (parents, fratrie, descendance); ** la famille au 2nd degré d'une personne atteinte de la maladie cœliaque (grands-parents, petits enfants, oncle/tante, neveu/niece et demi-frère/sœur)

La prévalence de la prédisposition familiale à la MC est de l'ordre de 19.5 % chez les parents de premier degré d'un patient atteint selon l'âge de l'apparition de la maladie (33). La maladie n'est présente que chez des patients porteurs de certains gènes HLA (HLA-DQ2 et/ou HLA-DQ8), mais la présence de ces gènes n'explique pas, pour autant, la maladie car la prévalence de ces gènes HLA est de l'ordre de 30% chez la population générale (37).

La MC a deux pics d'incidence avec une révélation soit dans la petite enfance, le plus souvent entre 1-2 ans, c'est-à-dire après l'introduction du gluten dans le régime alimentaire, soit à l'âge adulte, le plus souvent au alentour de 40 ans. Les formes à révélation tardive (après 65 ans) ne sont cependant pas rares. Elle est retrouvée autant chez les garçons que les filles. Chez les adultes, la prévalence féminine s'atténue actuellement, avec l'augmentation du taux de diagnostic des formes cliniquement asymptomatiques (sans signe apparent) et une amélioration du diagnostique (38)

1.2.3 Les caractéristiques cliniques de la maladie cœliaque

Le spectre clinique de la MC est large (Tableau 2). Chez les enfants, la forme typique de la maladie est caractérisée par des manifestations gastro-intestinales commençant entre 6 et 24 mois, après l'introduction du gluten dans le régime (38). Les enfants présentent un retard de croissance, une diarrhée chronique, une distension abdominale, une perte et une hypotonie des muscles, un faible appétit et une anxiété. Des semaines à des mois de début de l'ingestion du gluten, la vitesse de gain de poids diminue et finalement on peut observer la perte de poids (38).

La MC atypique est habituellement vue chez des enfants plus âgés et les caractéristiques de la malabsorption sont absentes. Les symptômes peuvent être intestinaux ou extra-intestinaux. Les symptômes intestinaux peuvent inclure la douleur abdominale récurrente et la constipation. La courte stature et la puberté retardée peuvent être les manifestations primaires chez un enfant autrement en bonne santé. D'autres manifestations communes incluent, la stomatite aphteuse récurrente, la fatigue chronique et l'augmentation du niveau d'aminotransférase sérique (60).

Chez les adultes, les cas symptomatiques ou classiques de la maladie peuvent se présenter avec la diarrhée chronique, la distension et la douleur abdominale, la faiblesse et la malabsorption (61). Cependant, beaucoup de patients ont peu ou pas de symptômes gastro-intestinaux, tout en présentant des caractéristiques extra-intestinales, comme la dermatite herpétiforme, l'anémie, l'ostéoporose, l'infertilité et des problèmes neurologiques (62).

Il est donc plus approprié de considérer la MC comme une maladie multi-systémique, plutôt que principalement gastro-intestinal (24, 25, 63).

Il est actuellement bien défini que la majorité des sujets atteints sont paucisymptomatiques ou asymptomatiques. Ils ne présentent pas obligatoirement la triade clinique classique "diarrhée chronique - stéatorrhée - amaigrissement" (tableau 2). L'importance de poser le diagnostic de la maladie réside dans la prévention d'apparition de lésions malignes du grêle. En effet, la prévalence de ces lésions au cours de la MC non traitée est de 5 à 15 % avec un taux de lymphomes malins non-hodgkiniens multiplié par 40 à 100 par rapport à celui de la population générale. Le régime sans gluten (RSG) apparaît comme le seul traitement préventif vis-à-vis de la survenue de ces atteintes malignes (38, 64).

Tableau 2. Manifestations de la maladie cœliaque, tableau modifié (66)

		Caractéristiques cliniques
Gastro-intestinales		Diarrhée ; Stéatorrhée ; Flatulence ; Distension ; Perte de poids ; Anorexie ; Douleur abdominale ; Nausée ; Vomissement ; Constipation ; Stomatite aphteuse
Extra-intestinales	Résultats de laboratoire	Anémie ; Insuffisances de vitamines ; Niveaux d'aminotransférase élevés
	Peau	Dermatite herpétiforme
	Hématologique	Atrophie splénique
	Musculo-squelettique	Ostéopénie/ostéoporose ; Ostéomalacie ; Défauts d'émail ; Crampes de muscle/tétanie
	Neurologique	Neuropathie périphérique ; Ataxie ; Epilepsie
	Reproductive	Infertilité ; Puberté retardée
	Psychiatrique	Dépression/anxiété

Un dépistage sérologique de la MC peut être proposé par la réalisation des anticorps anti- endomysium et/ou anti-transglutaminase dont spécificité et la sensibilité sont excellentes. Le résultat de ces tests sérologiques n'exclura pas de pratiquer une endoscopie digestive haute pour rechercher une atrophie villositaire qui apporte la preuve diagnostique de la MC (65).

1.2.4 Maladies associées

Le rapport causal entre la MC et d'autres MAI est toujours une issue controversée. Les deux théories les plus accréditées proposent : cette association est secondaire à un fond génétique commun prédisposant à la MC et la maladie auto-immune associée (1) ou une MC non traitée mène au début d'autres MAI chez les individus génétiquement prédisposés (2) (Tableau 3).

Tableau 3. Maladies associées à la maladie cœliaque (67)

Endocriniens
Le diabète sucré de type I
Thyroïdite auto-immune
Pelade
Les troubles de la reproduction
Neurologique
L'ataxie cérébelleuse
Neuropathie
L'épilepsie
Migraine
Cœur
Idiopathique dilatée · cardiomyopathie
Myocardite auto-immune
Foie
Primary cirrhose biliaire
L'hépatite auto-immune
Auto-immunes cholangite
Autres
Anémie
Ostéoporose
Déficit sélectif en IgA
Le syndrome de Gougerot-Sjögren
Arthrite chronique juvénile
syndrome de Turner
Le syndrome de Williams ·
Des troubles de l'email des dents

1.2.5 Formes de la maladie cœliaque:

Cinq phénotypes de la maladie sont identifiés (Figure 4):

1.2.5.1 La maladie cœliaque typique

Les formes typiques apparaissent de manière précoce; en général dès que des aliments qui contiennent du gluten sont ajoutés à l'alimentation; avec les symptômes de malabsorption intestinale: diarrhée chronique, arrêt de la croissance, inappétence, vomissements et distension abdominale (ballonnements).

1.2.5.2 La maladie cœliaque atypique

Les formes atypiques se manifestent tardivement avec des symptômes principalement extraintestinaux comme l'anémie avec carence en fer, l'augmentation des transaminases hépatiques, les douleurs abdominales récurrentes, l'hypoplasie de l'émail dentaire, la dermatite herpétiforme ou une petite taille à l'âge scolaire due à un retard dans la croissance osseuse de l'enfant.

1.2.5.3 La maladie cœliaque silencieuse

Les formes silencieuses diagnostiquées sur des sujets apparemment sains, suite à un contrôle occasionnel. Plusieurs cas sont silencieux seulement en apparence, en réalité après le début du traitement, on enregistre une amélioration de l'état général. Cette forme est caractérisée par des sérologies positives et une atrophie villositaire de sévérité variable.

1.2.5.4 La maladie cœliaque potentielle

On définit comme potentiels, les cas qui présentent des marqueurs sérologiques positifs et une biopsie intestinale normale. Les patients ayant une MC potentielle, s'ils sont soumis à un régime normal peuvent développer au fil du temps une lésion intestinale évidente (67- 70).

Iceberg de la maladie cœliaque **« L'épidémie cachée »**

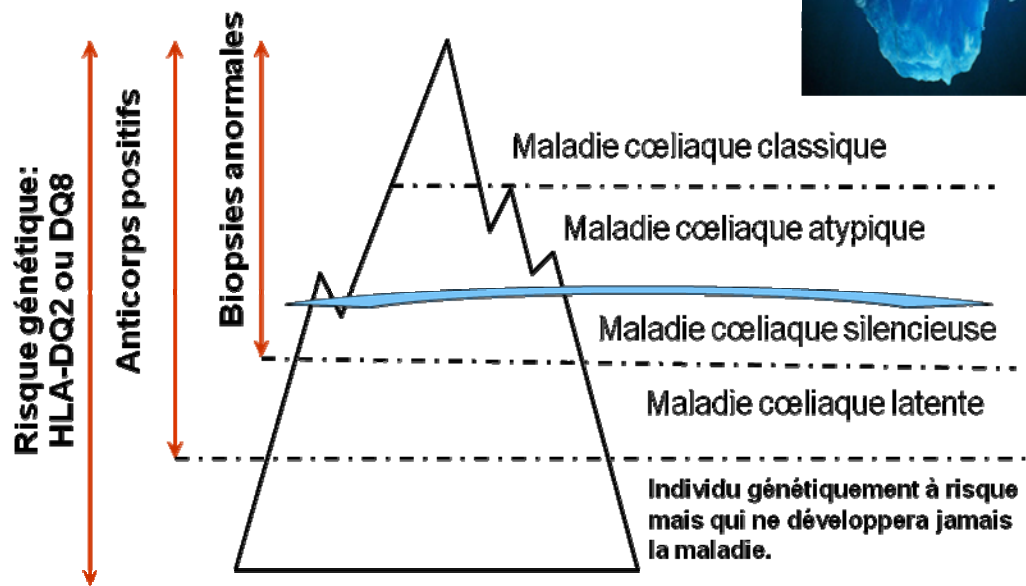


Figure 4. Hétérogénéité clinique de la maladie cœliaque (71)

1.2.6 Diagnostique de la maladie cœliaque

Pour le diagnostic de la MC, la Société Européenne de Gastroentérologie et la Nutrition Pédiatriques (ESPGAN) et la Société Nord-Américaine pour la Gastroentérologie, l'Hépatologie et la Nutrition Pédiatrique (NASPGHAN) ont recommandé le diagramme présenté dans la figure 5 (24).

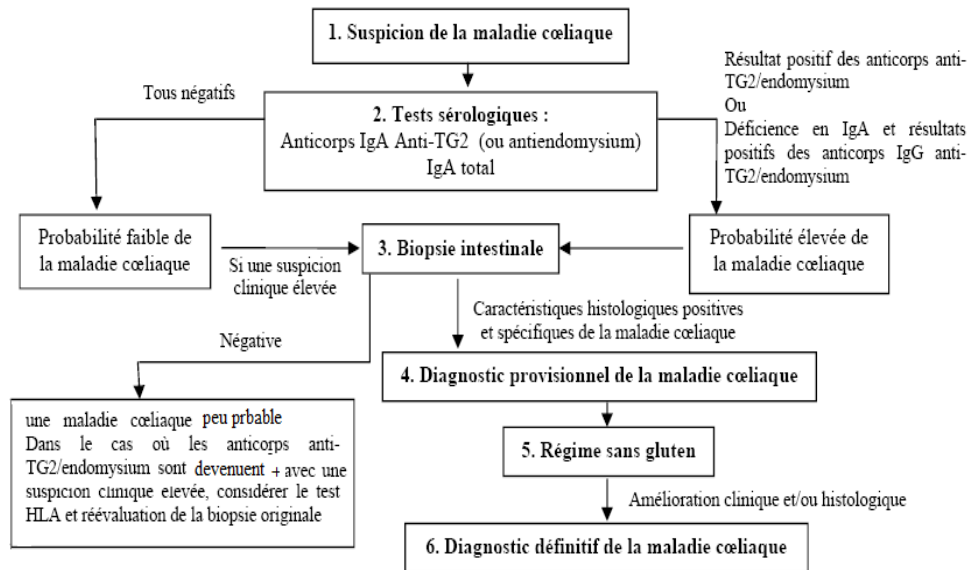


Figure 5. Algorithme proposé par la « ESPGAN » et la « NASPGHAN » pour l'évaluation des patients suspectés d'avoir la maladie cœliaque (24)

1.2.6.1 Tests sérologiques

Lorsque l'on soupçonne une MC, le premier test à effectuer est une analyse sérologique. On recommande maintenant le test des anticorps anti-transglutaminases tissulaire (ATG) comme unique épreuve sérologique (68). Quant aux anticorps anti-gliadines, sensibles mais peu spécifiques, ils sont utiles seulement dans l'évaluation de l'observance à la diète chez un patient déjà diagnostiqué (72).

L'anticorps anti-endomysium n'est plus utilisé pour des raisons pratiques et économiques. Les sensibilités et spécificités respectives de ces tests sont détaillées dans le tableau 3. Par ailleurs, environ 3 % des patients souffrant de la MC ont un déficit en IgA (61). L'Association Américaine de Gastroentérologie recommande le dosage des IgA totaux si l'on soupçonne fortement une MC. En présence d'une carence en IgA, le

dosage des ATG de type IgG s'il est disponible sinon la biopsie duodénale est l'unique test de diagnostic de la maladie (73).

Ainsi, une sérologie négative chez un individu avec faible suspicion de la maladie rend celle-ci très peu probable et permet d'éviter la biopsie. Par contre, une sérologie positive devient une indication ferme de procéder à la biopsie pour confirmer ou non la maladie (24).

1.2.6.2 Tests histologiques

Un résultat positif pour les anticorps à IgA (anti-TG2 ou endomysium) ou à IgG (anti-TG2/endomysium) devrait être suivi de biopsie intestinale. Une biopsie pourrait également être faite dans les cas de la sérologie négative mais avec une suspicion clinique élevée (24). Les anomalies histologiques typiques de la MC montrent une atrophie villositaire, une hyperplasie des cryptes, et une infiltration des leucocytes (figure 6) (74). L'identification positive de ces anomalies mène à un diagnostic présumé de la MC, qui devrait être suivi de l'établissement du régime sans gluten (RSG). Un diagnostic définitif est fait seulement après que l'amélioration claire en réponse au régime s'est produite. Une deuxième biopsie pour confirmer l'amélioration histologique n'est plus nécessaire, (24). Cependant, si le rapport de la biopsie est négatif en présence d'une sérologie positive et/ou une suspicion clinique élevée de la MC, revue du dossier clinique et un examen soigneux des résultats de la biopsie avec un pathologiste expert devraient être faits avant de considérer la biopsie additionnelle. En outre, il est utile dans ces cas d'effectuer le typage HLA pour guider et aider la décision médicale (24, 75, 76).

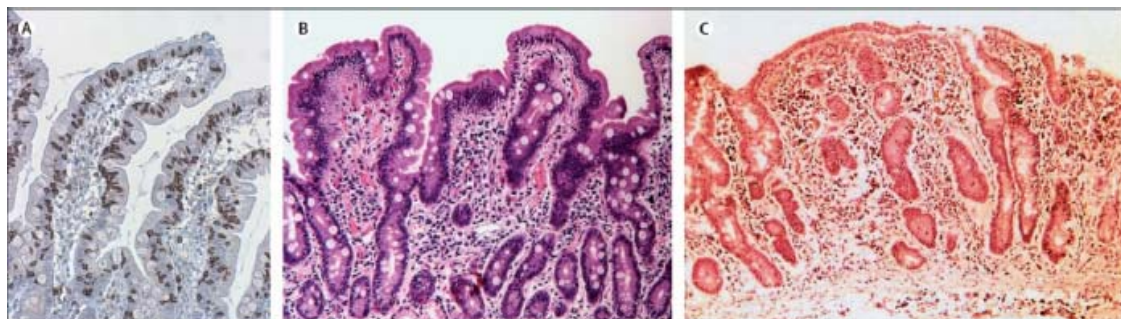


Figure 6. Grades A, B et C de la MC. Images représentatives de différents grades de l'atteinte histologique dans la MC (79).

(A) infiltration sans atrophie villositaire, (B) atrophie villositaire, les villosités sont raccourcies, mais détectables et (C) atrophie, les villosités ne sont plus détectables.

1.2.7 Génétique de la maladie cœliaque

La génétique de la MC est complexe car multiples gènes contribuent. Des études de liaison et d'association ont identifié plusieurs régions génomiques qui contiennent probablement des gènes de susceptibilité à la MC. Le facteur génétique le plus important identifié est la région CMH qui contient les haplotypes codants pour les molécules HLA-DQ2 et HLA-DQ8. Ces deux haplotypes sont nécessaires mais pas suffisants pour le développement de la maladie. Ce qui laisse penser que d'autres gènes non-HLA contribuent à la pathogenèse de la maladie (20).

Enfin, l'importance des facteurs génétiques est démontrée par la fréquence de la MC observée par les données épidémiologiques (Tableau 4).

1.2.7.1 Gènes HLA

La MC est en effet fortement associée avec les gènes codant pour les molécules HLA de classe II : HLA-DQ2 et HLA-DQ8 (Figure 7) (9). Environ 90-95 % des malades sont porteurs des gènes DQA1*05 et DQB1*02 codant respectivement pour les chaînes α et β de la molécule HLA-DQ2. La molécule HLA-DQ2 peut être produite soit en « cis » (par des gènes sur le même chromosome) dans le cas de l'haplotype HLA-DR3-DQ2, soit en « trans » (gènes sur des chromosomes différents) dans les cas des haplotypes DR5-DQ7 codant pour la chaîne DQA1*05 et DR7-DQ2 pour DQB1*02 (37).

Le risque de développer une MC est en effet plus élevé chez les individus homozygotes (HLADR3-DQ2/DR3-DQ2 ou HLA-DR3-DQ2/DR7-DQ2) (37).

Les 5 à 10 % de malades qui ne sont pas HLA-DQ2 portent des gènes codant pour la molécule HLA-DQ8 (DQB1*0302 et DQA1*03), dont les propriétés structurales sont proches de celles de HLA-DQ2. Cependant, ces haplotypes à risque (HLA-DQ2 et DQ8) sont présents chez plus de 30 % des individus d'origine caucasienne. À l'inverse, ils n'expliquent que 40 à 50 % du fond génétique de la MC (Figure 8) (77, 78).

Tableau 4. Preuve de la susceptibilité génétique à la maladie (20).

Différence ethnique dans la maladie incidence/prévalence	
Association familiale	5–15% parents au premier degré de personnes touchées sont également touchés
	30% HLA germains identiques
Taux de concordance chez les jumeaux	Les jumeaux monozygotes 83–86%
	les jumeaux dizygotes 11%
Identification des loci de susceptibilité par séquençage du génome	Chromosomes 2, 5, 6, 9, 15, 19
Étude d'association génétique des gènes candidats fonctionnel	CTLA4
Association liée aux syndromes génétiques	syndrome Down
	syndrome Turner
	syndrome Williams

1.2.7.2 Gènes non CMH (non-HLA)

Différentes études suggèrent que la MC est multifactorielle, mettant en cause de nombreux gènes impliqués dans la réponse immunitaire, probablement chacun à des degrés divers et assemblés de façon différente chez les individus. Toutefois, les associations décrites à ce jour avec les gènes situés en dehors de la région HLA n'expliqueraient qu'une très faible portion de l'hérédité dans la MC (seulement 3 à 4 %)

Parmi les régions de prédisposition qui ont été identifiées: 5q31-33 (CELIAC2) qui joue un rôle dans l'asthme et la maladie de Crohn, 2q33 (CELIAC3) contenant des gènes impliqués dans le contrôle de l'activation du LT: CD28, CTLA-4 et ICOS., 19p13.1 (CELIAC4), 6q21-22 et 9p21 et MICA (6p21), une molécule non classique du CMH-I. La liaison avec 19p13.1 a été rapportée à un polymorphisme dans une région non codante de la myosine IXB qui joue un rôle dans la perméabilité intestinale (37, 80)

D'autres nouvelles régions d'intérêt dont six contiennent des gènes jouant un rôle dans l'immunité comme *RGS1* (régulateur de la transduction de signaux, localisé en 1q 31), *CCR3* (récepteur de chimiokines, en 3p21), *IL12A* (la chaîne α de la cytokine IL-12, en 3q25) et *IL18RAP* (chaîne β du récepteur à l'IL-18, en 2q12), *TAGAP* (activité GTPase du LT, en 6q25), *SH2B3* (activation du LT, en 12q24) et *IL21* (4q27) codant pour une cytokine pro-inflammatoire (81).

La MC est cinq à dix fois plus fréquente chez les patients atteints de diabète type 1, Parmi les loci communs aux deux maladies, *RGS1* (1q 31), *IL18RAP* (2q12), *TAGAP* (6q25), *CCR5* (récepteur de chimiokine, en 3p21), *PTPN2* (18p11), *CTLA4* (2q33), *SH2B3* (12q24) et *IL21*(4q27) sont retrouvés. Certains loci ont quant à eux des effets favorisants ou protecteurs dans l'une mais pas dans l'autre de ces deux maladies comme *INS* (insuline, en 11p15), *IL2RA* (chaîne α du récepteur à l'IL-2 ou CD25, en 10p15), *PTPN22* (tyrosine phosphatase, en 1p13) pour le DT1, et *IL12A* (3q25) et *LPP* (adhérence cellulaire, en 3q28) pour la MC (81).

1.2.8 Physiopathologie de la MC

Le déclencheur environnemental de la maladie est le gluten qui est un ensemble de protéines composé de 2 groupes de prolamines : la gliadine et la gluténine. Les gliadines sont des protéines résistantes aux enzymes du tube digestif grâce à leur richesse en proline et en glutamine. Les protéines incriminées sont l'alpha gliadine contenant le peptide immuno-dominant de 33 mer (p57-89) et le peptide non immuno-dominant de 13 mer (p31-43) (82-85).

La pathogenèse de la maladie met en cause 2 voies de l'immunité : l'immunité acquise médiée par les LT et l'immunité innée impliquant la cytokine IL-15. Ces deux voies immunitaires sont concomitantes et entraînent des dommages tissulaires typiques de la maladie (Atrophie villositaire et infiltration lymphocytaire).

1- Voie de l'immunité acquise : activation des LTCD4⁺ par des cellules présentatrice d'antigène via les molécules de CMH II présentant le peptide 57-89 (33 mer) α -gliadine dérivé de la digestion enzymatique du gluten (83). Par conséquent, la toxicité du peptide est plus forte si celui-ci subit une réaction de désamination par les transglutaminases tissulaires de type 2 (TG2) qui rend la charge du peptide négative en le transformant la glutamine en en glutamate. Cette modification augmente l'affinité du peptide avec les molécules HLA-DQ2 ou DQ8 en favorisant l'ancrage de ce peptide déamidé dans la poche de ces molécules HLA de prédisposition. Une fois les LTCD4⁺ spécifiques activés, elles produisent des cytokines pro-inflammatoires incluant INF γ responsable de l'inflammation chronique et la dégradation de la lame basale intestinale (79, 86-88). En parallèle, ces LTCD4⁺ activés stimulent les LB pour produire des anticorps anti-gliadine et des auto-anticorps anti-transglutaminases tissulaires et également des auto-anticorps dirigés contre le complexe TG2-peptide (super antigène) (79).

2- Voie de l'immunité innée : le peptide non immunodominant p31-43 induit la sécrétion de l'IL-15 qui vraisemblablement déclenche la cascade inflammatoire entraînant la destruction de l'épithélium (86) (Figure 9).

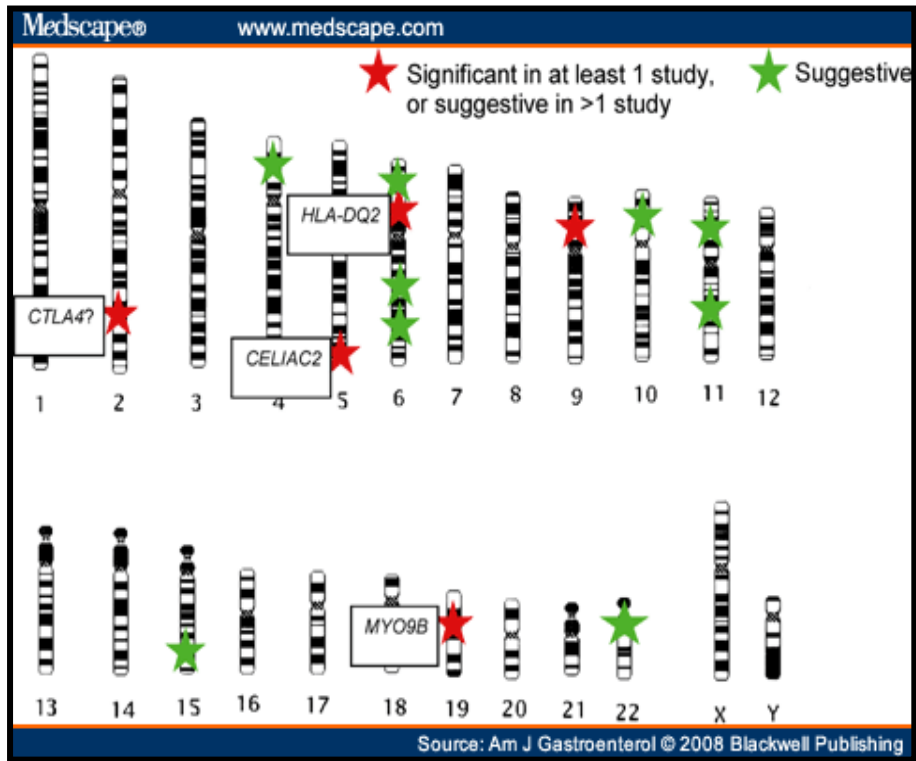


Figure 7. Locus génétique dans la MC (87)

CTLA4 : Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4, CELIAC2: gène cœliaque 2,

MYO9B : myosine IXB.

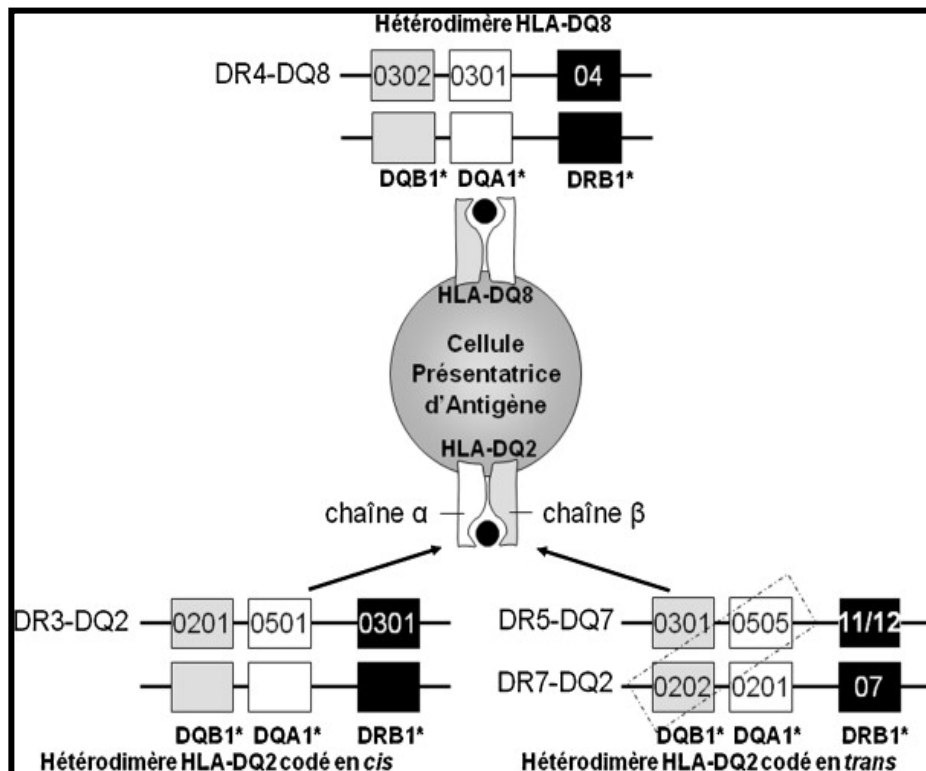


Figure 8. Haplotypes associés aux hétérodimères HLA-DQ2 et HLA-DQ8 (81)

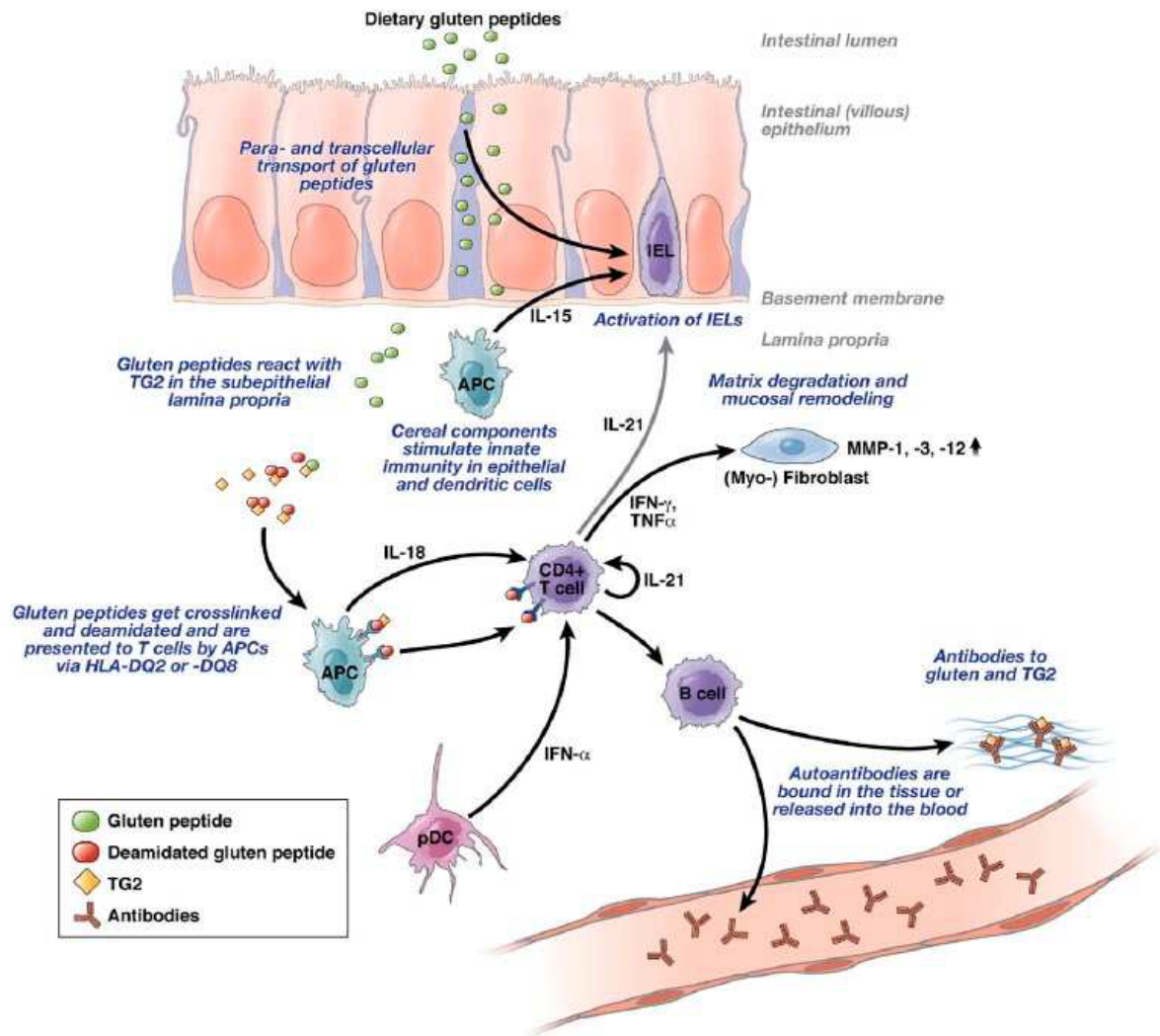


Figure 9. Physiopathologie de la maladie cœliaque (88)

1.3 Œsophagite à éosinophile

L'œsophagite à éosinophile (OE) est une maladie définie comme une entité anatomoclinique, touchant les enfants et les adultes avec un ratio de 3 hommes pour une femme. Elle est reconnue comme une entité distincte de la classique œsophagite par reflux (RGO), avec laquelle elle a été longtemps confondue. La fréquence de son diagnostic est en constante augmentation (89-91).

Elle est caractérisée par un infiltrat inflammatoire œsophagien par des éosinophiles, révélée par des symptômes cliniques traduisant une atteinte du tube digestif haut, non améliorée par un traitement anti-acide utilisant des inhibiteurs de la pompe à protons à dose efficace (89).

Les polynucléaires éosinophiles issus de la moelle osseuse, sont un type de globules blancs qui constituent un composant important du système immunitaire. Les polynucléaires éosinophiles sont présents en petites quantités dans le sang et les intestins mais pas dans l'œsophage. Ils aident à combattre certains types d'infections. Pourtant, les polynucléaires éosinophiles peuvent être dangereux lorsqu'ils apparaissent en grand nombre ailleurs que dans le sang ou les intestins. Le nombre des éosinophiles détectés dans OE supérieur à 20 éosinophiles par champ de haute puissance (HPF) contrairement à l'œsophage normal qui est exempt des éosinophiles, indique une inflammation de la muqueuse œsophagienne avec des œsophagites érosives ou ulcéreuses et un risque consécutif d'une sténose (92, 93).

1.3.1 Historique de la maladie

L'OE a été décrite pour la première fois à la fin des années 1970 et au début des années 1980, dans une population pédiatrique qui souffre de symptômes de reflux sévères résistant au traitement anti-acide et présentant une infiltration dense des éosinophiles dans la muqueuse œsophagienne (94). Par ailleurs, deux études indépendantes effectuées sur des patients adultes et pédiatriques, ont permis de confirmer la présence d'une infiltration très dense de la muqueuse œsophagienne par des éosinophiles en absence de reflux. De même une association significative avec des manifestations allergiques a été rapportée chez ces patients. C'est à partir de ces études que le concept d'une forme particulière d'œsophagite d'origine allergique, recevra finalement le nom d'œsophagite à éosinophiles ou parfois appelé l'asthme de l'œsophage (95).

1.3.2 Épidémiologie de l'OE

L'OE est une maladie qui affecte les enfants et les adultes. Environ deux fois plus de cas pédiatriques que de cas adultes. La prévalence de la maladie augmente progressivement depuis plusieurs années pour atteindre 1/10000 dans le monde. Elle atteint principalement les enfants de sexe masculin (70% vs 30%) avec des symptômes équivalents à ceux du reflux gastro-oesophagien (RGO) et une dysphagie avec une sensation de blocage alimentaire (89, 96). Une étude américaine a montré une augmentation dramatique de la prévalence qui est passé de 0.0945 % en 2001 à 0.55 % en 2005 (97). Différents travaux montrent que les affections de nature allergique (asthme, rhinite allergique, eczéma) au moment du diagnostic ou lors du suivi et des antécédents familiaux de maladies allergiques sont présents dans environ 40 % des cas (89, 98). Enfin, des antécédents familiaux de pathologies oesophagiennes sont mis en évidence dans près de 10 % des cas (100).

1.3-3 les caractéristiques Clinique de l'OE

La symptomatologie clinique varie en fonction de l'âge du patient lors de la première manifestation. Le symptôme majeur chez l'adulte est la dysphagie pour les aliments solides, allant d'une légère gêne du transit à l'occlusion complète pouvant durer de quelques minutes à plusieurs heures. Contrairement aux adultes, les enfants OE ont un spectre de plaintes nettement plus large: douleurs rétrosternales et abdominales, diarrhée, vomissement, régurgitation et retard de croissance (100).

Chez les individus avec des symptômes conformes à la maladie, une endoscopie haute indique souvent un aspect pigmenté blanchâtre, des stries longitudinales ou un aspect 'trachéolisé' (101). Chez les enfants l'endoscopie rapporte des restrictions, déchirure, le gonflement et l'épaississement de tissus des couches œsophagiennes (102). La plupart des enfants et des adultes répondent favorablement aux traitements diététiques, donc le régime élémentaire peut être le seul traitement requis. Cependant, un traitement médical tels que les médicaments pour le reflux incluant les inhibiteurs de pompe à proton ou des antihistaminiques, ainsi que des stéroïdes, n'est pas exclu (101).

1.3.4 Génétique de l'OE

L'OE est une maladie inflammatoire chronique beaucoup plus complexe qu'il ne le semble et qui est aggravé par une prédisposition génétique. Elle se présente avec un model héréditaire familiale (10 %) dont la majorité des patients sont de sexe masculin (70 %) (103, 104). Le risque de développer une OE chez la fratrie d'un membre OE est également élevé car le risque de récurrence (λ_s) chez la fratrie est de 80 comparé à 2 chez la fratrie d'un membre atteint d'une maladie atopique tel que l'asthme (105).

Certains gènes codant des protéines ayant un rôle dans la réponse immunitaire sont associés à la maladie (Figure 10). L'expression des cytokines de type Th2 (interleukines IL4, IL5, IL13) est augmentée dans les biopsies de l'œsophage des patients et leur surexpression induite par une stimulation allergénique entraîne l'apparition de la maladie dans les modèles expérimentaux (106). Il a été décrit que la molécule Éotaxine-3 CCL26 (facteur chimiotactique des éosinophiles) sont fortement induit dans l'œsophage des patients OE. La prolongation de l'expression du CCL26 pourrait en outre amplifier le recrutement des éosinophiles et la sécrétion de TGF- β 1 pour provoquer le remodelage tissulaire. Par ailleurs, l'étude de gènes candidats a identifié des variantes génétiques associées à un risque de développer l'OE tel que le polymorphisme simple nucléotide SNP (rs2308009) situé dans ce gène CCL26 (107).

La cytokine TGF- β 1 dont le rôle est de stimuler la contractilité du muscle lisse de l'œsophage pourrait contribué à la dysmotilité œsophagienne chez les patients OE (107). Un SNP dans le promoteur du gène TGF β 1 (C-509T) associée à une prédisposition à l'asthme et modulant l'activité de ce promoteur en créant un site de liaison pour le facteur de transcription YY, a été également retrouvé prévalent chez une population de 20 patient avec OE. Le génotype homozygote T/T semble être un bon indicateur pour la réponse thérapeutique (108).

Les gènes codant pour fillagrines sur le chromosome 1q21 impliquées dans le complexe de différenciation épidermique (EDC) régulent la différenciation terminale et la formation de l'enveloppe cornée de l'épithélium, contenant un variant génétique affectant le niveau d'expression des FLG a été retrouvée associée à la maladie avec un risque relative de 4.9. Ce polymorphisme génétique susceptible de perturber le fonctionnement normale de la barrière de l'œsophage pourrait entraîner une exposition accrue des antigènes et d'affecter l'intégrité des tissus en général (109).

Une autre étude génétique effectuée sur l'analyse de 351 patients montrait une forte association entre des variants génétiques dans la région du chromosome 5q22 contenant les gènes TSLP (Lymphopoïétin Stromales Thymique) et WDR36 et le risque de développer la maladie. En effet le niveau d'expression de la protéine TSLP ayant été retrouvé plus élevé chez les enfants OE par rapport au sujet contrôle. Des perturbations dans la voie de signalisation TSLP à la suite d'une mutation génétique augmentent l'expression du gène pour amplifier la réponse inflammatoire innée aux antigènes alimentaire (110, 111).

Un SNP situé dans le gène du récepteur de type cytokine facteur 2 CRLF2 de la TSLP, localisé dans les chromosomes X et Y, est significativement associé à un risque de développer la maladie chez les patients de sexe masculin (112, 113).

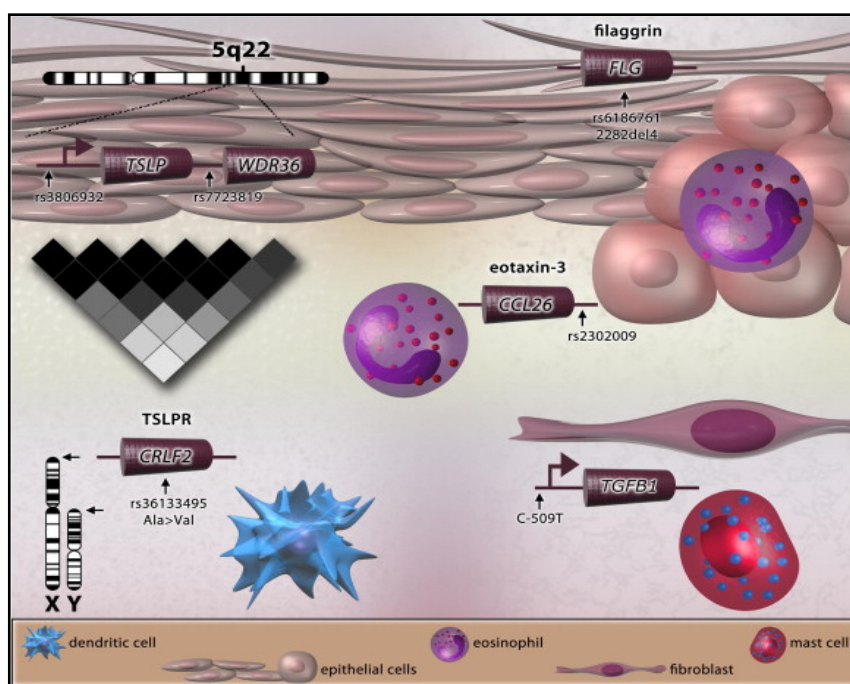


Figure 10. Les variantes génétiques chez les patients OE (103).

1.3.5 Physiopathologie de l'OE

L'œsophage sain ne contient pas de granulocytes éosinophiles, contrairement à tous les autres segments du tractus gastro-intestinal. Plusieurs recherches essayent de déterminer quels sont les mécanismes dans l'OE responsable du recrutement de ces cellules dans l'œsophage causant l'inflammation. Il ne s'agit ni d'une allergie «classique» dans le sens d'une réaction allergique de type immédiat, ni d'une allergie de contact (89, 114). Les études en expérimentation animale montrent plutôt qu'il s'agit d'une réponse immunitaire à des allergènes exogènes pouvant être soit alimentaires, soit des aéroallergènes (93). La réponse immunitaire médiée par les LTh2 qui semble responsable de cette pathologie, avec l'augmentation des médiateurs pro-inflammatoires recrutant les éosinophiles. En plus des éosinophiles, la muqueuse œsophagienne contient aussi des LT et peu de LB contribuant à des réponses inflammatoires locales (103, 115).

Une fois activés, les éosinophiles sont capables de générer un grand nombre de cytokines inflammatoires (IL-1, IL-3, IL-5, IL-13, TGF- β 1, etc), et ils contiennent également des composants granulaires préformés tels Protéine Basique de la Myéline-1 et -2 (MBP-1 et MBP-2), Neurotoxine Dérivée Des Éosinophiles (EDN), et la peroxydase éosinophilique (OEB), chacune avec ses propres effets pro-inflammatoires cytotoxiques. L'activation des éosinophiles et la libération de composants granulaires tels que MBP ont été observées chez les patients OE (116).

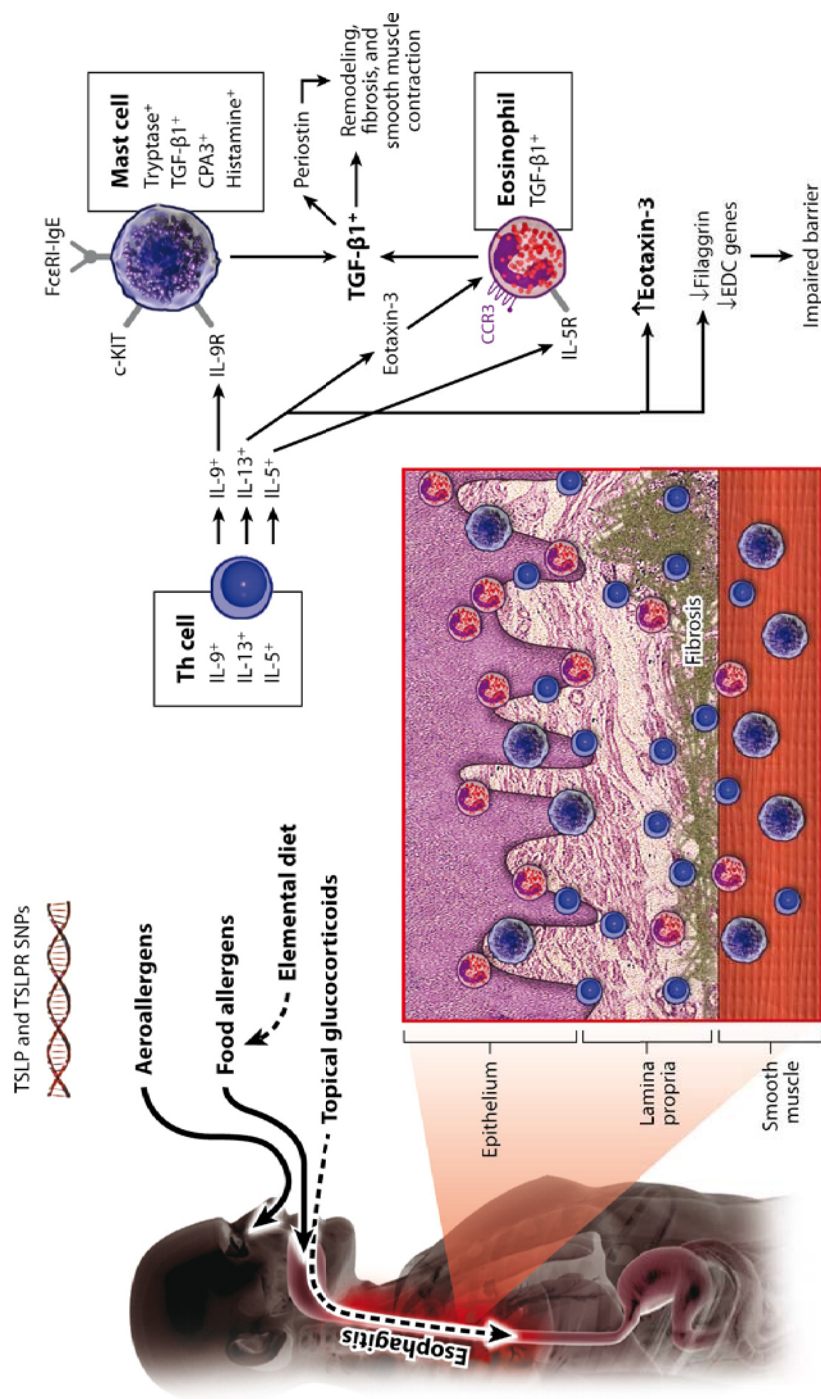
Des niveaux élevés de mastocytes chez les patients OE ont été identifiées dans la muqueuse œsophagienne et leur rôle dans OE est à déterminer (115, 117). Les mastocytes activées produisent des cytokines, des protéases, et de composés bioactifs qui stimulent les éosinophiles. Ces paramètres conduisent à une fibrose souvent apparente chez les patients pédiatriques et adultes (118, 119).

Parmi les cytokines pro-inflammatoires, le TGF- β 1 est sécrété non seulement par les mastocytes et les éosinophiles infiltrant le muscle lisse œsophagien des patients avec OE mais aussi par les cellules épithéliales (119). Également, le TGF- β 1 induit plusieurs processus qui favorisent la pathogénie de la maladie, y compris la fibrose, la contractilité du muscle lisse, et l'expression de périostine. Cette dernière favorise en outre le

remodelage des tissus, tout en réduisant le complexe de différenciation épidermique (EDC) et la régulation des gènes d'adhérence des éosinophiles et de la migration (120).

Les lymphocytes représentent une autre composante de l'infiltrat inflammatoire œsophagien (121). Cependant, la production locale des IgE par les globules blancs suggère que les IgE jouent un rôle dans le maintien plutôt que l'initiation de la maladie chez les humains. En plus de la réponse humorale médiée par les IgE, la réponse cellulaire est caractérisée par la production élevée de cytokines de type Th2 chez les patients OE (122). Ainsi ; les cytokines IL4, IL5 et IL13 et la chimiokine CCL26 (éotaxine 3) représentent une partie seulement d'une cascade complexe cellulaire et moléculaire des interactions entre les lymphocytes, les mastocytes et les éosinophiles (123).

Pour schématiser ces interactions complexes (Figure 11), IL13 induit une hyperexpression de l'éotaxine-3 par l'épithélium œsophagien et stimule la production de périostine par les fibroblastes, tout en diminuant leur production de filaggrine. L'éotaxine-3 et la périostine agissent sur les éosinophiles en les attirant et en stimulant leur recrutement. La filaggrine est une protéine structurale cutanée impliquée dans l'imperméabilité aux allergènes cutanés. Une diminution de sa fonction est associée à une augmentation de la perméabilité cutanée et à une plus grande tendance à la dermatite atopique. Dans l'OE, la fonction de la filaggrine est diminuée, élément potentiellement responsable d'un affaiblissement de la barrière de la paroi digestive et donc d'un plus grand passage d'antigènes.



Abonia JP, Rothenberg ME. 2012. Annu. Rev. Med. 63:421–34

Figure 11. La physiopathologie de l'œsophagite à éosinophile (96)

1.4 Objectifs

La génétique contribue à la susceptibilité et à la sévérité des maladies immunitaires incluant les maladies auto-immunes et inflammatoires.

1) Au sein des facteurs génétiques, la région HLA et surtout le locus HLA-DQ semblent tenir une place de choix dans la prédisposition à la maladie cœliaque. Depuis la première étude décrivant cette association, les différentes analyses menées dans les différentes populations d'origine Caucasienne, ont fait apparaître une forte susceptibilité génétique comme en témoigne le taux de concordance chez les jumeaux monozygotes (85%). Cependant, aucune étude n'a été effectuée dans la population Canadienne pour confirmer le rôle et la distribution des gènes HLA-DQ2 et DQ8 dans la prédisposition à la maladie cœliaque. **Au cours de ce travail, nous avons voulu caractériser le profil génétique HLA de prédisposition à la maladie cœliaque chez les patients adultes et enfants par des études familiales et cas-contrôle dans une population Québécoise.**

2) L'œsophagite eosinophilique est un problème en émergence à travers le monde avec une estimation d'incidence annuelle de 1/10 000. Le développement de cette maladie inflammatoire chez les patients avec une maladie atopique médiée par la réponse immune de type Th2 (70% des patients OE) et l'histoire familiale de l'OE chez plusieurs membres d'une même famille suggère la possibilité d'existence de facteurs génétiques de prédisposition. **A cet effet, nous avons voulu analyser l'impact génétique des gènes candidats IL13, IL5 et IL5-R dans l'OE.**

2. Matériel et Méthodes

2.1 Sujets

2.1.1 Maladie cœliaque

Les patients pédiatriques et adultes atteints de MC et leurs familles ont été recrutés par le biais de la fondation Québécoise de la maladie cœliaque (FQMC) dans les différentes régions du Québec.

L'étude a été réalisée sur 93 familles Caucasiennes du Québec d'origine Française dont 53 patients adultes et 90 patients enfants. Les critères d'inclusions ont été une biopsie intestinale confirmée présentant les caractéristiques de la pathologie, la présence des auto-anticorps anti-transglutaminase et/ou anti-endomysium positifs et une réponse au régime sans gluten. Les maladies associées à la maladie cœliaque ont été répertoriées en se basant sur des questionnaires.

2.1.2 Œsophagite à éosinophile

L'étude a été réalisée sur 78 familles Caucasiennes du Québec d'origine Française dont 78 enfants atteints de la maladie, 71 mères; 57 pères ; 27 sœurs et 34 frères. Le recrutement a été fait au sein du service de Gastro-entérologie et Hépatologie à l'Hôpital Saint Justine (Montréal, Québec, Canada).

Le diagnostic a été fait par une endoscopie supérieure accompagnée de biopsies de l'œsophage chez les personnes présentant des symptômes suggestifs et qui ne répondaient pas à des traitements pour le reflux gastro-œsophagien. Les patients inclus dans cette étude avaient un nombre d'éosinophiles supérieur à 20 éosinophiles par HPF. Les maladies associées à l'OE ont été répertoriées en se basant sur des dossiers cliniques des patients.

Une population contrôle composée de 96 sujets Caucasiens appariés pour l'origine a été analysée pour mettre la comparaison des fréquences génotypique dans les analyses statistiques cas-contrôles.

Pour les deux études, les approbations du comité d'éthique de la recherche du CHU Ste-Justine ont été obtenues avant le recrutement des participants.

2.2 Méthodes

2.2.1 Extraction de l'ADN

L'extraction de l'ADN génomique a été effectuée sur la salive à l'aide du Kit Oragene pour l'étude des familles avec MC. C'est un procédé de recrutement efficace et sans douleur surtout pour les enfants. La salive récupérée dans un contenant avec une solution de conservation peut être gardé à la température ambiante pendant des années. Les régions génétiques ciblées ont été amplifiées par la méthode d'amplification génomique (PCR) avec des sondes spécifiques de séquences (PCR-SSP). Le typage HLA de classe II réalisé pour les locus DRB1, locus (DR), DQA et DQB (locus DQ). Toutes les techniques relatives à cette partie sont déjà mises au point dans notre laboratoire (124).

L'extraction d'ADN génomique à partir du sang fraîchement recueilli ou décongelé a été réalisée pour l'étude des familles avec OE. Le sang doit être initialement mélangé à une solution hypotonique CLB (Cell Lysis Buffer) pour faire éclater les globules rouges le CLB est composé 102.7g de sucrose, 5 ml de Tris 2M a pH 7.6, 5ml de MgCl₂ 15mM, 10 ml triton 100X 1% et une quantité suffisante pour 1000ml d H₂O. Pour 5 ml de sang, 10 ml de CLB ont été ajouté afin d'éclater les globules rouges à l'aide d'un vortex. Après une centrifugation de 5-10 mn à 3000 rpm un culot a été récupéré. Ce lavage des globules rouges est répéter 2 fois ou 3 fois pour le sang congelé. Le culot récupéré composé essentiellement de globules blancs est remis en suspension dans 380 µl de Solution de Lyse des globules Blancs (SLB). La solution SLB est composée de 0.5 ml de Tris 2M pH 7.6, 2.5 ml d'EDTA 0.4 M pH 8.0, 1.7 ml de NaCl 3 M, 2 ml SDS 10% et une quantité suffisante d'eau pour 100 ml. La protéinase K à 20 µg/µl est ajoutée au mélange culot-SLB pour une digestion enzymatique de 2 heures à 65°C, en agitant vigoureusement à la main a chaque 10 mn, ou durant toute la nuit à une température ambiante en plaçant les tubes sur un agitateur. Une solution saline (200 µl de NaCl 6M) est ajouté afin d'éliminer par précipitation sélective les protéines. Après une agitation vigoureuse, la solution est centrifugée à 13000 rpm durant 15 mn puis le surnageant est transféré dans un autre tube propre. L'ADN est ensuite précipité par addition de l'éthanol absolu (100 %) à 4°C au surnageant récupéré volume à volume (V/V) suite a une agitation par inversion jusqu' à l'apparition de la méduse (ADN). L'ADN est ensuite lavé à l'éthanol 70% (1ml) puis

récupéré par centrifugation à 13000 rpm pendant 5 mn. Après élimination du surnageant, le culot (ADN) est séché a une température ambiante (15-20 mn) puis resuspendu dans environ 400 µl de la solution (Tris/EDTA) tampon TE.

2.2.2 Génotypage des gènes candidats

L'ADN génomique est amplifié par la méthode de PCR-SSP (séquence-specific primers) en utilisant les amorces (des oligonucléotides synthétiques d'une vingtaine de paires de bases, complémentaires de chaque extrémité du fragment d'ADN que l'on souhaite amplifier) spécifique à la séquence polymorphe étudiée au moyen d'un thermo-cycleur. Après amplification, les produits de PCR sont séparés par électrophorèse sur un gel d'agarose 2.5% et visualisés par coloration avec le bromure d'éthidium sous la lumière UV. Le couple d'amorces spécifiques permet l'amplification des séquences cibles (résultat positif) pour déterminer les allèles, tandis que les couples d'amorces non complémentaires ne donnent pas d'amplification (résultat négatif). Des contrôles positifs et négatifs sont utilisés pour un contrôle de qualité.

2.2.2.1 Génotypage des gènes HLA

Les allèles des haplotypes HLA-DQ2 et DQ8 impliqués dans la maladie cœliaque sont déterminés par amplification génomique (PCR) avec des sondes spécifiques.

La PCR a été réalisé sur 10-20 ng d'ADN génomique extrait à partir de la salive ou du sang, à l'aide d'amorces spécifique à chaque allèle pour les différents locus (Tableau 1).

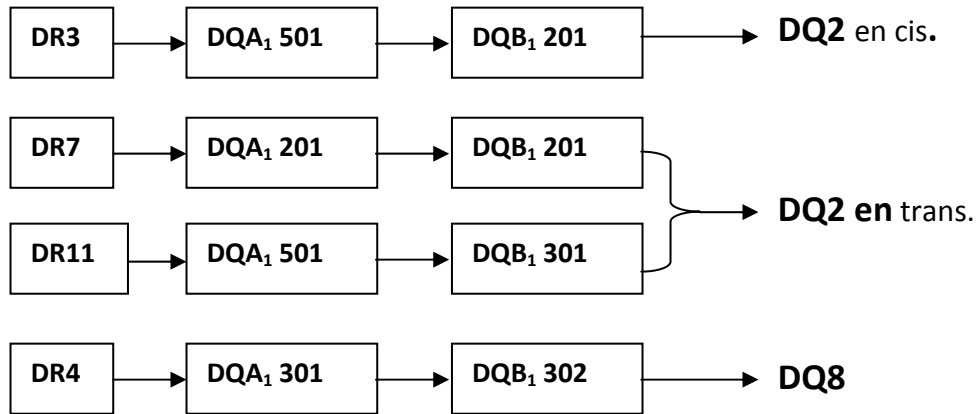


Figure 1. Les haplotypes analysés

2.2.2.1 .1 Les conditions PCR des allèles étudiés

La solution d'amplification se prépare en mélangeant pour chaque tube :

- Buffer (X10) ----- 2 µl
- dTNP ----- 0.5 µl
- Amorce ----- 0.2 µl
- TAQ polymerase (Feldan, Qc) ----- 0.15 µl
- ADN ----- 10-20 ng
- H2O q.s.p ----- 20µl

2.2.2.1 .2 Les conditions d'amplification dans le thermocycleur

95°	94°	Tm	72°	72°	4°
2'	5"	30"	30"	5"	
	X 35				∞

Tableau 1. Les amorces pour les gènes DRB1, DQA1 et DQB1 sont représentés dans le tableau suivant :

Nom des sequences	5'-Primers Sequences	Longueur 5'-Primers	3'-Primers Sequences	Longueur 3'-Primers	Tm	Longueur produit PCR	
DQB1*201	5'-GTG CGT CTT GTG AGC AGA AG-3'	20	5'-TGC AAG GTC GTG CGG AGC T-3'	19	60	205 bp	DQB1*201
DQB1*302	5'- GAC CGA GCG CGT GCG TCT -3'	18	5'- CTG CAA GGT CGT GCG GAG -3'	18	60	129 bp	DQB1*302, DQB1*303
DQB1*301	5'- GAC GGA GCG CGT GCG TTA -3'	18	5'- CTG CAA GGT CGT GCG GAG -3'	18	60	122 bp	DQB1*301, DQB 304
DQB1*501	5'- CGG AGC GCG TGC GGG G -3'	16	5'- GCT GTT CCA GTA CTC GGC AA -3'	20	60	128 bp	DQB1*501
DQA1*501	5'-ACG GTC CCT CTG GCC AGT A-3'	19	5'-AGT TGG AGC GTT TAA TCA GAC-3'	21	60	186 bp	DQA1*501
DQA1*201	5'-ACG GTC CCT CTG GCC AGT T-3'	19	5'-CAG GAT GTT CAA GTT ATG TTT TAG-3'	24	60	170 bp	DQA1*201
DQA1*301	5'-TTC ACT CGT CAG CTG ACC AT- 3'	20	5'-CAA ATT GCG GGT CAA ATC TTC T-3'	22	60	183 bp	DQA1*301
DRB1*3	5'-TAC TTC CAT AAC CAG GAG AA- 3'	20	5'-AGTAGT TGT CCA CCC GGC-3'	18	52	148 bp	DRB1*3
DRB1*15	5'-TCC TGT GGC AGC CTA AGA G-3'	19	5'-CCG CGC CTG CTC CAG GAT-3'	18	60	210 bp	DRB1*15
DRB1*16	5'-TCC TGT GGC AGC CTA AGA G-3'	19	5'-AGG TGT CCA CCG CGG CG -3'	17	60	240 bp	DRB1*16

DRB1*4	5-GTT TCT TGG AGC AGG TTA AAC A-3'	22	5'-CTG CAC TGT GAA GCT CTCA C-3	19	58	260 bp	DRB1*4
DRB1*7	5'- CCT GTG GCA GGG TAA GTA TA -3'	20	5'-CCC GTA GTT GTG TCT GCA CAC -3'	21	60	232 bp	DRB1*7
DRB1*11	5'- GTT TCT TGG AGT ACT CTA GCT C-3'	22	5'-CTG GCT GTT CCA GTA CTC CT -3'	20	60	176 bp	DRB1*11

2.2.2.2 Étude du polymorphisme des gènes IL 13, IL5 et IL 5 R

Le polymorphisme génétique des gènes IL13, IL5 et IL5R a été étudié par les méthodes de PCR-SSP en utilisant des amorces spécifiques d'allèles chez des enfants Québécois présentant une OE et une population contrôle apparie pour l'origine.

2.2.2.2.1 Polymorphisme de l'IL13

Tableau 2. Amorces utilisées pour étudier le polymorphisme génétique du gène IL13 (R130Q) :

Nom des sequences	5'-Primers Sequences	Longueur 5'-Primers	3'-Primers Sequences	Longueur 3'-Primers	Tm	Longueur produit PCR
IL-13A	5' ACT TTT TCG CGA GGG ACA 3'	18	5' ACA GGC TGA GGT CTA AGC 3'	18	64	176
IL-13G	5' ACT TTT TCG CGA GGG ACG 3'	18	5' ACA GGC TGA GGT CTA AGC 3'	18	64	160

L'amplification a été réalisé selon les conditions suivantes : 95°C pour 2 min, puis 5 s à 94°C et 30 s à 64°C, et 30s à 72°C pour 35 cycles ensuite 5mn pour 72°C.

2.2.2.2.2 Polymorphisme de l'IL5

Tableau 3. Amorces utilisées pour étudier le polymorphisme génétique du gène IL-5 (-746T/G):

Nom des sequences	5'-Primers Sequences	Longueur 5'-Primers	3'-Primers Sequences	Longueur 3'-Primers	Tm	Longueur produit PCR
IL-5-C	5' GCT CAT GAA CGA AAT ACA TAC 3'	21	5' GAA GGT ATT GGC TCA TAG AAC 3'	21	56	140 bp
IL-5-T	5' GCT CAT GAA CAG AAT ACA TAT 3'	21	5' GAA GGT ATT GGC TCA TAG AAC 3'	21	56	120 bp

La PCR débutait avec 2 minutes à 95°C, suivies de 35 cycles composés de 5 secondes à 94°C, 30 secondes à 56°C et 30 secondes à 72°C. Ainsi qu'une phase finale qui durait 5 minutes à 72°C.

2.2.2.2. 3 Polymorphisme de l'IL5-R

Tableau 4. Amorces utilisées pour étudier le polymorphisme génétique du gène IL-5R (-80A/G)

Nom des sequences	5'-Primers Sequences	Longueur 5'- Primers	3'-Primers Sequences	Longueur 3'-Primers	Tm	Longueur produit PCR
IL-5R A	5' GAA GGA AGC TGC CTG AGA A 3'	19	5' GAG AAA TGC GGT GGC CAT G 3'	19	56	160 bp
IL-5R -G	5' GAA GGA AGC TGC CTG AGA G 3'	19	5' GAG AAA TGC GGT GGC CAT G 3'	19	56	243 bp

L'amplification a été réalisé selon les conditions suivantes : 95°C pour 2 min, puis 5 s à 94°C et 30 s à 56°C, et 30s à 72°C pour 35 cycles ensuite 5mn pour 72°C

2.3 Études statistiques

Lorsqu'une population est polymorphe pour un caractère donné, il est possible de calculer la fréquence des phénotypes observés et de calculer aussi la fréquence génotypique. Les calculs de fréquences sont réalisés par un comptage des individus portant l'allèle considéré, en tenant compte que les individus homozygotes pour cet allèle seront comptabilisés comme 1 pour le calcul des fréquences phénotypiques et comme 2 pour le calcul des fréquences alléliques.

Les études d'association ont pour but d'identifier un marqueur pour lequel un allèle est plus fréquent chez les sujets malades par rapport aux sujets sains. On dit alors que cet allèle est associé à la maladie. Il est possible d'effectuer ces études à partir d'échantillons de cas et de témoins, mais également à partir d'échantillons de familles. Une association peut être due, soit à l'existence d'une liaison, soit à une stratification de la population, soit à d'autres facteurs.

1) Mesure de l'association dans les études Cas-Contrôles

Pour démontrer l'existence d'une association entre une pathologie et les marqueurs génétiques, il faut savoir la répartition des allèles dans un groupe de malades non apparentés et dans un échantillon de témoins non apparentés provenant d'une population donnée. La comparaison des fréquences entre témoins et malades pour chaque allèle est basée sur le test de Chi-carré (χ^2). Ce test est plus souvent utilisé pour démontrer une association à partir d'un seuil de signification ($P=0.05$). Lorsque le nombre d'individus portant l'allèle donné est inférieur à 5, on utilise le test Fisher. Pour évaluer l'intensité de l'association, on utilise plus souvent la méthode des Odd ratio (OR).

2) Mesure de l'association dans les études familiales

Le test de déséquilibre de transmission (TDT) est fondé sur la comparaison des allèles ou des haplotypes transmis ou non-transmis des parents hétérozygotes aux enfants atteints. Les haplotypes parentaux transmis à l'enfant atteint, constituent le groupe à risque et les haplotypes parentaux non-transmis constituent le groupe contrôle (interne). Ce test permet de montrer une liaison/association intrafamiliale d'un gène candidat. La déviation de la fréquence des allèles sera comparée à la fréquence théorique attendue

(50%). Une transmission significative révélant un déséquilibre significatif (liaison/association) est calculée par le test statistique Chi-carré du TDT (1df) en utilisant la formule $(a-b)^2/(a+b)$, où a et b sont le nombre de fois qu'un allèle est transmis (T) et non transmis (NT). Un deuxième groupe contrôle constitué par l'analyse de la transmission des allèles aux enfants non-atteints des mêmes familles, sera comparé aux fréquences des allèles transmis aux enfants atteints par le test d'hétérogénéité en utilisant la table de contingence 2 X 2. Une valeur de $P < 0.05$ sera considérée significative par le test de Fisher en utilisant un logiciel d'analyse de données statistiques «Instat».

3) Mesure de la puissance statistique

Dans la plupart des cas d'analyse statistique, la probabilité de trouver des associations significativement positives ou négatives, doit être estimée par des calculs de puissance statistique des groupes de sujets à analyser. D'une manière générale, plus la taille d'échantillon N est grande, plus l'erreur d'échantillonnage tend vers zéro. Par ailleurs, le test de puissance permet de calculer la puissance statistique et estimer la taille d'échantillon requise pour la plupart des procédures statistiques traditionnelles traitant le nombre de cas- témoin ou de familles à inclure dans notre étude. Les calculs de puissance ont été effectués à l'aide d'un logiciel d'analyse statistique des données édités par la société StatSoft, Inc. (STATISTICA).

Pour le calcul de puissance des études d'association chez des familles avec les gènes HLA par le test de TDT, le nombre de 93 familles utilisé dans notre analyse est largement suffisant pour confirmer les associations retrouvées dans notre population. Toutefois, le test de simulation suppose que pour une fréquence allélique de 10 ou 20% avec une puissance de 95%, le nombre de famille doit être 40 et 20 respectivement.

Pour le calcul des études d'association dans l'analyse cas-contrôle, le test de simulation a été estimé pour une fréquence alléliques de 20% et plus, avec une puissance de 95% avec des groupes de 1 pour 1 (cas/contrôle), il faut que le nombre de sujet soit entre 50 et 70.

Ainsi, ces nombres de sujet estimés pour nos études familiales ou cas-contrôles sont semblables à nos cohortes analysées pour les gènes candidats.

3. Résultats

3.1 Maladie Cœliaque

Cette étude a permis de mieux comprendre l'histoire de la maladie au Québec, les données cliniques recueillis ont été regroupées dans le tableau suivant :

Tableau 1. Tableau clinique de la maladie cœliaque

Adulte (Femme/Homme)	2F / 1H
Enfant (Garçon / Fille)	1G / 1 F
<u>Age de diagnostique</u>	
Adulte	45.9 ±11.8 ans (23-74 ans)
Enfant	7.5 ± 4.5 ans (1-17 ans)
<u>Maladies associées a la MC</u>	
1-maladies d'origine immunitaire (allergies, asthme, diabète type1, anémie, vitiligo, arthrite rhumatoïde, Sjögren,.)	25%
-Thyroidites	15%
2-maladies non immunitaire	8 %
Histoire familiale de MC	25 %
Histoire familiale de (maladies immunitaires)	20%

D'après les résultats indiqués dans le tableau clinique (Tableau 1), on constate chez l'adulte que la maladie est présente deux fois plus chez les femmes que chez les hommes (2F/1H). L'âge de diagnostique est précoce chez les femmes dont 25 %, il est entre 30-39 ans comparativement à 6 % dans la même tranche d'âge chez les hommes. Pour la tranche d'âge 40-49 ans, 42 % de femmes et 47% des hommes sont diagnostiqués. Par ailleurs, 75 % de patients pédiatrique ont développé la maladie entre l'âge de 1-5 ans.

Ces données cliniques indiquent que 25 % de patients ont d'autres maladies d'origine immunitaire, dont 15 % sont des thyroidites auto-immunes et le reste sont des maladies

inflammatoires et auto-immunes incluant les allergies, l'asthme, diabète type1, anémie, vitiligo, arthrite rhumatoïde, Jögren,..). Toutefois, il faut noter que 8% des patients présentaient également d'autres maladies non immunitaires associées. Enfin, il faut noter que 25 % de patients présentent une histoire familiale liée à la MC et 20 % ont une histoire familiale liée avec d'autre maladie d'origine immunitaire.

3.1.1 Étude cas-contrôle des gènes HLA -DQ2 et DQ8

L'analyse des différents haplotypes codant pour les molécules HLA DQ2 et DQ8 de prédisposition à la maladie cœliaque a été réalisée pour les gènes DRB1 (locus DR), DQA₁ et DQB₁ (locus DQ). Nous avons comparé en premier temps les fréquences de ces haplotypes dans une population Québécoise constitué de patients adultes et enfants par rapport à la population générale (étude cas-contrôle).

Tous les patients sont positifs soit pour DQ2 ou DQ8 ou DQ2 et DQ8. Les fréquences des haplotypes de HLA DQ2 est de 81,11% (OR=15,65, P=<0,0001) chez les patients atteint de la MC par apport à 21,5% chez une population contrôle. Pour l'haplotype HLA-DQ8, sa fréquence était de 18.88 % par apport à 11,3% pour le groupe contrôle. Cependant, il est intéressant de noter qu'aucun patient n'était négatif pour HLA DQ2 ou DQ8 (non DQ2 ou non DQ8) (0 %, OR=0,0017, P=<0,0001) alors que dans le groupe contrôle 67.1% de sujets étaient non DQ2 ou non DQ8 (Tableau 2).

Tableau 2. Fréquences des haplotypes HLA de prédisposition a la maladie cœliaque au Québec.

	Patients coeliaque n=143	groupe contrôle n=195
HLA DQ2 OR P-value	116(81.11%) 15,65 (9,11-26,86) < 0,0001	42 (21,5%)
HLA DQ8 OR P-value	27(18,88%) 1,83 (0,99-3,36) 0,0712	22(11,3%)
Non-DQ2 et non DQ8 OR P-value	0 0,0017 (0,0001-0,0279) < 0,0001	131 (67,1%)

Ces résultats confirment pour la première fois l'association de ces gènes HLA à la maladie cœliaque au Québec.

En dissociant les patients selon l'âge de l'apparition de la maladie en groupe adulte ou enfant, les fréquences haplotypique HLA DQ2 restent significativement augmenté chez les deux groupes de patients par apport aux contrôles ($P = <0,0001$ pour les deux groupes vs contrôles). Chez les patients adultes la fréquence de HLA-DQ2 est de 94,33% (OR=60,71; $P = <0,0001$) par apport à 21,5% des contrôles. Cependant, cette fréquence est retrouvée à 73,3% seulement chez les enfants mais qui reste tout de même significativement élevée par rapport au groupe contrôle DQ2 (OR=10,1; $P = <0,0001$).

Tableau 3. Fréquences des haplotypes HLA-DQ2, HLA-DQ8 chez les adultes ou enfants cœliaques par apport au contrôle.

	Enfants coeliaque n=90	Adultes coeliaque n=53	groupe contrôle n=195
HLA DQ2 OR P-value	66 (73,3%) 10,1(5,6-17,8) < 0,0001	50 (94,33%) 60,714 (18,02-204,4) < 0,0001	42 (21,5%)
HLA DQ8 OR P-value	24 (26,7%) 2,8 (1,5-5,4) < 0,001	3 (13,20%) 0,4718 -	22(11,3%)
Non-DQ2 et non DQ8 OR P-value	0 (0,0%) 0,002 (0,0002-0,04) < 0,0001	0 (0,0%) 0,0046(0,0003-0,0755) < 0,0001	131 (67,1%)

D'autre part, la différence entre les adultes et les enfants (94.33% vs 73.3%) n'est pas significative (Tableau 3).

La fréquence de l'haplotype HLA DQ8 est significativement augmentée chez les enfants par apport au groupe contrôle (26.7% vs 11.3%, $P < 0.001$) mais elle est similaire entre les adultes et le groupe contrôle. Également, cette fréquence est deux fois plus élevée chez les enfants par apport aux adultes (26.7% vs 13.20%).

3.1.2 Étude intrafamiliale des gènes HLA -DQ2 et DQ8

Afin de confirmer la présence ou l'absence d'une association intrafamiliale des haplotypes HLA-DQ2 et HLA-DQ8 à la maladie cœliaque, une analyse statistique fondée sur la comparaison des haplotypes transmis ou non transmis des parents hétérozygotes aux enfants atteints ou non atteints a été réalisée chez 93 familles Québécoises (tableau 4).

Tableau 4. Fréquences des haplotypes transmis.

total	% transmission		TDT X2	P
	atteint	non atteint		
	DQ2	96,07	52	84
DQ8	80,95	50	8,04	0,0046

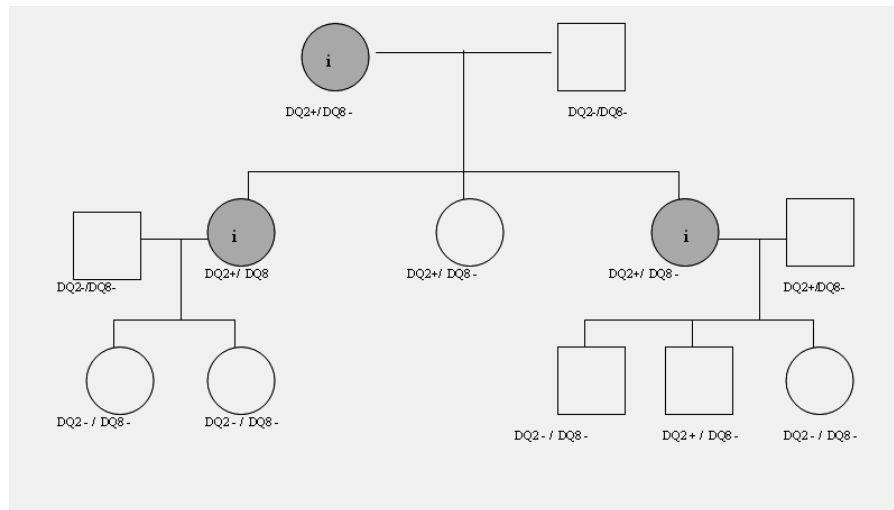
adultes	% transmission		TDT X2	P
	atteint	non atteint		
	DQ2	100	55,17	18
DQ8	57,14	40	0,14	0,7083

Enfants	% transmission		TDT X2	P
	atteint	non atteint		
	DQ2	93,93	47,61	66
DQ8	92,85	40	10,28	0,0013

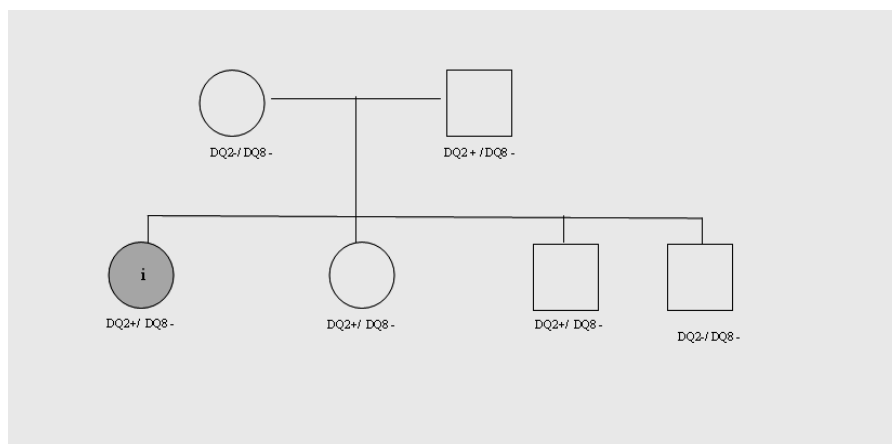
L'analyse des haplotypes transmis (HLA DQ2 ou HLA DQ8) chez les familles cœliaque avec un adulte ou un enfant atteint a permis de confirmer une association intrafamiliale des haplotypes de prédisposition à la maladie cœliaque comme en témoigne le déséquilibre de transmission significatif retrouvé chez les patients par rapport au 50% théorique attendu (96.07% pour HLA-DQ2 et 80,5% pour DQ8).

Par ailleurs, cette différence significative dans la transmission de l'haplotype HLA DQ2 est retrouvée chez les patients adultes et enfants par rapport à leur fratrie non atteinte : 100% MC vs 55,17% non atteint; $P < 0,0001$ chez les adultes et 93,33% vs 47,61% ; $P < 0,0001$ chez les enfants. Par contre, pour l'haplotype HLA DQ8, le déséquilibre de transmission est retrouvé uniquement chez les enfants (92,85% MC vs 40% non atteint ; $P < 0,0013$) et non chez les adultes (57,14% MC vs 40% non atteint ; $P < 0,7083$).

Pedigree de la famille 01 (Adultes avec MC)



Pedigree de la famille 02 (enfant avec MC)



(i) : patient atteint de la MC

Figure 1. Exemples de familles étudiées

3.2 Œsophagite à éosinophile

L'association de certains gènes candidats impliqués dans la réponse immunitaire pathologique médiée par les lymphocytes CD4 Th2 dans l'OE, a été effectuée pour les gènes IL-13, IL-5 et IL5-R chez une population pédiatrique dont les données cliniques sont résumées dans le tableau 5. De nombreuses études génétiques ont cartographié une région chromosomique 5q31-33 de susceptibilité aux atopies et l'asthme chez plusieurs populations. Cette région contient un ensemble de gènes codant pour des cytokines pro-inflammatoires (IL-4, IL-5, IL-9 et IL-13) impliquées dans la régulation du système immunitaire. Deux membres de ce groupe (IL-5 et IL-13) ont été à la fois génétiquement et fonctionnellement impliqués dans la pathogenèse des pathologies médiées par la réponse immune Th2.

Tableau 5. Les caractéristiques cliniques des patients OE

Garçons/Filles	54/24 (70%/30%)
Age au diagnostic (année et étendue)	10,4 +-3,9 (1 – 16 ans)
Age Filles (années)	9,5 +-5,4
Age Garçons (années)	10,6 +-3,4 (p=0,04)
Terrain atopique	78%
Asthme / Rhinite allergique	49%/53%
Entéropathie à éosinophiles	14%

3.2.1 Polymorphisme du gène IL13

Le gène IL-13 contient plusieurs SNPs localisés dans les régions introniques, codantes et régulatrices. Ces différents SNPs sont en forte déséquilibre de liaison. Certains d'entre eux, comme le SNP (+2044 G/A) dans l'exon 4 du gène responsable du changement de

l'acide aminé en position 130 (Argénine/Glutamine ou R/Q) a été retrouvé associé à plusieurs maladies atopiques, l'asthme, pathologies avec éosinophile et enfin une augmentation des IgE sérique.

Étant donné, le rôle important de l'IL-13 dans la réponse immune Th2 impliquée dans la physiopathologie de l'OE, nous avons comparé la distribution des génotypes AA, AG et GG entre les enfants avec OE et le groupe contrôle. Le génotype AG est diminué significativement chez les patients (27% vs 49%, P= 0.0014) alors que le génotype GG est significativement augmenté chez les patients (68% vs 42%) par rapport au contrôles. Ces résultats montrent que le génotype GG confère une prédisposition à OE avec un risque de 2.8. Cependant, quand on analyse le phénotype par la présence de l'acide aminé R ou Q, on constate uniquement une différence significative pour le phénotype Q. Cette diminution de la fréquence chez les patients (32% vs 57%, P = 0.0008) indique que le phénotype Q confère une protection contre la maladie.

Tableau 6. La distribution de fréquences génotypique et phénotypique du polymorphisme A/G du gène IL 13 chez les patients OE comparé aux contrôles.

IL-13	EE patients (n=78)	Control (n=96)	O R	P value	χ^2
Phénotype					
A (Q)	25 (32%)	55 (57 %)	(0.35)	0.0008	10.05
G (R)	73 (94%)	88 (91 %)	(1.23)	NS	0.0361
Génotype					
AA	5 (6%)	8 (8%)	(0.75)	NS	0.036
AG	20 (27%)	47 (49%)	(0.35)	0.0014	8.92
GG	53 (68%)	41 (42 %)	(2.8)	0.0008	10.05

Étant donné la grande disparité entre les garçons et les filles pour développer la maladie, il était important de séparer le groupe de malade pour déterminer si les résultats génétiques ne seront pas influencés par le genre.

On ne retrouve pas de différences significatives en comparant les patients selon le sexe. Ceci indique que l'association du polymorphisme analysé est indépendante de l'effet du sexe et que cette association reflète une prédisposition à développer la maladie chez les sujets avec le génotype GG.

Tableau 7. la distribution de fréquences génotypique et phénotypique des polymorphismes simples nucléotides (SNPs) du gène IL 13 chez les garçons (G) et les filles (F) avec OE comparé aux individus sans OE (control).

IL-13	OE (G) (n=54)	OE (F) (n=24)	Control (n=96)	OR		P Value		χ^2	
				G	F	G	F	G	F
Phenotype									
A (Q)	7 (16%)	7 (29 %)	55 (57 %)	0.111	0.30	0.0001	0.025	26.6	5
G (R)	51(94 %)	22 (91 %)	88 (91 %)	1.5	1	NS	NS	0.09	0
Genotype									
AA	3 (5.5%)	2 (8.3 %)	8 (8%)	0.04	1	0.0001	NS	36.8	0
AG	15(27.7%)	5 (21 %)	47 (49%)	0.28	0.27	0.0009	0.02	10.9	5
GG	36(66.6%)	17 (71 %)	41 (42 %)	1.5	3.25	NS	0.02	0.9	5

3.2.2 Polymorphisme du gène IL5 (-746T/C) et de IL-5R (-80 A/G)

La comparaison des fréquences phénotypiques, alléliques et génotypiques entre les patients OE et le groupe contrôle ne montre aucune différence significative. Ces résultats suggèrent qu'il est invraisemblable que le polymorphisme génétique de l'axe IL-5-IL-5R soit impliqué dans la prédisposition à la maladie (tableaux 8 et 9). De même. En comparant ces polymorphismes selon le sexe. On ne retrouve aucune différence significative entre les filles et les garçons ou entre ces deux groupes et les contrôles respectivement (données non montrées).

Tableau 8. La distribution de fréquences génotypique et phénotypique des polymorphismes de IL-5 (-746T/C) chez les patients avec OE comparé aux individus sans OE

IL-5	OE patients (n=63)	Contrôles (n= 106)	P value
Phénotype			
T	57 (90%)	55 (87%)	NS
C	37 (60%)	83 (63%)	NS
Génotype			
TT	25 (40%)	39 (37%)	NS
TC	32 (50%)	53 (50%)	NS
CC	6 (10%)	14 (13%)	NS

Tableau 9. Tableau de la distribution de fréquences génotypique, phénotypique des polymorphismes simples du gène IL 5-R (-80 A/G) chez les patients avec OE comparé aux individus sans OE

IL-5R	OE patients (n=65)	Contrôles (n=74)	P value
Phénotype			
A	24 (51%)	55 (55%)	NS
G	43 (86%)	83 (88%)	NS
Génotype			
AA	8 (12%)	9 (12%)	NS
AG	26 (39%)	32 (43%)	NS
GG	31 (47%)	33 (45%)	NS

4. Discussion

Des études familiales (test de déséquilibre de liaison) ou cas-contrôles (comparaison de fréquences génotypiques) ont mis en évidence plusieurs régions chromosomiques candidates dans la susceptibilité à la maladie cœliaque ou à l'œsophagite eosinophilique (125), avec parfois une participation variable selon les différentes populations. L'existence d'interaction entre certains de ces gènes candidats et les gènes HLA ne peut être exclue. Parmi les différents gènes candidats codant pour des molécules ayant des fonctions impliquées dans le processus immunitaire, les gènes codant pour les différentes cytokines ou leurs récepteurs sont de bons candidats pour expliquer la susceptibilité à ces maladies (126). Enfin, cette première étude chez les familles Québécoises avec un fond fondateur pourraient également augmenter les possibilités pour détecter les polymorphismes de faibles fréquences.

4.1 Maladie cœliaque et HLA au Québec

Comme pour toutes les autres maladies chroniques, la maladie cœliaque affecte une proportion relativement importante de la population (1%), et représente un lourd fardeau sur les systèmes de soins de santé. La prédiction du risque peut être utilisés pour aider à l'amélioration du diagnostique et comme moyen de prévention (127, 128, 129). Pour les patients cœliaques, le diagnostique précoce signifie une intervention précoce au traitement et à la prévention des complications à long terme, y compris le développement de phénotypes graves et irréversibles et d'autres pathologies auto-immunes (130). Les seules variantes dont la fonction et l'implication dans la MC sont connues, et étudiées chez différentes population sont HLA-DQ2 et HLA-DQ8. Plus de 99% de patients sont porteurs des allèles HLA-DQ2 et/ou DQ8, mais environ 20-30% de la population générale également porteuses ne développent jamais cette maladie. Cependant, la majorité des études impliquant les gènes HLA ont été réalisées chez les populations pédiatriques et à ce jour, il n'existait pas de travaux réalisés sur des familles avec MC chez l'adulte qui permettent de confirmer l'association des gènes HLA de prédisposition détectés par des études d'associations chez des patients non apparentés. Par ailleurs, le

recrutement des familles ayant un fond génétique très similaire (effet fondateur) permettra d'éviter le problème de stratification des populations.

En outre, les différences cliniques et biologiques selon l'âge d'apparition de la maladie laissent supposer l'existence de variabilités génétiques de risques différentes entre les enfants et les adultes. Les quelques rares études effectuées chez les patients adultes (petits groupes) ne permettaient pas de distinguer clairement la distribution des fréquences des haplotypes de prédisposition à la maladie. Ainsi, depuis 2007, nous avons collecté de l'ADN génomique de familles avec un enfant ou adulte atteint de MC. Tous les patients ont été parfaitement caractérisés sur le plan clinique (âge de début de la maladie, antécédents familiaux et évolution sous régime sans gluten), biologique et immunologique (auto-anticorps et biopsies).

Les résultats de nos travaux ont permis d'obtenir les conclusions suivantes :

- a) L'âge de diagnostique chez les femmes est plus précoce que les hommes pour les adultes avec un ratio de 2F/1H et de 1 pour 1 chez les enfants. Cette différence entre les enfants et les adultes est comparable à ce qui a été déjà décrit dans la littérature (130). La majorité des patients cœliaque adultes sont diagnostiqués entre l'âge de 34-57 ans (45 ans la moyenne) alors que dans les autres populations, la moyenne de l'âge se situe au début de la trentaine, cette différence peut être attribuée au retard du diagnostic de la maladie chez l'adulte au Québec qui est d'environ 10 ans entre l'apparition des symptômes et le diagnostic (132).
- b) Le diagnostique des enfants dans notre population est entre 1 et 5 ans (75% des enfants) comparativement aux études antérieures qui situent l'âge de diagnostique entre 1-2 ans (133)
- c) Chez les deux sexes, l'association aux maladies immunitaires est élevée (25%) dont 15% sont des thyroïdites auto-immunes. Cependant, la prévalence de ces thyroïdites chez les patients avec MC dans les quelques rares études est estimée entre 3-5 % (134).
- d) La distribution des fréquences des gènes HLA-DQ2 est plus élevée que HLA-DQ8 chez les patients enfants et adultes confondus avec une MC (81.11 vs 18.88) et qui est comparable aux données de la littérature avec HLA-DQ2 (90-95 %) et HLA-DQ8 (5-10%). La séparation du groupe de patients selon l'âge d'apparition

de la maladie montre une différence dans la distribution de ces fréquences entre les adultes et les enfants, mais toutefois, ils restent significativement augmentés chez les deux groupes par rapport au groupe contrôle. En plus de ces résultats, l'absence de patients avec un haplotype différent de HLA-DQ2 et DQ8 chez les 2 groupes de patients confirment l'importance des gènes HLA dans l'exclusion de la maladie au cours du diagnostique car la valeur prédictive négative dans notre population est de 100%.

- e) La prépondérance de la fréquence de HLA DQ8 chez les enfants par rapport aux adultes (26.7% vs 13.2%) suggère que cette haplotype pourrait jouer un rôle important dans l'apparition précoce de la maladie et/ou la sévérité de la maladie. De même, l'analyse des haplotypes transmis (HLA DQ2 ou HLA DQ8) chez les familles coeliaque avec un adulte ou un enfant atteint a permis de confirmer cette association intrafamiliale pour HLA-DQ2 pour les 2 groupes malades et également, la différence dans la transmission de HLA-DQ8 chez les enfants par rapport aux adultes (92.8% vs 57.1%).

Cette étude a confirmé pour la première fois dans une population Québécoise, que les gènes HLA sont associés à la maladie coeliaque.

4.2 L'œsophagite eosinophilique au Québec

L'œsophagite eosinophilique est une maladie inflammatoire chronique de l'œsophage qui est aggravée à la fois par une prédisposition génétique et des réactions immunes aberrantes à des antigènes environnementaux, en particulier ceux qui sont dérivés des aliments. Plusieurs données indiquaient que la réponse immune impliquée dans OE, est partiellement attribuable à la réponse Th2 induite par la cytokine IL-13. En outre, un certain nombre de variantes de risque génétique associées à la prédisposition à la maladie, démontre l'existence d'autres mécanismes contribuant au risque de développer la maladie. Cependant, comme l'OE est une entité émergente, il y a peu d'études génétiques en comparaison avec d'autres maladies allergiques ou l'asthme pour confirmer ces données génétiques dans les différentes populations. De plus, la majorité de ces travaux ont été réalisés par une seule équipe aux États-Unis (125). A cet effet,

notre population Québécoise (effet fondateur) semble très indiquée pour confirmer l'impact génétique sur le déclenchement de la maladie.

Nos résultats obtenus à partir de l'analyse de gènes candidats impliqués dans la réponse immunitaire médiée par les lymphocytes CD4 Th2 dans une population pédiatrique Québécoise ont montré que:

- a) Les données cliniques dans notre population reflètent celles décrites dans les autres populations avec une prépondérance chez les garçons (70%) et une association de la maladie avec des maladies atopiques incluant l'asthme (78%).
- b) Pour le réseau IL-5-II-5R, les polymorphismes génétiques analysés dans cette étude ne montrent pas de différence significative entre les patients avec OE et le groupe contrôle. De même, on ne retrouve pas de différence significative en comparant les patients selon le sexe.

Au contraire, le polymorphisme génétique (R130Q) impliqués dans l'augmentation du niveau sérique des IgE, a été retrouvé avec une variabilité significative entre les patients OE et le groupe contrôle. De même, cette association reste significative chez les garçons et les filles. Ceci suggère que l'association du polymorphisme génétique fonctionnel de l'IL13 est indépendante du sexe et pourrait exercer un effet important sur le développement de la maladie. Ces données génétiques consolident les résultats montrant que le niveau de l'ARNm de l'IL-13 était nettement augmenté (16 fois) dans les biopsies de patients OE comparés à celles des contrôles, et que le traitement des cellules épithéliales primaires de l'œsophage par IL-13 était suffisante pour induire une expression de transcription semblable au profil retrouvé dans les biopsies des patients OE (135).

Conclusion :

L'intérêt d'étudier de nouveaux marqueurs immunogénétiques est de permettre d'affiner le diagnostic et la prédiction vis-à-vis du développement de la maladie. D'autre part, la mise en évidence de(s) gène(s) de susceptibilité pourrait nous aider à améliorer la compréhension de la physiopathologie et éventuellement contribuer à l'élaboration de stratégies thérapeutiques pour les maladies auto-immunes et inflammatoires.

Références bibliographique

1. Davidson A, Diamond B. Autoimmune diseases. *N Engl J Med*. 2001 Aug 2; 345 (5):340-50.
2. Delves PJ, Roitt IM. The immune system. First of two parts. *N Engl J Med*. 2000 Jul 6; 343(1):37-49.
3. Palucka K, Banchereau J. Dendritic cells: a link between innate and adaptive immunity. *J Clin Immunol*. 1999 Jan; 19(1):12-25.
4. Delves PJ, Roitt IM. The immune system. Second of two parts. *N Engl J Med*. 2000 Jul 13; 343(2):108-17.
5. Hoffmann JA, Kafatos FC, Janeway CA, Ezekowitz RA. Phylogenetic perspectives in innate immunity. *Science*. 1999 May 21; 284(5418):1313-8.
6. Rautajoki KJ, Kylaniemi MK, Raghav SK, Rao K, Lahesmaa R. An insight into molecular mechanisms of human T helper cell differentiation. *Ann Med*. 2008; 40(5):322-35.
7. Klein J, Sato A. The HLA system. First of two parts. *N Engl J Med*. 2000 Sep 7; 343(10):702-9.
8. Tsuneyasu K. Elucidating the mechanism behind immunity using dendritic cells. *Riken Research*. 2007; 2(8).
9. Louka AS, Sollid LM. HLA in coeliac disease: unravelling the complex genetics of a complex disorder. *Tissue Antigens*. 2003 Feb; 61(2):105-17.
10. Sollid LM, Khosla C. Future therapeutic options for celiac disease. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*. 2005 Mar; 2(3):140-7.
11. Roujon P, Guidicelli G, Moreau JF, Taupin JL. [Immunogenetics of celiac disease.]. *Pathol Biol (Paris)*. 2011 May 25.
12. The MHC sequencing consortium. Complete sequence and gene map of a human major histocompatibility complex. 1999; *Nature* 401(6756): 921-923.
13. Caillat-Zucman S., Génétique du système HLA. *John libbey Eurotext*. 2002; 8 (3), 162-6.

14. Forbes SA, Trowsdale J. The MHC quarterly report. *Immunogenetics*. 1999 Nov; 50 (3-4):152-9.
15. Narinder K. Mehra and Gurvinder Kaur. MHC-based vaccination approaches: progress and perspectives. *Expert Reviews in Molecular Medicine*. 2003; 5 : 1-17.
16. Sibia J. Comment définir et classer les maladies inflammatoires ?. *Revue du Rhumatisme*. 2007; 74: 714–725.
17. Rousselet MC, Vignaud JM, Hofman P, Chatelet FP. Inflammation et pathologie inflammatoire [Cours en ligne]. Mai 2005 [cite 03 décembre 2011]. Disponible: <http://medidacte.timone.univmrs.fr/webcours/umvf/anapath/disciplines/niveaudiscipline/niveaumodule/chapitre3/chapitre3.htm>
18. Korganow AS, Martin T, Pasquali JL. Pathologies auto-immunes : aspects épidémiologiques, diagnostiques et principes de traitement [cours en ligne]. [Cité le 27 novembre 2012]. Disponible: http://immuno-meda.u-strasbg.fr/Cours/Maladies_autoimmunes_epidemiologie.htm.
19. Nepom GT, Erlich H. MHC class-II molecules and autoimmunity. *Annu Rev Immunol*.1991; 9:493-525.
20. Walters JR, Bamford KB, Ghosh S. Coeliac disease and the risk of infections. *Gut*. 2008 Aug; 57(8):1034-5.
21. Nedlec A. Les différents facteurs impliqués dans le développement de maladies auto- immunes [Image en ligne]. 20 aout 2012 [cité le 27 novembre 2012]. Disponible: <http://www.memobio.fr/images/immu/general.jpg>.
22. Cataldo F, Montalto G. Celiac disease in the developing countries: a new and challenging public health problem. *World J Gastroenterol*. 2007 Apr 21; 13(15):2153-9.
23. Garden OA, Pidduck H, Lakhani KH, Walker D, Wood JL, Batt RM. Inheritance of gluten-sensitive enteropathy in Irish Setters. *Am J Vet Res*. 2000 Apr; 61(4):462-8.
24. Briani C, Samaroo D, Alaedini A. Celiac disease: from gluten to autoimmunity. *Autoimmun Rev*. 2008 Sep; 7(8):644-50.
25. Bower SL, Sharett MK, Plogsted S. Celiac disease: a guide to living with gluten intolerance. Edition Demos Medical Publishing, USA. 2007; 160 p.

26. Butterworth JR, Banfield LM, Iqbal TH, Cooper BT. Factors relating to compliance with a gluten-free diet in patients with coeliac disease: comparison of white Caucasian and South Asian patients. *Clin Nutr.* 2004 Oct; 23(5):1127-34.
27. Stene LC, Honeyman MC, Hoffenberg EJ, Haas JE, Sokol RJ, Emery L, Taki I, Norris JM, Erlich HA, Eisenbarth GS, Rewers M. Rotavirus infection frequency and risk of celiac disease autoimmunity in early childhood: a longitudinal study. *Am J Gastroenterol.* 2006 Oct ; 101(10):2333-40.
28. Norris JM, Barriga K, Hoffenberg EJ, Taki I, Miao D, Haas JE, Emery LM, Sokol RJ, Erlich HA, Eisenbarth GS, Rewers M. Risk of celiac disease autoimmunity and timing of gluten introduction in the diet of infants at increased risk of disease. *JAMA.* 2005 May 18; 293(19):2343-51.
29. Ivarsson A, Hernell O, Stenlund H, Persson LA. Breast-feeding protects against celiac disease. *Am J Clin Nutr.* 2002 May; 75(5):914-21.
30. Paveley WF. From Aretaeus to Crosby: a history of coeliac disease. *BMJ.* 1988 Dec 24-31;297(6664):1646-9.
31. Dicke, W K, Weijers H.A, Kamer JHVD. Coeliac disease. The presence in wheat of a factor having a deleterious effect in cases of coeliac disease. *Acta Paediatr.* 1953; 42(1): 34-42.
32. Marsh MN. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ('celiac sprue'). *Gastroenterology.* 1992 Jan; 102(1):330-54.
33. Cosnes J, Cellier C, Viola S, Colombel JF, Michaud L, Sarles J, Hugot JP, Ginies JL, Dabadie A, Mouterde O, Allez M, Nion-Larmurier I; Groupe D'Etude et de Recherche Sur la Maladie Coeliaque. Incidence of autoimmune diseases in celiac disease: protective effect of the gluten-free diet. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2008 Jul; 6(7):753-8.
34. Dubé C, Rostom A, Sy R, Cranney A, Saloojee N, Garritty C, Sampson M, Zhang L, Yazdi F, Mamaladze V, Pan I, Macneil J, Mack D, Patel D, Moher D. The prevalence of celiac disease in average-risk and at-risk Western European populations: a systematic review. *Gastroenterology.* 2005 Apr; 128(4 Suppl 1):S57-67.

35. Van Heel DA, West J. Recent advances in coeliac disease. *Gut*. 2006 Jul; 55(7):1037-46.
36. Catassi C, Doloretta Macis M, Räscht IM, De Virgiliis S, Cucca F. The distribution of DQ genes in the Saharawi population provides only a partial explanation for the high celiac disease prevalence. *Tissue Antigens*. 2001 Dec; 58(6):402-6.
37. Rostom A, Dubé C, Cranney A, Saloojee N, Sy R, Garritty C, Sampson M, Zhang L, Yazdi F, Mamaladze V, Pan I, McNeil J, Moher D, Mack D, Patel D. Celiac disease. *Evid Rep Technol Assess (Summ)*. 2004 Jun;(104):1-6.
38. Contributeurs de Wikipédia. Maladie cœliaque [Internet]. Wikipédia, l'encyclopédie libre; 2012 nov 27, 01:03 UTC [cited 2012 déc 4]. Disponible à l'adresse:
http://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Maladie_c%C5%93liaque&oldid=85808545.
39. Maud P. Une nouvelle stratégie de traitement de la maladie cœliaque basée sur les polymères séquestrants. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Montréal. 2010. p 189.
40. Fasano A, Berti I, Gerarduzzi T, Not T, Colletti RB, Drago S, Elitsur Y, Green PH, Guandalini S, Hill ID, Pietzak M, Ventura A, Thorpe M, Kryszak D, Fornaroli F, Wasserman SS, Murray JA, Horvath K. Prevalence of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: a large multicenter study. *Arch Intern Med*. 2003 Feb 10; 163(3):286-92.
41. Gomez JC, Selvaggio GS, Viola M, Pizarro B, la Motta G, de Barrio S, Castelletto R, Echeverría R, Sugai E, Vazquez H, Mauriño E, Bai JC. Prevalence of celiac disease in Argentina: screening of an adult population in the La Plata area. *Am J Gastroenterol*. 2001 Sep; 96(9):2700-4.
42. Oliveira RP, Sdepanian VL, Barreto JA, Cortez AJ, Carvalho FO, Bordin JO, de Camargo Soares MA, da Silva Patrício FR, Kawakami E, de Morais MB, Fagundes-Neto U. High prevalence of celiac disease in Brazilian blood donor

- volunteers based on screening by IgA antitissue transglutaminase antibody. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2007 Jan; 19(1):43-9.
43. Abu-Zekry M, Kryszak D, Diab M, Catassi C, Fasano A. Prevalence of celiac disease in Egyptian children disputes the east-west agriculture-dependent spread of the disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2008 Aug; 47(2):136-40.
 44. Röss K, Harro M, Maaros HI, Harro J, Uibo R, Uibo O. High prevalence of coeliac disease: need for increasing awareness among physicians. *Dig Liver Dis*. 2007 Feb; 39(2):136-9.
 45. Mäki M, Mustalahti K, Kokkonen J, Kulmala P, Haapalahti M, Karttunen T, Ilonen J, Laurila K, Dahlbom I, Hansson T, Höpfl P, Knip M. Prevalence of Celiac disease among children in Finland. *N Engl J Med*. 2003 Jun 19; 348(25):2517-24.
 46. Bhattacharya M, Dubey AP, Mathur NB. Prevalence of celiac disease in north Indian children. *Indian Pediatr*. 2009 May; 46(5):415-7.
 47. Shahbazkhani B, Malekzadeh R, Sotoudeh M, Moghadam KF, Farhadi M, Ansari R, Elahyfar A, Rostami K. High prevalence of coeliac disease in apparently healthy Iranian blood donors. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2003 May; 15 (5):475-8.
 48. Johannsson GF, Kristjansson G, Cariglia N, Thorsteinsson V. The prevalence of celiac disease in blood donors in Iceland. *Dig Dis Sci*. 2009 Feb; 54(2):348-50.
 49. Antunes H, Abreu I, Nogueiras A, Sá C, Gonçalves C, Cleto P, Garcia F, Alves A, Lemos D. [First determination of the prevalence of celiac disease in a Portuguese population]. *Acta Med Port*. 2006 Mar-Apr; 19(2):115-20.
 50. Bingley PJ, Williams AJ, Norcross AJ, Unsworth DJ, Lock RJ, Ness AR, Jones RW; Avon Longitudinal Study of Parents and Children Study Team. Undiagnosed celiac disease at age seven: population based prospective birth cohort study. *BMJ*. 2004 Feb 7; 328(7435):322-3.
 51. West J, Logan RF, Hill PG, Lloyd A, Lewis S, Hubbard R, Reader R, Holmes GK, Khaw KT. Seroprevalence, correlates, and characteristics of undetected celiac disease in England. *Gut*. 2003 Jul; 52(7):960-5.

52. Rutz R, Ritzler E, Fierz W, Herzog D. Prevalence of asymptomatic celiac disease in adolescents of eastern Switzerland. *Swiss Med Wkly.* 2002 Jan 26; 132(3-4):43-7.
53. Challar MH, Jouma M, Sitmann FC. Prevalence of asymptomatic celiac disease in a syrian population sample. *JABMS.* 2004; 6: 155-60.
54. Ben Hariz M, Kallel-Sellami M, Kallel L, Lahmer A, Halioui S, Bouraoui S, Laater A, Sliti A, Mahjoub A, Zouari B, Makni S, Maherzi A. Prevalence of celiac disease in Tunisia: mass-screening study in schoolchildren. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2007 Aug; 19(8):687-94.
55. Ertekin V, Selimoğlu MA, Kardaş F, Aktaş E. Prevalence of celiac disease in Turkish children. *J Clin Gastroenterol.* 2005 Sep; 39(8):689-91.
56. Grover R, Puri AS, Aggarwal N, Sakhuja P. Familial prevalence among first-degree relatives of celiac disease in North India. *Dig Liver Dis.* 2007 Oct; 39(10):903-7.
57. Bourgey M, Calcagno G, Tinto N, Gennarelli D, Margaritte-Jeannin P, Greco L, Limongelli MG, Esposito O, Marano C, Troncone R, Spampinato A, Clerget-Darpoux F, Sacchetti L. HLA related genetic risk for coeliac disease. *Gut.* 2007 Aug; 56(8):1054-9.
58. Myléus A, Ivarsson A, Webb C, Danielsson L, Hernell O, Högberg L, Karlsson E, Lagerqvist C, Norström F, Rosén A, Sandström O, Stenhammar L, Stenlund H, Wall S, Carlsson A. Celiac disease revealed in 3% of Swedish 12-year-olds born during an epidemic. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2009 Aug; 49(2):170-6.
59. Admou B, Sbihi M, Bienvenuc F, Chabaa L. Diagnostic immunologique de la maladie coeliaque chez l'enfant. Mise au point. *LigandAssay.* 2009; 14 (4) : 373-378.
60. Catassi C, Fasano A. Celiac disease. *Curr Opin Gastroenterol.* 2008 Nov;24(6):687-91.
61. Green PH, Cellier C. Celiac disease. *N Engl J Med.* 2007 Oct 25; 357(17):1731-43.
62. Alaedini A, Green PH. Narrative review: celiac disease: understanding a complex autoimmune disorder. *Ann Intern Med.* 2005 Feb 15; 142(4):289-98.

63. Niewinski MM. Advances in celiac disease and gluten-free diet. *J Am Diet Assoc.* 2008 Apr;108(4):661-72.
64. Menecier D, Rimlinger H, Rapp C, Bredin C, Corberand D, Vergeau B. [Acute diarrhoea revealing a coeliac disease]. *Presse Med.* 2004 Apr 24;33(8):530-2.
65. Aepli P, Criblez D, Sprue / maladie cœliaque –une maladie aux multiples visages. *Forum Med Suisse.* 2011;11(49):907–912.
66. Oxentenko AS. Clinical features of malabsorptive disorders, small-bowel diseases, and bacterial overgrowth syndromes. Dans. Hauser SC, Pardi DS, Poterucha JJ. *Gastroenterology and hepatology board review.* 3rd ed. Canada. Mayo Clinic Scientific Press. 2008. p.117-134.
67. Contributeurs de Wiki Notica. Les maladies associées à la maladie coeliaque [Internet]. Wiki Notica, 2013 mars 05, 21 :00 UTC [11 NOVEMBER 2010 08:15]. Disponible à l'adresse:
<http://fr.wikinoticia.com/style%20de%20vie/beauté/65066-les-maladies-associees-a-la-maladie-coeliaque>.
68. Rostom A, Murray JA, Kagnoff MF. American Gastroenterological Association (AGA) Institute technical review on the diagnosis and management of celiac disease. *Gastroenterology.* 2006 Dec;131(6):1981-2002.
69. Schmitz J. Le régime sans gluten chez l'enfant. *Journal de pédiatrie et de Puériculture.* 2007; 20 : 337-344.
70. Schmitz J, Garnier-Lengliné H. [Celiac disease diagnosis in 2008]. *Arch Pediatr.* 2008 Apr;15(4):456-61.
71. Djillali-saiah I. Prévention de la maladie coeliaque : impact médical et social. *Info coeliaque.* 2008; 25(3): 8-11.
72. Baillarger JD. La maladie coeliaque, y avez-vous pensé?. *Le clinicien,* 2006 Avril; 90-94.
73. Doucet I. La maladie cœliaque au-delà du régime sans gluten. *Le Médecin du Québec.* 2008; 43(10) : 37-42.

74. Megiorni F, Mora B, Bonamico M, Barbato M, Nenna R, Maiella G, Lulli P, Mazzilli MC. HLA-DQ and risk gradient for celiac disease. *Hum Immunol*. 2009 Jan; 70(1):55-9.
75. Kaukinen K, Partanen J, Mäki M, Collin P. HLA-DQ typing in the diagnosis of celiac disease. *Am J Gastroenterol*. 2002 Mar; 97(3):695-9.
76. Hill ID, Dirks MH, Liptak GS, Colletti RB, Fasano A, Guandalini S, Hoffenberg EJ, Horvath K, Murray JA, Pivor M, Seidman EG; North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005 Jan; 40(1):1-19.
77. Sollid LM. Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder. *Nat Rev Immunol*. 2002 Sep; 2(9):647-55.
78. Heap GA, van Heel DA. Genetics and pathogenesis of coeliac disease. *Semin Immunol*. 2009 Dec; 21(6):346-54.
79. Di Sabatino A, Corazza GR. Coeliac disease. *Lancet*. 2009 Apr 25; 373(9673):1480-93.
80. Monsuur AJ, de Bakker PI, Alizadeh BZ, Zhernakova A, Bevova MR, Strengman E, Franke L, van't Slot R, van Belzen MJ, Lavrijsen IC, Diosdado B, Daly MJ, Mulder CJ, Mearin ML, Meijer JW, Meijer GA, van Oort E, Wapenaar MC, Koeleman BP, Wijmenga C. Myosin IXB variant increases the risk of celiac disease and points toward a primary intestinal barrier defect. *Nat Genet*. 2005 Dec; 37(12):1341-4.
81. Roujon P, Guidicelli G, Moreau JF, Taupin JL. [Immunogenetics of celiac disease.]. *Pathol Biol (Paris)*. 2011 May 25.
82. Vader LW, Stepniak DT, Bunnik EM, Kooy YM, de Haan W, Drijfhout JW, Van Veelen PA, Koning F. Characterization of cereal toxicity for celiac disease patients based on protein homology in grains. *Gastroenterology*. 2003 Oct; 125(4):1105-13.
83. Dewar DH, Amato M, Ellis HJ, Pollock EL, Gonzalez-Cinca N, Wieser H, Ciclitira PJ. The toxicity of high molecular weight glutenin subunits of wheat to

- patients with coeliac disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2006 May;18(5):483-91.
84. Shan L, Molberg Ø, Parrot I, Hausch F, Filiz F, Gray GM, Sollid LM, Khosla C. Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Science*. 2002 Sep 27; 297(5590):2275-9.
85. Di Sabatino A, Ciccocioppo R, Cupelli F, Cinque B, Millimaggi D, Clarkson MM, Paulli M, Cifone MG, Corazza GR. Epithelium derived interleukin 15 regulates intraepithelial lymphocyte Th1 cytokine production, cytotoxicity, and survival in coeliac disease. *Gut*. 2006 Apr; 55(4):469-77.
86. Maiuri L, Ciacci C, Ricciardelli I, Vacca L, Raia V, Auricchio S, Picard J, Osman M, Quarantino S, Londei M. Association between innate response to gliadin and activation of pathogenic T cells in coeliac disease. *Lancet*. 2003 Jul 5; 362(9377):30-7.
87. Shan L, Mathews II, Khosla C. Structural and mechanistic analysis of two prolyl endopeptidases: role of interdomain dynamics in catalysis and specificity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 Mar 8; 102(10):3599-604.
88. Schuppan D, Junker Y, Barisani D. Celiac disease: from pathogenesis to novel therapies. *Gastroenterology*. 2009 Dec; 137(6):1912-33.
89. Furuta GT, Liacouras CA, Collins MH, Gupta SK, Justinich C, Putnam PE, Bonis P, Hassall E, Straumann A, Rothenberg ME; First International Gastrointestinal Eosinophil Research Symposium (FIGERS) Subcommittees. Eosinophilic esophagitis in children and adults: a systematic review and consensus recommendations for diagnosis and treatment. *Gastroenterology*. 2007 Oct; 133(4):1342-63.
90. Furuta GT. Oesophagite à éosinophiles : une entité émergente clinicopathologic. *Curr Allergy Asthma Rep* 2002 Jan; 2 (1): 67-72.
91. Nonevski I, Fiocchi C, Falk GW. Eosinophilic esophagitis: new insights into an emerging disease. *Gastroenterology*. 2006 Dec; 131(6):2018-20; discussion 2020.
92. Norvell JM, Venarske D, Hummell DS. Eosinophilic esophagitis: an allergist's approach. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2007 Mar; 98(3):207-14; quiz 214-7, 238.

93. Straumann A, Bussmann C, Zuber M, Vannini S, Simon HU, Schoepfer A. Eosinophilic esophagitis: analysis of food impaction and perforation in 251 adolescent and adult patients. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008 May; 6(5):598-600.
94. Gonsalves N. Eosinophilic esophagitis: history, nomenclature, and diagnostic guidelines. *Gastrointest Endosc Clin N Am*. 2008 Jan; 18(1):1-9; vii.
95. Collardeau-Frachon S, Hervieu V, Scoazec JY. [Eosinophilic esophagitis: an "emerging disease"]. *Ann Pathol*. 2007 Dec; 27(6):417-25.
96. Abonia JP, Rothenberg ME. Eosinophilic esophagitis: rapidly advancing insights. *Annu Rev Med*. 2012; 63:421-34.
97. Prasad GA, Alexander JA, Schleck CD, Zinsmeister AR, Smyrk TC, Elias RM, Locke GR 3rd, Talley NJ. Epidemiology of eosinophilic esophagitis over three decades in Olmsted County, Minnesota. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2009 Oct; 7(10):1055-61.
98. Liacouras CA, Spergel JM, Ruchelli E, Verma R, Mascarenhas M, Semeao E, Flick J, Kelly J, Brown-Whitehorn T, Mamula P, Markowitz JE. Eosinophilic esophagitis: a 10-year experience in 381 children. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2005 Dec; 3(12):1198-206.
99. Zink DA, Amin M, Gebara S, Desai TK. Familial dysphagia and eosinophilia. *Gastrointest Endosc*. 2007 Feb; 65(2):330-4.
100. Lucendo AJ, Carrión G, Navarro M, Pascual JM, González P, Castillo P, Erdozain JC. Eosinophilic esophagitis in adults: an emerging disease. *Dig Dis Sci*. 2004 Nov-Dec; 49(11-12):1884-8.
101. Teitelbaum JE. Natural history of primary eosinophilic esophagitis: a follow up of 30 adult patients for up to 11.5 years. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2004 Mar; 38(3):358-9.
102. Ieflot L, Pietrera P, Brun M, Chateil J-F. Pathologie de l'œsophage chez l'enfant. *EMC – Radiologie*. 2005; 2(5): 494-526.
103. Sherrill JD, Rothenberg ME. Genetic dissection of eosinophilic esophagitis provides insight into disease pathogenesis and treatment strategies. *J Allergy Clin Immunol*. 2011 Jul; 128(1):23-32; quiz 33-4.

104. Spergel JM, Brown-Whitehorn TF, Beausoleil JL, Franciosi J, Shuker M, Verma R, Liacouras CA. 14 years of eosinophilic esophagitis: clinical features and prognosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2009 Jan; 48(1):30-6.
105. Collins MH, Blanchard C, Abonia JP, Kirby C, Akers R, Wang N, Putnam PE, Jameson SC, Assa'ad AH, Konikoff MR, Stringer KF, Rothenberg ME. Clinical, pathologic, and molecular characterization of familial eosinophilic esophagitis compared with sporadic cases. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2008 Jun; 6(6):621-9.
106. Mishra A, Hogan SP, Brandt EB, Rothenberg ME. An etiological role for aeroallergens and eosinophils in experimental esophagitis. *J Clin Invest.* 2001 Jan; 107(1):83-90.
107. Blanchard C, Wang N, Stringer KF, Mishra A, Fulkerson PC, Abonia JP, Jameson SC, Kirby C, Konikoff MR, Collins MH, Cohen MB, Akers R, Hogan SP, Assa'ad AH, Putnam PE, Aronow BJ, Rothenberg ME. Eotaxin-3 and a uniquely conserved gene-expression profile in eosinophilic esophagitis. *J Clin Invest.* 2006 Feb; 116(2):536-47.
108. Aceves SS, Newbury RO, Chen D, Mueller J, Dohil R, Hoffman H, Bastian JF, Broide DH. Resolution of remodeling in eosinophilic esophagitis correlates with epithelial response to topical corticosteroids. *Allergy.* 2010 Jan; 65(1):109-16.
109. Blanchard C, Stucke EM, Burwinkel K, Caldwell JM, Collins MH, Ahrens A, Buckmeier BK, Jameson SC, Greenberg A, Kaul A, Franciosi JP, Kushner JP, Martin LJ, Putnam PE, Abonia JP, Wells SI, Rothenberg ME. Coordinate interaction between IL-13 and epithelial differentiation cluster genes in eosinophilic esophagitis. *J Immunol.* 2010 Apr 1; 184(7):4033-41.
110. Rothenberg ME, Spergel JM, Sherrill JD, Annaiah K, Martin LJ, Cianferoni A, Gober L, Kim C, Glessner J, Frackelton E, Thomas K, Blanchard C, Liacouras C, Verma R, Aceves S, Collins MH, Brown-Whitehorn T, Putnam PE, Franciosi JP, Chiavacci RM, Grant SF, Abonia JP, Sleiman PM, Hakonarson H. Common variants at 5q22 associate with pediatric eosinophilic esophagitis. *Nat Genet.* 2010 Apr; 42(4):289-91.
111. Harada M, Hirota T, Jodo AI, Doi S, Kameda M, Fujita K, Miyatake A, Enomoto T, Noguchi E, Yoshihara S, Ebisawa M, Saito H, Matsumoto K, Nakamura Y,

- Ziegler SF, Tamari M. Functional analysis of the thymic stromal lymphopoietin variants in human bronchial epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2009 Mar; 40(3):368-74.
112. Sherrill JD, Gao PS, Stucke EM, Blanchard C, Collins MH, Putnam PE, Franciosi JP, Kushner JP, Abonia JP, Assa'ad AH, Kovacic MB, Biagini Myers JM, Bochner BS, He H, Hershey GK, Martin LJ, Rothenberg ME. Variants of thymic stromal lymphopoietin and its receptor associate with eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2010 Jul; 126(1):160-5.e3.
113. Tonzuka Y, Fujio K, Sugiyama T, Nosaka T, Hirai M, Kitamura T. Molecular cloning of a human novel type I cytokine receptor related to delta1/TSLPR. *Cytogenet Cell Genet.* 2001; 93(1-2):23-5.
114. Rothenberg ME, Mishra A, Collins MH, Putnam PE. Pathogenesis and clinical features of eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2001 Dec; 108(6):891-4.
115. M Vicario, C Blanchard, K F Stringer, M H Collins, M K Mingler, A Ahrens, P E Putnam, J P Abonia, J Santos, M E Rothenberg. Local B cells and IgE production in the oesophageal mucosa in eosinophilic oesophagitis. 2010 January; 59(1): 12–20.
116. Mueller S, Aigner T, Neureiter D, Stolte M. Eosinophil infiltration and degranulation in oesophageal mucosa from adult patients with eosinophilic oesophagitis: a retrospective and comparative study on pathological biopsy. *J Clin Pathol.* 2006 Nov; 59(11):1175-80.
117. Kirsch R, Bokhary R, Marcon MA, Cutz E. Activated mucosal mast cells differentiate eosinophilic (allergic) esophagitis from gastroesophageal reflux disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2007 Jan; 44(1):20-6.
118. Chehade M, Sampson HA, Morotti RA, Magid MS. Esophageal subepithelial fibrosis in children with eosinophilic esophagitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2007 Sep; 45(3):319-28.
119. Aceves SS, Newbury RO, Dohil R, Bastian JF, Broide DH. Esophageal remodeling in pediatric eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2007 Jan; 119(1):206-12.

120. Abonia JP, Franciosi JP, Rothenberg ME. TGF- β 1: Mediator of a feedback loop in eosinophilic esophagitis--or should we really say mastocytic esophagitis? *J Allergy Clin Immunol.* 2010 Dec; 126(6):1205-7.
121. Lucendo AJ, Navarro M, Comas C, Pascual JM, Burgos E, Santamaría L, Larrauri J. Immunophenotypic characterization and quantification of the epithelial inflammatory infiltrate in eosinophilic esophagitis through stereology: an analysis of the cellular mechanisms of the disease and the immunologic capacity of the esophagus. *Am J Surg Pathol.* 2007 Apr; 31(4):598-606.
122. Vicario M, Blanchard C, Stringer KF, Collins MH, Mingler MK, Ahrens A, Putnam PE, Abonia JP, Santos J, Rothenberg ME. Local B cells and IgE production in the oesophageal mucosa in eosinophilic oesophagitis. *Gut.* 2010 Jan; 59(1):12-20.
123. Blanchard C, Stucke EM, Rodriguez-Jimenez B, Burwinkel K, Collins MH, Ahrens A, Alexander ES, Butz BK, Jameson SC, Kaul A, Franciosi JP, Kushner JP, Putnam PE, Abonia JP, Rothenberg ME. A striking local esophageal cytokine expression profile in eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2011 Jan; 127(1):20.
124. Djilali-Saiah I, Fakhfakh A, H Louafi, Caillat-Zucman S, D Debray, F. Alvarez. HLA class II influences humoral autoimmunity in patients with type 2 autoimmune hepatitis. *J Hepatol.* Décembre 2006, 45 (6) :844-50.
125. Sherrill JD, Rothenberg ME. Dissection génétique de l'œsophagite à éosinophiles permet de mieux comprendre la pathogenèse des maladies et des stratégies de traitement. *J Allergy Clin Immunol.* 2011 Jul; 128 (1) :23-32.
126. Zhernakova A, van Diemen CC, Wijmenga C. Detecting shared pathogenesis from the shared genetics of immune-related diseases. *Nat Rev Genet.* 2009 Jan; 10(1):43-55.
127. Khoury MJ, Jones K, Grosse SD. Quantifying the health benefits of genetic tests: the importance of a population perspective. *Genet Med.* 2006; 8(3):191–195.
128. Mearin ML, Ivarsson A, Dickey W. Coeliac disease: is it time for mass screening? *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2005; 19(3):441–452.
129. Munnich A. Is genetics inhumane? *J Med Genet.* 2008; 45(10):632–634.

130. Ventura A, Neri E, Ughi C, et al. Gluten-dependent diabetes-related and thyroid-related autoantibodies in patients with celiac disease. *J Pediatr.* 2000; 137(2):263–265.
131. Lepers S, S Couignoux, Colombel JF, Dubucquoi S. [La maladie coeliaque chez l'adulte: nouveaux aspects]. *Rev Med Interne.* 2004 Jan; 25 (1) :22-34.
132. Cranney A, M Zarkadas, Graham ID, Butzner JD, M Rashid, Warren R, M Molloy, Case S, V Burrows, Suisse C. L'Enquête sur la maladie coeliaque canadienne pour la santé. *Dig Dis Sci.* Avr 2007; 52 (4) :1087-95.
133. García-Manzanares A, Lucendo AJ. Aspects nutritionnels et alimentaires de coeliaque maladie. *Nutr Clin Pract.* Avr 2011; 26 (2) :163-73.
134. Bienvenu F. Stratégie d'exploration immunologique de la maladie cœliaque *Revue Francophone des Laboratoires.* August 2008; 404 (1) : 31–36.
135. C Blanchard, Mingler MK, M Vicario, Abonia JP, Wu YY, Lu TX, Collins MH, Putnam PE, Wells SI, Rothenberg ME. IL-13 dans la participation à éosinophiles œsophagite: analyse du transcriptome et la réversibilité des glucocorticoïdes. *J Allergy Clin Immunol.* Dec 2007; 120 (6):1292-300.