

THESE

En vue de l'obtention du : **DOCTORAT**

Discipline : Sciences et Technologies

Spécialité : Biologie

Structure de Recherche : Equipe de Physiologie et Physiopathologie

Présentée et soutenue le 09/12/2022 par :

Sara ABOULAGHRAS

Immunogénétique de la maladie cœliaque au Maroc

JURY

Meryem ALAMY	PES, Université Mohammed V, Faculté des Sciences, Rabat	Présidente/Rapporteur
Abdellah ZINEDINE	PES, Université Chouaib Doukkali, Faculté des sciences, El Jadida	Rapporteur/Examineur
Mariam NACIRI	PES, Université Mohammed V, Faculté des sciences, Rabat	Rapporteur/Examineur
Abdelhakim BOUYAHYA	PA, Université Mohammed V, Faculté des sciences, Rabat	Invité
Khadija OUMHANI	Responsable de laboratoire HLA, Département Immunologie, Institut National d'Hygiène, Rabat	Co-directrice de thèse
Khalid TAGHZOUTI	PES, Université Mohammed V, Faculté des sciences, Rabat	Directeur de Thèse

DEDICACES

Je dédie ce travail :

A ma très chère maman

Ma plus grande supportrice, aucune dédicace très chère maman, ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour vous, vous m'avez tout donné sans compter, grâce à vous, ce travail a pu avoir lieu, grâce à vous, je deviens Docteur. Tout au long de mes études, vous n'avez pas cessé de me soutenir et de m'encourager, vos prières pour moi, votre amour éternel, votre générosité exemplaire et votre présence constante ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Puisse dieu, tout puissant vous comble de santé, de bonheur et vous procure une longue vie.

A mon très cher père

En témoignage de ces années de sacrifices, de sollicitudes, d'encouragement et de prières. Pourras-tu trouver dans ce travail le fruit de toutes vos peines et de tous vos efforts. En ce jour, j'espère réaliser l'un de tes rêves. Aucune dédicace ne saurait exprimer mes respects, ma reconnaissance et mon profond amour. Puisse dieu te préserver et te procurer santé et bonheur.

A mon frère Hicham

Ces quelques lignes, ne sauraient traduire le profond amour que je te porte. Ta bonté, ton précieux soutien, ton encouragement tout au long de mes années d'étude, ton amour et ton affection, ont été pour moi l'exemple de persévérance. Je trouve en toi le conseil du frère et le soutien de l'ami. Que ce travail soit l'expression de mon estime pour toi et que Dieu te protège, t'accorde santé, succès et plein de bonheur dans ta vie.

A mes collègues

Je vous dédie ce travail en témoignant des souvenirs passés ensemble. A tous ceux qui me sont chers, que je n'ai pas cité, mais je n'ai pas oublié.

REMERCIEMENTS

À toute l'équipe de Physiologie et Physiopathologie, Faculté des sciences, Génomique des Pathologies Humaines, Université Mohammed V, Rabat

J'ai eu un grand plaisir de travailler avec vous. Je vous remercie infiniment pour votre soutien, vos encouragements, de m'avoir guidé au cours des différentes années de recherches.

A Monsieur le Professeur Khalid TAGHZOUTI, Directeur de la thèse

Je voudrais remercier mon principal superviseur, le Professeur Khalid TAGHZOUTI, pour m'avoir guidé dans la recherche. Professeur Taghzouti a été un superviseur inspirant il m'a apporté un soutien exceptionnel pendant la préparation de ce travail de thèse, m'encourageant à développer et à suivre mes propres idées, étant compréhensif dans les moments difficiles, me rencontrant régulièrement pour des mises à jour et me donnant des conseils pour améliorer l'efficacité du travail. Je suis vraiment reconnaissante pour ce que j'ai appris sous sa supervision, non seulement en tant que chercheur, mais aussi en tant qu'individu.

Au Docteur Khadija OUMHANI, Codirectrice de la thèse

Je tiens à remercier mon **co-superviseur**, Docteur Khadija Oumhani, pour son soutien dans l'acquisition des connaissances en immunogénétique d'un point de vue pratique, et pour avoir facilité les collaborations avec d'autres chercheurs. Je vous remercie pour votre aide précieuse que vous m'avez apportée tout au long de cette thèse, pour vos conseils et votre soutien depuis mon arrivée au laboratoire.

Au Docteur Daniela PIANCATELLI, Conseil national de la recherche (CNR)-Institut de pharmacologie translationnelle (IFT), Aquila, Italie

J'ai eu une grande chance de collaborer avec vous. Je vous remercie infiniment pour votre soutien, vos encouragements et d'avoir m'aidé à la rédaction des articles.

À toute l'équipe de recherche en laboratoire de typage HLA, département d'immunologie Institut National d'Hygiène Rabat

J'ai eu un grand plaisir de travailler avec vous. Je vous remercie infiniment pour votre soutien, vos encouragements, de m'avoir guidé au cours des différentes manipulations.

Au Professeur Meryem ALAMY, Président du jury

Merci infiniment d'avoir accepté de présider ce jury malgré votre agenda chargé, d'avoir accepté de lire, critiquer et instruire cette thèse. Merci pour votre contribution à l'amélioration de ce document.

Au Professeur Abdellah ZINEDINE, membre de jury

Je vous remercie très sincèrement pour l'honneur que vous m'avez fait en participant au jury de ma thèse, d'avoir accepté de m'apporter votre expertise pour l'évaluation et l'amélioration de ce travail.

Au Professeur, Mariam NACIRI, membre de jury

Je vous remercie très sincèrement pour l'honneur que vous m'avez fait en participant au jury de ma thèse, d'avoir accepté de m'apporter votre expertise pour l'évaluation et l'amélioration de ce travail.

A Monsieur le Professeur Abdelhakim BOUYAHYA

Je suis très reconnaissante au Professeur Abedhakim BOUYAHYA de m'avoir donné l'occasion de collaborer à sa recherche. Je tiens à vous remercier pour le temps et l'intérêt consacré au suivi de ce travail, pour votre orientation ficelée et pour votre culture et conseils scientifiques incontestables. Vous m'avez fait bénéficier, aussi que vos qualités humaines qui vous valent l'admiration et le respect. Votre soutien, votre entière disponibilité, votre gentillesse et bienveillance qui m'ont été précieux pour mener ce travail à bon port.

RESUME

La maladie cœliaque (MC) est une maladie à médiation immunitaire causée par une réaction à la protéine de gluten présente principalement dans le blé. Les polymorphismes de CD1, bien que limités, pourraient jouer un rôle critique dans les réponses, auto-immunes et la susceptibilité aux maladies.

L'objectif de ce travail est une analyse de ces spécificités HLA classe II (HLA-DQ/DR) et sous-groupes chez une population de malades Marocains, et ceci pour expliquer comment ces variantes contribuent au dépistage, susceptibilité et traitement de la maladie de cœliaque, ensuite pour éclaircir la cause de la maladie cœliaque comme un syndrome à mécanismes chevauchants qui implique des influences variables de facteurs génétiques, immunologiques et environnementaux.

D'un autre côté, les polymorphismes de CD1A, CD1D et CD1E dans l'exon 2 ont été évalués chez les patients marocains atteints de la MC, en utilisant une analyse de séquençage direct, afin d'étudier les associations possibles avec la maladie dans une population nord-africaine.

Au total 114 patients atteints de la MC ont été étudiés dans ce travail. Les différences dans le génotype et la distribution des haplotypes de CD1E entre les patients cœliaques et les témoins ont été évalués. Nous avons noté, une augmentation d'homozygotes CD1E*02/02 (OR 2,93, CI 1,30-6,59, $p = 0,007$) et d'haplotypes estimés CD1A*02-E*02 dans la MC, par rapport aux témoins. Les fréquences des génotypes/allèles CD1A et CD1D n'étaient pas différentes entre les groupes. Le génotype CD1E*02/02, pourrait être un gène supplémentaire impliqué dans le risque cœliaque dans cette zone géographique.

Mots clés : La Maladie Cœliaque; HLA DQ2; HLA DQ8; CD1; Polymorphisme des gènes; Population marocaine; adultes.

ABSTRACT

Celiac disease (CD) is an immune-mediated disease caused by a reaction to the gluten protein found primarily in wheat. CD1 polymorphisms, although limited, may play a critical role in autoimmune responses and disease susceptibility.

The objective of this work is an analysis of these HLA class II (HLA-DQ/DR) specificities and subgroups in a Moroccan patient population, and this to explain how these variants contribute to the detection, susceptibility and treatment of celiac disease, and then to elucidate the cause of celiac disease as a syndrome with overlapping mechanisms that involves variable influences of genetic, immunological and environmental factors.

On the other hand, CD1A, CD1D and CD1E polymorphisms in exon 2 were evaluated in Moroccan CD patients using direct sequencing analysis to investigate possible associations with the disease in a North African population.

A total of 114 CD patients were studied in this work. Differences in genotype and haplotype distribution of CD1E between celiac patients and controls have been evaluated. There was an increase in CD1E*02/02 homozygotes (OR 2.93, CI 1.30-6.59, $p = 0.007$) and estimated CD1A*02-E*02 haplotypes in CD compared to controls. The frequencies of CD1A and CD1D genotypes/alleles were not different between groups. CD1E*02/02 genotype, could be an additional gene involved in celiac risk in this geographical area.

Key words: Celiac disease; HLA DQ2; HLA DQ8; CD1; Gene polymorphism; Moroccan population; adults.

PRODUCTION SCIENTIFIQUE

Articles originaux

1-Aureli, A., **Aboulaghras, S.**, Oumhani, K., Del Beato, T., Sebastiani, P., Colanardi, A., et al & Piancatelli, D. (2020). CD1 gene polymorphism and susceptibility to celiac disease: Association of CD1E* 02/02 in Moroccans. *Human Immunology*, 81(7), 361-365. (IF= 2.211).

2-**Aboulaghras, S.**, Piancatelli, D., Taghzouti, K., Balahbib, A., Bouyahya, A., & Oumhani, K. (2022). Meta-analysis study and systematic review of HLA DQ2/DQ8 in adult with celiac disease. *International Journal of Molecular Sciences*. (IF=6.208).

3-**Aboulaghras, S.**, Piancatelli, D., Oumhani, K., Balahbib, A., Bouyahya, A., & **Taghzouti, K.** (2022). Pathophysiology and immunogenetics of celiac disease. *Clinica Chimica Acta*. (IF= 3.786)

4- **Aboulaghras, S.**, Sahib, N., Bakrim, S., Benali, T., Charfi, S., Guaouguaou, F. E., **Taghzouti, K.**, & Bouyahya, A. (2022). Health Benefits and Pharmacological Aspects of Chrysoeriol. *Pharmaceuticals*, 15(8), 973. (IF=5.677).

(Ce travail a été proposé pour publication dans Encyclopedia)

5- **Aboulaghras, S.**, El Omari, N., Balahbib, A., & Bouyahya, A. (2022). Exosomes: a novel vesicular drug delivery platform. In *Systems of Nanovesicular Drug Delivery* (pp. 147-154). Academic Press.

6- El Menyiy, N., El Allam, A., **Aboulaghras, S.**, Jaouadi, I., Bakrim, S., El Omari, N., ... & Bouyahya, A. (2022). Inflammatory auto-immune diseases of the intestine and their management by natural bioactive compound. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 151, 113158. (IF= 6.529).

7- Bakrim, S., Machate, H., Benali, T., Sahib, N., Jaouadi, I., Omari, N. E., **Aboulaghras, S.**, & Bouyahya, A. (2022). Natural Sources and Pharmacological Properties of Pinosylvin. *Plants*, 11(12), 1541. (IF= 4.658).

8- Bouyahya, A., Mechchate, H., Oumeslakht, L., Zeouk, I., **Aboulaghras, S.**, Balahbib, A., et al, & El Omari, N. (2022). The role of epigenetic modifications in human cancers and the use of natural compounds as epidrugs: Mechanistic pathways and pharmacodynamic actions. *Biomolecules*, 12(3), 367. (IF= 4.694).

9- Munir, N., Jahangeer, M., Bouyahya, A., El Omari, N., Ghchime, R., Balahbib, A., **Aboulaghras, S.**, et al & Shariati, M. A. (2021). Heavy metal contamination of natural foods is a serious health issue: a review. *Sustainability*, 14(1), 161. (IF= 3.251).

10- Ayesha, N., **Aboulaghras, S.**, Jahangeer, M., Riasat, A., Ramzan, R., Fatima, R., et al & Shariati, M.A. (2021). Physiopathology and effectiveness of therapeutic vaccines against human papillomavirus. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(35), 47752-47772. (IF= 5.053).

Communications orales:

1- **Aboulaghras, S.**, K.Taghzouti, I. Ben El Barhdadi, A. Aureli, D. Piancatelli, K.Oumhani. Les molécules HLA de classe II (DQ et DR) chez des patients Marocains adultes atteints de la maladie cœliaque. Journées doctorales digitales, JDD 2021, l'université Ibn Tofail, Kénitra.

2- **Aboulaghras, S.** K.Taghzouti. L'anémie et manques en vitamines (B6, B12, D) chez des patients atteints de maladie coeliaque. Congrès international scientifique sous le thème : « Vitamines, Oligoéléments et Xénobiotiques Métalliques en Santé Humaine le 19-20 mai 2022, Faculté des Sciences Semlalia, Université Cadi Ayyad, Marrakech.

Communications affichées :

1-Daniela Piancatelli, **Aboulaghras, S.** Imane Ben El Barhdadi, Pierluigi Sebastiani, Tiziana Del Beato, Alessia Colanardi, Khadija Oumhani. HLA-G 3'untranslated region haplotypes and celiac disease in Morocco. 35th European Immunogenetics and Histocompatibility, Conference, Amsterdam, Netherlands May 17-20, 2022.

2- **Aboulaghras, S.** I.Ben ElBarhdadi, K.Taghzouti, D.Piancatelli, K.Oumhani. Les troubles neurologiques chez des patients atteints de la Maladie Cœliaque. 3ème Congrès Marocain de Neurophysiologie. Hôtel Palm Plaza, Marrakech, 28-30 Novembre 2019.

3- **Aboulaghras, S.** k. Oumhani, I Ben El Barhdadi, K.Taghzouti. Le typage HLA et la susceptibilité à la maladie cœliaque au Maroc. Ecole d'été organisée par l'Académie Hassan II des Sciences et Techniques, en collaboration avec l'Université Al Akhawayn, Ifrane. Variations dans le génome humain: applications en médecine et en identification génétique 11-13 juillet 2019.

4- **Aboulaghras, S.** I.Ben ElBarhdadi, K.Taghzouti, D.Piancatelli, K.Oumhani. Etude des facteurs immunogénétiques et psychologiques chez des patients atteints de Maladie Cœliaque au Maroc. 5ème Forum Africain de Santé organisée à L'Université Internationale Abulcasis des Sciences de la Santé (UIASS), Rabat, le 14 juin 2019.

5- A.Aureli, K.Oumhani, I.Ben ElBarhdadi, T.Del Beato, A.Colanardi, P.Sebastiani, R.Elouad, **S.Aboulaghras**, D.Piancatelli. Evaluation of CD1A, D and E gene polymorphisms and celiac disease in Morocco. 33rd European immunogenetics and histocompatibility EFI conference in centro cultural de Belém lisbon Portugal, May 8-11 2019.

6- **Aboulaghras, S.** I.Ben ElBarhdadi, K.Taghzouti, D.Piancatelli, K.Oumhani. Immunogénétique de la maladie cœliaque au Maroc à la journée Centre de génomique des pathologies Humaines (Génopath) à la faculté de médecine et de pharmacie, Rabat, le 25 Avril 2019.

7- **Aboulaghras, S.** I.Ben ElBarhdadi, K.Taghzouti, D.Piancatelli, K.Oumhani. Immunogénétique de la maladie cœliaque au Maroc à MASCIR, Rabat, le 24 Avril 2019.

8- **Aboulaghras, S**, I.Ben ElBarhdadi, K.Taghzouti, D.Piancatelli, K.Oumhani. Le typage HLA DQ et la susceptibilité à la maladie cœliaque au Maroc. 11ème congrès de Pharmacovigilance à la fondation Mohammed VI à Rabat, le 14-15 décembre 2018.

9- **Aboulaghras, S**, I.Ben ElBarhdadi, K.Taghzouti, D.Piancatelli, K.Oumhani. Prévalence de l'allèle HLA B 5701 chez des patients Marocains infectés par le VIH1. 11ème congrès de Pharmacovigilance à la fondation Mohammed VI à Rabat le 14-15 décembre 2018.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Signes cliniques de la maladie Cœliaque chez les enfants et les adultes.	36
Tableau 2 : Classification des atrophies villositaires selon Marsh et Matuchansky	40
Tableau 3 : Classification Marsh-Oberhuber	43
Tableau 4 : Classification de Corazza-Vilanaci	45
Tableau 5 : Résultats des gènes HLA-DQ/DR par sérologie	54
Tableau 6 : Amorces PCR et de séquençage pour les gènes CD1A, CD1D et CD1E.....	57
Tableau 7 : Génotypes et allèles CD1A et CD1E chez les patients atteints de la MC et dans la population témoin du Maroc.	61
Tableau 8 : Génotypes CD1A, CD1E et groupe de risque HLA-DQ selon le statut DQ2.5 chez les Marocains	64
Tableau 9 : Estimation des haplotypes CD1A-CD1E chez les patients atteints de maladie cœliaque (présente étude) et dans les populations caucasiennes.	65
Tableau 10 : Caractéristiques des études incluses sur les patients atteints de la MC	70
Tableau 11 : Résultats de l'évaluation de la qualité à l'aide de QUADAS	72
Tableau 12 : Caractéristiques cliniques de la population	75
Tableau 13 : Caractéristiques histologiques des patients atteints de MC.....	77

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Iceberg de la maladie cœliaque (MC) et le spectre du trait cœliaque	8
Figure 2 : Classification des prolamines du blé (gluten).....	10
Figure 3 : Étiologie multifactorielle de la Maladie Cœliaque.....	12
Figure 4 : Région HLA du chromosome 6	13
Figure 5 : Réactions biochimiques catalysées par la transglutaminase tissulaire calcium-dépendante (tTG).....	20
Figure 6 : Pathogénie de la maladie cœliaque.....	27
Figure 7 : Présentation clinique de la maladie cœliaque	33
Figure 8 : Biopsie duodénale avec atrophie villositaire totale, hypercellularité du chorion, hyperplasie des cryptes et augmentation des lymphocytes intraépithéliaux.....	38
Figure 9 : Atrophie villositaire totale: stade 3 c de Marsh	41
Figure 10 : Histologie intestinale d'un individu sain	42
Figure 11 : Différents grades de lésions de la muqueuse duodénale dans la MC.	44
Figure 12 : Organigramme de diagnostic de la maladie Coeliaque.....	46
Figure 13 : Séparation des lymphocytes sur gradient de Ficoll.....	52
Figure 14 : Principe de la technique de Microlymphocytotoxicité.....	53
Figure 15 : Photo du gel après amplification du fragment d'ADN de CD1A, 255bp.....	59
Figure 16 : Photo du gel après amplification du fragment d'ADN de CD1E, 241bp	59
Figure 17 : Diagramme des résultats de la recherche.....	69
Figure 18 : Représentation graphique de l'analyse du risque de MC chez les patients adultes présentant l'allèle HLADQ2.	81
Figure 19 : Représentation graphique de l'analyse du risque de MC chez les patients adultes présentant l'allèle HLADQ8.	81
Figure 20 : Représentation graphique de l'analyse du risque de MC chez les patients adultes présentant l'allèle HLADQ2/DQ8.....	82
Figure 21 : Représentation graphique de l'analyse du risque de MC chez les patients adultes présentant l'allèle HLADQ2 homozygote.....	82
Figure 22 : Représentation graphique de l'analyse du risque de MC chez les patients adultes présentant l'allèle HLADQ2 hétérozygote.....	83
Figure 23 : Représentation graphique de l'analyse du risque de MC chez les patients adultes présentant l'allèle HLADQ2 hétérozygote.....	83

LISTE DES ABREVIATIONS

Ac	Anticorps
ADN	Acide désoxyribonucléique
ARNm	ARN messenger
VA	Villous atrophy
BCR	B-cell receptor
CD1	Cluster de différenciation 1
CCL20	Chemokine (C-C motif) ligand 20
APC	Antigen presenting cells
CTL	Cytotoxic T lymphocyte
CXCR3	Chemokine receptor
DCs	Dendritic cells
EMA	Anti-endimysium
ESPGHAN	European society for paediatric gastroenterology hepatology and nutrition
HLA	Human leukocyte antigen
IELs	Intraepithelial lymphocytes

IFN- γ	Interferon - γ
IgA	Immunoglobulins A
IgM	Immunoglobulins M
IL	Interleukin
MC	Maladie cœliaque
MgCl ₂	Magnesium chloride
MICA	Major histocompatibility complex (MHC) class I Chain-related protein A
mNP	Metal nanoparticles
MxA	Myxovirus
MYd-88	Myeloid differentiation primary response 88
NKG2D	Natural killer group 2D
PBMC	Peripheral blood mononuclear cells
PCR	Polymerase chain reaction
PCR _{ssp}	Polymerase chain reaction, sequence-specific primers
RCD	Maladie cœliaque réfractaire
RSG	Régime sans gluten
SNP	Single nucleotide polymorphisms

STAT	Signal transducer and activator of transcription
TCR	T-cell receptor
TGF- β	Transforming growth factor- β
Th	T Helper cell
TJ	Tight junction
TLR	Toll-like receptor
TNF α	Tumor necrosis factor α
Treg	Regulatory T cells
tTG	Tissue transglutaminase

TABLES DES MATIERS

DEDICACES.....	i
REMERCIEMENTS.....	ii
RESUME.....	iv
ABSTRACT.....	v
PRODUCTION SCIENTIFIQUE.....	vi
LISTE DES TABLEAUX.....	ix
LISTE DES FIGURES.....	x
LISTE DES ABREVIATIONS.....	xi
TABLES DES MATIERS.....	xiv
INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
PARTIE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	3
1 Maladie Cœliaque	4
2 Histoire et origine de la maladie cœliaque	4
3 Épidémiologie de la maladie cœliaque	6
4 Étiologie multifactorielle de la maladie cœliaque.....	8
4.1 Risque génétique.....	8
4.2 Rôle du gluten dans la maladie cœliaque	9
4.3 Variation saisonnière.....	10
4.4 Alimentation du nourrisson.....	11
4.5 Infections par rotavirus et maladie cœliaque	11
4.6 Risque de la maladie Coeliaque en fonction du mode d'accouchement de la mère	12
5 Immunogénétique de la maladie cœliaque	13
5.1 Gènes HLA Classe II.....	13
5.2 Gènes CD	16
6 Physiopathologie de la maladie cœliaque.....	18
6.1 Rôle de la transglutaminase tissulaire dans la maladie cœliaque.....	18
6.2 Cellules T et B dans la maladie cœliaque	20
6.2.1 Cellules T CD4+ et T CD8+ dans la maladie cœliaque.....	20
6.2.2 Cellules B dans la maladie cœliaque	21
6.3 Rôle de l'IL15 dans la pathogenèse de la maladie cœliaque.....	22
6.4 Autres facteurs impliqués dans la pathogenèse de la maladie cœliaque	24
7 Maladie cœliaque et Microbiote.....	28
7.1 Microbiome oral chez les patients atteints de la maladie cœliaque	28
7.2 Microbiote intestinal chez les patients atteints de la maladie cœliaque.....	29
7.3 Microbiote fécal chez les patients atteints de la maladie cœliaque.....	30

8	Présentation cliniques de la maladie cœliaque.....	32
8.1	Manifestations clinique de la Maladie Cœliaque Chez les enfants :.....	34
8.2	Manifestations clinique de la Maladie Cœliaque Chez les adultes :	34
9	Diagnostic de la maladie Cœliaque	36
9.1	Diagnostic sérologique	36
9.1.1	Anticorps Anti-Gliadine	36
9.1.2	Anticorps Anti-Endomysium (EMA).....	37
9.1.3	Anticorps Anti-Transglutaminase tissulaire.....	37
9.2	Diagnostic histologique	37
10	Traitement de la maladie cœliaque	46
	PARTIE II : PARTIE PRATIQUE	50
11	Etude 1 : Typage HLA DQ/DR par sérologie Microlymphocytotoxicité (MLC).	51
11.1	Séparation lymphocytaire	51
11.2	Numération des lymphocytes	52
11.3	Réaction de MLC.....	53
11.4	Contrôle qualité.....	53
11.5	Résultat de l'étude I : Typage HLA DQ/DR par sérologie Microlymphocytotoxicité (MLC) ..	54
11.6	Discussion de l'étude I : Typage HLA DQ/DR par sérologie Microlymphocytotoxicité (MLC)	54
12	Etude I : L'implication des gènes CD1 dans la pathogenèse de la maladie cœliaque chez des patients adultes.....	55
12.1	Les participants à l'étude :.....	55
12.2	Matériels et Méthodes.....	56
12.2.1	Prélèvements.....	56
12.2.2	Extraction D'ADN.....	56
12.2.3	Protocole de l'extraction	57
	Analyse du polymorphisme des gènes CD1A, CD1D et CD1E	58
12.3	Analyse statistique	60
12.4	Résultats de l'étude II: L'implication des gènes CD1 dans la pathogenèse de la maladie cœliaque chez des patients adultes	60
12.5	Discussion de l'étude II : L'implication des gènes CD1 dans la pathogenèse de la maladie cœliaque chez des patients adultes	62
13	Etude III : Distribution des gènes HLA DQ2/ HLA DQ8 chez des patients adultes atteints de maladie cœliaque	65
13.1	Méthodologie de recherche.....	65
13.2	Les critères de sélection	66
13.3	Les critères d'exclusion.....	66

13.4	Qualité des études.....	67
13.5	Extraction des données	67
13.6	Résultat de l'Etude III : Distribution des gènes HLA DQ2/ HLA DQ8 chez des patients adultes atteints de maladie cœliaque.....	68
13.7	Discussion de l'étude III: Distribution des gènes HLA DQ2/ HLA DQ8 chez des patients adultes atteints de maladie cœliaque	84
	CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES	89
	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	92

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La maladie cœliaque (MC) aussi appelée sprue cœliaque ou sprue non tropicale est une entéropathie auto-immune due à une intolérance au gluten chez des sujets génétiquement prédisposés. Cette hypersensibilité aboutit à une atrophie villositaire totale ou subtotale de la muqueuse intestinale qui guérit après exclusion du gluten de l'alimentation et réapparaît lorsqu'il y est réintroduit (épreuve de rechute). La MC est responsable d'un syndrome de malabsorption d'intensité variable. Le mode de présentation clinique de la maladie cœliaque s'est progressivement modifié. Ainsi elle est passée du statut de maladie rare touchant surtout l'enfant dans une présentation clinique classique à celui d'une des maladies chroniques les plus fréquentes dans le monde sous les traits d'une affection pouvant être diagnostiquée à tout âge et comprenant surtout des expressions atypiques (celles qui prédominent chez le grand enfant) [1].

Cette pathologie se caractérise par la présence d'une inflammation chronique de la muqueuse et de la sous muqueuse de l'intestin grêle ainsi que la présence de différents symptômes systémiques, comme, la diarrhée, des douleurs abdominales, une malabsorption et une perte de poids. Cependant, les patients peuvent présenter des symptômes extra-intestinaux ou des signes non spécifiques tels que l'anémie ferriprive seule [2].

La prévalence de la maladie cœliaque dans la population générale en Europe et aux Etats Unis est d'environ 1 %, cette affection devient de plus en plus fréquente dans les pays du Nord d'Afrique et en moyen orient où elle devient une maladie courante. Cette prévalence est d'environ 1% au Maroc [3].

Les gènes d'Antigène d'histocompatibilité leucocytaire HLA-DQ2 codés (HLA- DQA1*05-HLA-DQB1*02) et HLA-DQ8 codés (HLA- DQA*03- DQB1*0302) situés sur le chromosome 6p21 sont les gènes les plus importants pour la prédisposition a cette maladie. Il est connu que les molécules DQ de l'antigène human leucocytaires prédisposent à la maladie cœliaque par une présentation préférentielle d'épitopes de céréales de la MC sont porteurs des molécules HLA DQ2/HLA DQ8, mais tous ceux qui présentent ces facteurs de risque génétique ne deviennent pas tous cœliaques. Néanmoins de nombreux autres loci non HLA sont aussi

également impliqués, mais leur influence n'a pas été confirmée, en raison de leur rôle dans la présentation des antigènes lipidiques aux cellules T [4].

L'objectif de ce travail de thèse est une analyse de ces spécificités HLA classe II (HLA-DQ/DR) et les gènes CD1 et sous-groupes chez une population Marocains des patients adultes atteints de la Maladie Coeliaque, et ceci pour expliquer comment ces variantes contribuent au dépistage, susceptibilité et traitement de la maladie de cœliaque, ensuite pour éclaircir la cause de la maladie cœliaque comme un syndrome à mécanismes chevauchants qui implique des influences variables de facteurs génétiques, immunologiques et environnementaux. L'originalité de ce travail était d'étudier l'implication des gènes CD1 dans la pathogenèse de la MC, qui n'a pas encore été analysée dans cette maladie. A ce jour, seules quelques études ont été réalisées sur les polymorphismes du gène CD1 dans différentes populations ethniques et comme gènes candidats potentiels dans les processus pathologiques [5].

En plus on a résumé les principales découvertes dans chacune des cinq catégories de pathogenèse de la MC (environnementale, immunologique, génétique, microbiote et immunogénétique), en mettant l'accent sur les recherches actuelles concernant les variations génétiques de l'antigène des leucocytes humains (HLA).

D'autre part on a réalisé une revue systématique et méta-analytique de l'évaluation et de la distribution des antigènes leucocytaires humains HLA de classe II (HLA-DQ2 / DQ8) chez les patients adultes atteints de la MC afin de fournir un aperçu d'une perspective et d'une stratégie potentielles pour le dépistage élargi. Notre revue de la littérature porte sur la MC et non sur l'allergie ou la sensibilité au gluten.

PARTIE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1 Maladie Cœliaque

La maladie cœliaque (MC) est une maladie à médiation immunitaire, la seule d'origine bien établie, résultant d'une intolérance permanente au gluten, qui touche principalement le tractus gastro-intestinal. Elle se caractérise par la présence d'une inflammation chronique de la muqueuse et de la sous-muqueuse de l'intestin grêle, et se caractérise cliniquement par la présence de diverses manifestations systémiques.

Elle peut commencer à tout âge, à la fois pendant l'enfance et l'adolescence, et est également relativement fréquente à l'âge adulte. Il est de plus en plus diagnostiqué même chez les patients âgés (jusqu'à 20 % des patients ont plus de 60 ans au moment du diagnostic) [6-8].

En effet une étape importante dans l'histoire de la maladie cœliaque a été l'identification de la transglutaminase tissulaire comme auto-antigène, confirmant ainsi la nature auto-immune de cette maladie. Un fond génétique antigène leucocytaire humain (HLA) (HLA-DQ2/DQ8 positivité et gènes non HLA) est un déterminant obligatoire du développement de la maladie, qui survient avec la contribution de facteurs environnementaux (par exemple, les infections virales et la dysbiose du microbiote intestinal) [1]. La maladie cœliaque touche environ 1% de la population mondiale, bien que la plupart des personnes atteintes ne soient pas diagnostiquées. [9]. Il peut provoquer une grande variété de symptômes, à la fois intestinaux et extra-intestinaux, car il s'agit d'une maladie auto-immune systémique déclenchée par le gluten alimentaire. Les patients atteints de la maladie cœliaque présentent un risque accru de cancer, notamment un risque de lymphome non hodgkinien de deux à quatre fois plus élevé et un risque plus de 30 fois plus élevé d'adénocarcinome de l'intestin grêle, et ils ont un risque de décès 1,4 fois plus élevé [10].

2 Histoire et origine de la maladie cœliaque

Il y a environ 10 000 ans, après la fin de la dernière période glaciaire, les gens ont appris que la chasse aux animaux et la cueillette de baies sauvages et d'autres fruits n'étaient pas les seuls moyens de soutenir la vie. Ils ont découvert que s'ils s'installaient au même endroit assez longtemps, ils pouvaient semer puis récolter des céréales comme le blé. Ce fut la révolution néolithique. La découverte à l'ère néolithique des moyens de produire et de stocker de la nourriture a été la plus grande révolution que l'humanité ait jamais connue [11]. Sans surprise, les changements majeurs de mode de vie et de régime alimentaire provoqués par la révolution agricole ont conduit à l'apparition de "nouvelles" maladies, comme la maladie cœliaque (MC).

Il s'agit d'une entéropathie à médiation immunitaire causée par une intolérance permanente au gluten alimentaire chez des personnes génétiquement prédisposées [12].

La maladie cœliaque (MC) est une maladie qui a été décrite pour la première fois au II^e siècle après JC par Aretaeus de Cappadoce [13], contemporain du médecin romain Galien, qui utilisait le mot grec « *koeliakos* », qui signifie « *souffrance des intestins* ». Cependant, ce n'est qu'en 1888 après JC que Samuel Gee du St. Bartholomew's Hospital [14] a donné la description clinique classique de la MC. Aucun progrès réel dans le traitement de la maladie n'a été réalisé jusqu'aux années 1930-1950, lorsque WK Dicke, un pédiatre néerlandais, a montré que la santé des enfants cœliaques s'améliorait considérablement lorsque le blé, le seigle et l'orge, qui n'étaient pas disponibles au cours de la deuxième guerre mondiale, ont été retirés de leur alimentation de base, pour rechuter à la fin de la guerre lorsque la consommation de farine de blé a recommencé aux Pays-Bas [15]. Il a ainsi identifié le gluten comme le principal coupable [16]. Malgré ces premières connaissances, ce n'est que dans les années 1950 que l'efficacité d'un régime sans gluten dans le traitement de la MC a été reconnue [17].

Une autre étape importante dans notre compréhension moderne de la MC a été franchie dans les années 1950 par Margot Shiner, qui a décrit un nouvel appareil de biopsie jéjunale qu'elle a utilisé avec succès pour biopsier le duodénum distal [17-19]. Cette avancée a été suivie par la découverte d'une capsule moins encombrante et plus facile à utiliser, mise au point par le lieutenant-colonel William Holmes Crosby, qui a permis aux médecins de relier la maladie à des modèles vivants de lésions de la muqueuse proximale de l'intestin grêle, ce qui a permis de percer le mystère qui entourait la pathogenèse de la maladie de Creutzfeldt-Jakob [18, 19].

En effet au cours des années 1980, Simoons a émis la théorie selon laquelle le modèle de propagation de l'agriculture décrit précédemment pouvait expliquer l'incidence plus élevée de la MC dans certains pays occidentaux, notamment en Irlande. Selon cette théorie, la diffusion de la consommation de blé a exercé une pression sélective négative sur des gènes de prédisposition à la MC, tels que le gène HLA-B8 [20]. Une fréquence plus élevée de B8 en Europe du Nord-Est, et par conséquent une fréquence de MC plus élevée, pourrait être attribué à l'exposition aux céréales jusqu'à une date relativement récente [20]. Les preuves ont continué à s'accumuler et, dans les années 1980, le rôle des anticorps dans l'étiologie de la MC a été suggéré et prouvé [18, 21, 22]. Ces preuves ont conduit à l'acceptation de la MC comme une

maladie auto-immune déclenchée par l'ingestion de gluten. En outre, la MC a également été liée spécifiquement à l'expression des gènes HLA DQ2 et HLA DQ8 [18,22].

3 Épidémiologie de la maladie cœliaque

La maladie cœliaque est un trouble systémique à médiation immunitaire déclenché par le gluten alimentaire chez des personnes génétiquement prédisposées. Le gluten est un complexe protéique présent dans le blé, le seigle et l'orge. La maladie cœliaque est caractérisée par un large éventail de présentations cliniques, une réponse spécifique d'auto-anticorps sériques et des dommages variables à la muqueuse de l'intestin grêle [23]. La MC est reconnue maintenant par une incidence mondiale croissante parmi les personnes de divers groupes ethniques parmi les adultes et les enfants [24,25]. La maladie cœliaque affecte désormais ~1 % de la plupart des populations. En effet, au moins deux études ont montré qu'au fil du temps, il y a eu une augmentation substantielle de la prévalence de base de la maladie [24,26].

L'une des premières études aux États-Unis a révélé une prévalence de la MC proche de 0,8 %. Parmi plusieurs pays européens, la prévalence globale est également proche de 1 %, bien que les pourcentages exacts varient selon les pays (par exemple, 0,3 % en Allemagne, 0,7 % en Italie, 1,2 % en Angleterre et 2,4 % en Finlande) [26-27]. La présence de la MC est établie depuis longtemps dans de nombreux pays d'Amérique du Sud qui sont majoritairement peuplés de personnes d'origine européenne. Parmi les donneurs de sang brésiliens, la prévalence de la MC se situe entre 1:681 et 1:214 [28-29]. De plus des études récentes sur les marqueurs sériques chez les donneurs de sang ont montré une prévalence de 1:250 en Suède, 1:524 au Danemark, 1:333 en Hollande, 1:157 en Israël, 1:250 aux États-Unis et 1:681 au Brésil [30-32].

La MC n'est pas seulement fréquente dans les pays développés, des études épidémiologiques récentes réalisées dans des régions en voie de développement montrent des taux de prévalence chevauchant les chiffres européens, en particulier en Afrique du Nord (0,53 % en Égypte, 0,79 % en Libye et 0,6 % en Tunisie et 1% au Maroc) [33-35], au Moyen-Orient (0,88 % en Iran et 0,6 % en Turquie) [36, 37], et en Inde (0,5 % en Inde) [38].

Cette pathologie peut se développer à tout âge, y compris dans les populations gériatriques [39]. Ces diagnostics n'indiquent pas nécessairement la découverte tardive d'une maladie cœliaque de longue date - ils pourraient résulter d'une perte de novo de la tolérance au gluten. Des études portant sur des échantillons de sérum en série ont signalé une perte de tolérance au gluten à

l'âge adulte [40]. Néanmoins, des études récentes de cohortes prospectives ont révélé que la plupart des patients étaient atteints de la maladie cœliaque avant l'âge de 10 ans [41-42].

La MC est également un trouble courant dans les pays d'Afrique du Nord et du Moyen-Orient ; cependant, le taux de diagnostic est encore très faible dans ces pays, principalement en raison de la faible disponibilité des installations de diagnostic et d'une mauvaise connaissance de la maladie. Chez les Sahraouis, une population du Sahara occidental, la prévalence de la MC dans la population générale est exceptionnellement élevée (5,6 %) [43]. Récemment, une observation cohérente dans plusieurs régions géographiques a révélé que l'incidence et la prévalence de la MC augmentent avec le temps [44]. Bien que ces pays consomment des quantités similaires de blé et aient des fréquences d'haplotypes HLA comparables, la fréquence de la MC varie, ce qui indique que des variables environnementales et/ou génétiques supplémentaires peuvent jouer un rôle dans l'issue de la maladie [45]. De plus l'incidence spécifique aux enfants était de 21,3 pour 100 000 personnes-années (IC 95 % : 15,9, 26,7) (I2 5 99,7 %), contre 12,9 (IC 95 % : 7,6, 18,2) (I2 5 99,9 %) chez les adultes. La mise en commun des variations annuelles moyennes ont montré que l'incidence de la MC augmentait de 7,5 % (IC 95 % : 5,8, 9,3) (I2 5 79,6 %) par an au cours des dernières décennies [46].

En effet l'incidence de la MC a continué d'augmenter au cours de la dernière décennie dans une population nord-américaine [47]. Cependant, compte tenu de la distribution mondiale des facteurs causaux, cette diffusion hétérogène n'est pas surprenante. Il a été démontré que la population sahraouie, une population algérienne, a la prévalence la plus élevée de la maladie cœliaque (près de 6 %) parmi toutes les populations mondiales [3,48-52].

Les manifestations cliniques de la MC sont plus communes dans les populations dont l'alimentation contient du blé et d'autres céréales contenant du gluten. Ainsi, la MC est rarement présente dans les populations dont l'alimentation repose sur le riz ou le maïs [36]. Les changements environnementaux survenus depuis l'origine de l'agriculture ont considérablement modifié l'épidémiologie des maladies [53].

L'incidence de la maladie cœliaque est plus élevée chez les femmes que chez les hommes (17,0 vs 7,8 pour 100 000 années-personnes dans une analyse regroupée [54], mais cela pourrait être dû au fait que les hommes sont plus susceptibles de ne pas être diagnostiqués. Une revue systématique et une méta-analyse ont révélé une légère augmentation de la séropositivité chez les participantes aux études de dépistage, [55] bien que certaines études d'adultes aient révélé

que les hommes et les femmes ont des séroprévalences similaires [56,57]. Les hommes sont moins susceptibles de subir un examen de biopsie duodénale lors d'une endoscopie supérieure pour des indications telles que la diarrhée et la perte de poids, ce qui pourrait contribuer à un sous-diagnostic [58].

4 Étiologie multifactorielle de la maladie cœliaque

Bien que le mécanisme exact conduisant à l'apparition de la MC ne soit pas entièrement compris, les preuves existantes suggèrent que l'étiologie de la MC est multifactorielle, la génétique et le gluten étant les conditions préalables (Figure : 1) [59, 60].

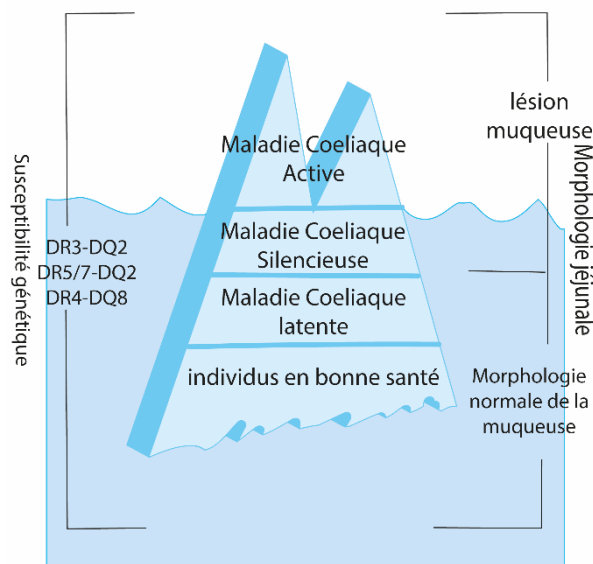


Figure 1 : Iceberg de la maladie cœliaque (MC) et le spectre du trait cœliaque¹ : La connaissance des différentes formes cliniques de la maladie cœliaque et l'activité des cliniciens dans la recherche de cas par dépistage influenceront les résultats des taux d'incidence et de prévalence dans différents pays.

4.1 Risque génétique

Les hétérodimères de l'antigène leucocytaire humain HLA-DQ2 et HLA-DQ8 sont des facteurs de risque clés de la maladie Cœliaque ; Dubois, P. C et al, suggère qu'ils représentent environ 40 % de l'hérédité de la maladie [61]. Les 60 % restants de la vulnérabilité génétique de la MC sont partagés par un nombre inconnu de gènes non HLA, dont chacun est censé présenter un

¹ Popp, A., & Mäki, M. (2019). Changing pattern of childhood celiac disease epidemiology: contributing factors. *Frontiers in Pediatrics*, 7, 357.

petit risque [61]. La première recherche d'association à l'échelle du génome sur la MC, ainsi que son suivi, ont récemment découvert 9 locus non HLA qui contribuent au risque de MC [62-64]. En effet les gènes HLA-DQA1*05-DQB1*02 (DQ2) et HLA-DQA1*03-DQB1*0302 sont fortement liés à la prédisposition à la maladie coeliaque (DQ8) [65].

4.2 Rôle du gluten dans la maladie cœliaque

Le gluten est un produit chimique complexe présent dans le blé, le seigle et l'orge, entre autres céréales [66,67]. Le gluten contient une combinaison de protéines appelée gliadine, qui est nocive pour les personnes atteintes de la maladie cœliaque [68]. La majorité des composants dangereux se trouvent dans cette proportion [69]. Les prolamines (gliadines dans le blé, hordeine dans le seigle et secaline dans l'orge) et les gluténines (gluténines dans le blé) sont les composants du gluten [70]. La gliadine est riche en résidus de glutamine et de proline, et elle est difficile à digérer même dans un estomac humain sain [70]. De ce fait, l'ensemble du peptide de gliadine reste dans la lumière et une partie passe la barrière intestinale [69].

Les molécules de gliadine non digérées, comme les peptides de la portion alpha-gliadine de 33 acides aminés, sont résistantes aux protéases de l'estomac, du pancréas et de la membrane de la bordure en brosse des intestins. Elles persistent dans la lumière intestinale après l'ingestion de gluten dans l'intestin humain [69]. Ces peptides peuvent pénétrer la barrière épithéliale de l'intestin, interagir avec les cellules présentatrices d'antigènes dans la lamina propria, et provoquer une infection intestinale ou une perméabilité accrue [71]. Les sous-unités α , β , γ et ω de la gliadine ont été identifiées ; la sous-unité α -gliadine a les effets néfastes les plus graves, tandis que les sous-unités β , γ et ω sont considérées comme ayant une toxicité moindre [72]. Le gluten contient plus de proline et de glutamine et moins d'acides aminés chargés que les autres céréales. Le gluten a un poids moléculaire naturel de 10-30 kDa ou plus [73-74]. Ensuite, la gliadine a été classée en quatre sous-types en fonction de la séquence d'acides aminés : α , β , γ , ω [75].

Outre le gluten, d'autres facteurs liés à l'environnement et au mode de vie comme l'alimentation des nourrissons, les facteurs socio-économiques, les infections, les antibiotiques et l'accouchement par césarienne, ont été proposés comme résumé ci-dessous (figure : 2) [76-81].

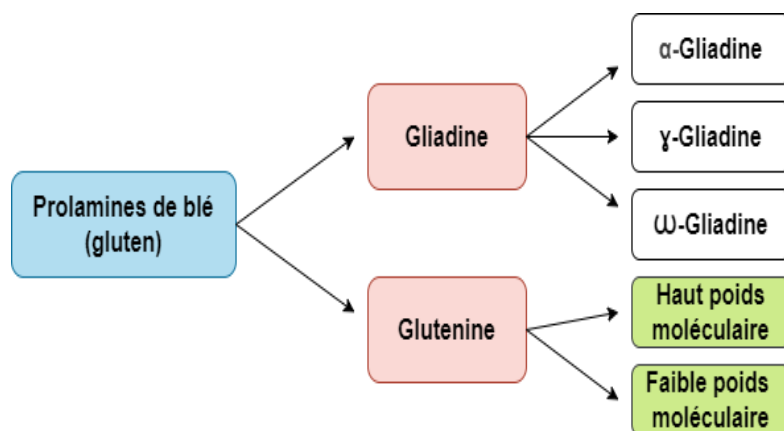


Figure 2 : Classification des prolamines du blé (gluten)². Les α - et γ -gliadines abritent des peptides présentant une immunogénicité importante pour les patients MC (33-mer et 26-mer).

4.3 Variation saisonnière

La variation de la saison de naissance a été liée à la prévalence de la MC [82,83-85]. De plus, un rapport révèle qu'en Italie, les enfants nés en été avaient plus de chances d'avoir la MC que les enfants nés à d'autres saisons [86]. En fait, la saison de naissance est un facteur de risque environnemental de MC, en particulier chez les hommes diagnostiqués avant l'âge de 15 ans. Ces résultats sont cohérents avec un modèle théorique proposé qui intègre des variables environnementales putatives (par exemple, l'introduction de gluten, l'exposition aux UVB, le statut en vitamine D) et les infections virales gastro-intestinales aiguës de la petite enfance [87]. Aronsson, C. A et al ont récemment rapporté que des concentrations de 25-hydroxyvitamine D [25(OH) D] inférieur à 30 nmol/L et supérieures à 75 nmol/L pendant la petite enfance étaient associées à un risque accru de développer une MC chez les enfants génétiquement prédisposés. L'association non linéaire met en évidence la nécessité de recherches futures sur la fonction probable de 25(OH) D dans le développement de la MC [88]. Les naissances estivales, en revanche, étaient associées à un risque élevé de MC plus tard dans la vie, mais le risque

² Wei, G., Helmerhorst, E. J., Darwish, G., Blumenkranz, G., & Schuppan, D. (2020). Gluten degrading enzymes for treatment of celiac disease. *Nutrients*, 12(7), 2095.

supplémentaire était mineur et il est peu probable que l'exposition globale à des maladies infectieuses au début de la vie soit une cause majeure de MC [89].

4.4 Alimentation du nourrisson

Ivarsson, A et al suggère que la recommandation actuelle d'alimentation du nourrisson d'introduire progressivement des aliments contenant du gluten à partir de 4 mois, de préférence pendant l'allaitement en cours, est favorable [90-91]. En effet, l'introduction progressive d'aliments contenant du gluten dans l'alimentation des enfants alors qu'ils sont encore allaités réduit le risque de maladie cœliaque pendant la petite enfance et, très probablement, plus tard dans l'enfance [92]. De plus le risque de maladie cœliaque augmentait de manière synergique si, en plus d'avoir plusieurs épisodes infectieux, les nourrissons recevaient de grandes quantités de gluten alimentaire, par rapport à de petites ou moyennes quantités, après l'arrêt de l'allaitement [94,95]. En effet Størdal, K et ses collaborateurs ont montré un risque élevé de MC chez les nourrissons exposés au gluten après 6 mois et un risque accru chez les enfants allaités après 12 mois [96]. Cependant, deux grandes enquêtes suédoises n'ont trouvé aucun lien entre le moment de l'introduction du gluten et l'incidence de la MC [96,97]. L'introduction du gluten à l'âge de 5 à 6 mois n'a pas augmenté le risque de MC dans l'étude d'Ivarsson et al. [97]. Norris et al, d'autre part, ont découvert un lien entre l'âge d'exposition au gluten et la MC. En utilisant 4 à 6 mois comme âge de référence pour l'introduction du gluten, les bébés qui prenaient du gluten pour la première fois entre 1 et 3 mois avaient un risque 23 fois plus élevé de MC ; ceux qui ont reçu du gluten après 6 mois avaient un risque 4 fois plus élevé de MC [98]. Dans une étude récente sur les bébés, l'introduction du gluten à l'âge de 4 mois était liée à une diminution de la prévalence de la MC. Ces résultats impliquent que l'ingestion précoce de gluten à forte dose devrait être étudiée en tant qu'approche préventive de la MC [99].

4.5 Infections par rotavirus et maladie cœliaque

Chez les enfants présentant une vulnérabilité génétique à la maladie cœliaque, les infections gastro-intestinales augmentent la probabilité d'auto-immunité. Le génotype HLA, la consommation de gluten de bébé, l'allaitement et la vaccination contre le rotavirus influencent tous le risque, démontrant ainsi des interactions compliquées entre les infections, les facteurs génétiques et les aliments dans l'apparition de la maladie cœliaque chez les enfants [100]. Une étude de cohorte à grande échelle en relation avec les infections devient nécessaire. Il est possible que les infections de la petite enfance aient joué un rôle dans le développement de

la MC. Les raisons non causales de ce lien, telles que le biais de surveillance et la causalité inverse, ne peuvent cependant ne pas être exclues [101]. De plus, l'infection à rotavirus peut être un facteur de risque de MC par le biais de processus immunologiques. Le développement de la MC est influencé à la fois par des facteurs génétiques et environnementaux. Bien que la présence de MC chez les enfants atteints de gastro-entérite à rotavirus ait été vérifiée, il n'y avait pas de différence statistiquement significative (figure : 3) [102].

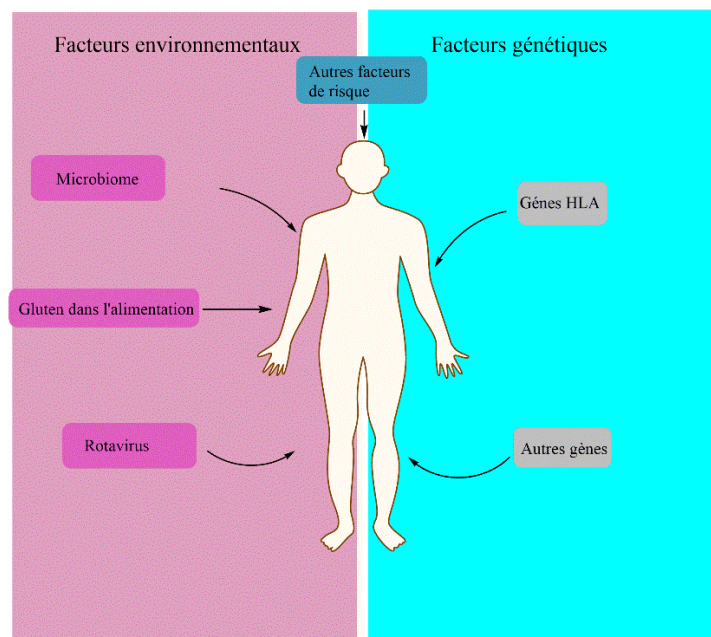


Figure 3 : Étiologie multifactorielle de la Maladie Cœliaque³. *La maladie coeliaque est une pathologie à étiologie multifactorielle due à des facteurs génétiques et des facteurs environnementaux.*

4.6 Risque de la maladie Coeliaque en fonction du mode d'accouchement de la mère

Dans une cohorte d'enfants génétiquement prédisposés à la MC, le mode d'accouchement n'a pas influencé le risque de développer la MC [103]. En effet une étude basée sur un registre, le mode d'accouchement n'était pas associé à un risque accru de maladie cœliaque diagnostiquée [104]. En plus la relation entre le mode d'accouchement et la maladie cœliaque (MC) et l'auto-

³ Sollid, L. M., & Lie, B. A. (2005). Celiac disease genetics: current concepts and practical applications. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 3(9), 843-851.

immunité MC dans une cohorte de naissance multinationale a été étudié et les résultats ont montré que la césarienne n'est pas associée à un risque accru de MC chez la progéniture [105] d'autre part la naissance par césarienne entraîne une susceptibilité accrue de l'hôte aux maladies inflammatoires chroniques qui durent des décennies [106]. Cependant aucune différence significative dans le risque de maladie inflammatoire de l'intestin chez les descendants accouchés par césarienne par rapport à ceux nés par voie basse [107].

5 Immunogénétique de la maladie cœliaque

5.1 Gènes HLA Classe II

HLA est le nom du complexe d'histocompatibilité majeur (CMH) chez l'homme ; il s'agit d'un locus situé sur la région chromosomique 6p21 et contient un grand nombre de gènes liés à la réponse immunitaire. Les gènes HLA codent pour des protéines présentatrices d'antigènes qui sont exprimées dans la plupart des cellules humaines et sont essentielles à la capacité de l'organisme à faire la distinction entre les molécules du soi et les molécules étrangères (figure : 4) [108].

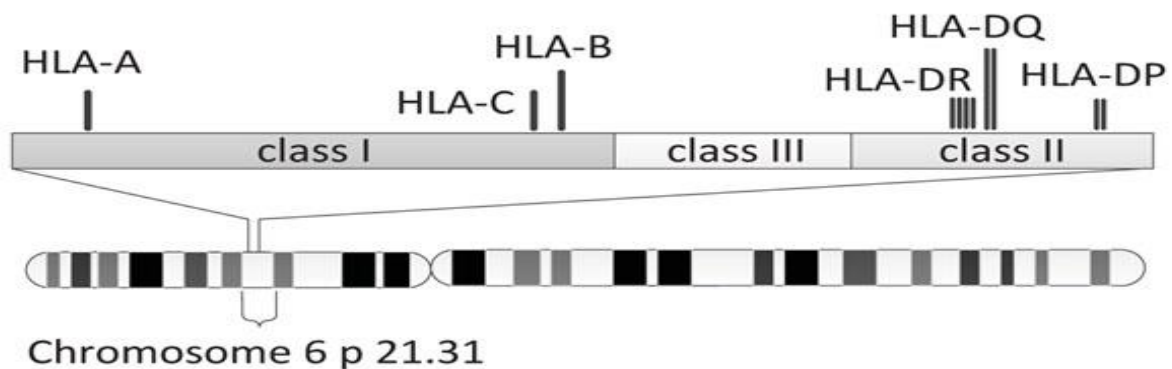


Figure 4 : Région HLA du chromosome 6⁴

Les gènes HLA sont impliqués dans de nombreux troubles inflammatoires et auto-immuns et contribuent également à la susceptibilité à développer des maladies infectieuses telles que le sida ou le paludisme. Cependant, en raison de la grande complexité génétique de cette région, la plupart des facteurs génétiques particuliers et des mécanismes pathogéniques qui sous-tendent la susceptibilité à chacun de ces troubles restent inconnus. En fait, la région HLA

⁴ Xie, M., Li, J., & Jiang, T. (2010). Accurate HLA type inference using a weighted similarity graph. *BMC bioinformatics*, 11(11), 1-10.

présente la plus forte densité génique de tout le génome et une très forte expression génique semble être favorisée [109]. La fonction principale des 2 classes de molécules HLA est la présentation des antigènes peptidiques aux acteurs du système immunitaire adaptatif que sont les lymphocytes T, participant ainsi à la défense anti-infectieuse et antitumorale [110].

En effet les gènes de classe I codent pour des molécules de surface de classe I du HLA. Parmi ces gènes, les plus polymorphiques sont les gènes dit classiques HLA-A, HLA-B et HLA-C qui codent pour les molécules HLA-A, HLA-B et HLA-C respectivement, ils sont également les plus étudiés. Les molécules HLA de classe I sont présentes sur toutes les cellules nucléées de l'organisme à des niveaux variables (avec une expression plus importante au niveau des lymphocytes). Les molécules de classe I vont présenter les peptides antigéniques produits dans la cellule (endogènes, provenant du cytoplasme) [111]. De plus les gènes de classe II codent pour des molécules de surface de classe II du HLA. Les plus importantes sont les gènes HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DQB1 et HLA-DRB1 qui codent pour les molécules HLA-DPA1, HLA-DPB1 HLA-DQB1 et HLA-DRB1 respectivement. Les molécules HLA de classe II sont exprimées à la surface de cellules spécialisées, les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) : les monocytes, les macrophages, les cellules dendritiques, les lymphocytes B et les cellules épithéliales du thymus. Les molécules de classe II vont présenter les peptides antigéniques produits à l'extérieur de la cellule (exogènes, provenant du milieu extracellulaire et internalisés par endocytose). L'antigène est dégradé par le système endo-lysosomal en peptides de tailles variables (entre 12 et 25 acides aminés) puis ces peptides sont chargés sur les molécules HLA de classe II et présentés aux lymphocyte T CD4 [111].

L'étude du système HLA a permis d'associer de très nombreuses pathologies à un ou plusieurs allèles du système HLA, mais aussi de comprendre le mécanisme associé. Certains virus et de nombreuses tumeurs utilisent des stratégies pour moduler à la baisse l'expression du HLA afin d'échapper à la reconnaissance des lymphocytes T. Par exemple, le niveau d'expression du gène HLA-C, plutôt que celui d'un allèle spécifique, peut avoir une plus grande influence sur le contrôle du VIH [112,113].

La MC résulte de l'interaction entre des facteurs génétiques et environnementaux. On pense que la susceptibilité génétique joue un rôle important dans la pathogénicité de la MC, principalement en raison des gènes de classe II liés à l'antigène leucocytaire humain (HLA) [114]. De plus HLA est le déterminant du risque génétique le plus important pour la MC, les molécules HLA de classe II représentant 35 % du risque génétique [115]. Les patients atteints

de la maladie cœliaque expriment principalement une positivité HLA DQ2 et DQ8, avec une association plus forte avec HLA DQ2, en particulier HLA DQ 2,5. La susceptibilité à la maladie dépend des effets posologiques de l'hétérodimère HLA DQ2.5 [116].

Les enfants présentant l'haplotype HLA DR3-DQ2, en particulier les génotypes homozygotes, ont un risque plus élevé de développer une MC et une auto-immunité de la MC dans l'enfance [117]. En outre, les patients atteints de la MC présentent un risque élevé avec les haplotypes DQA1/DQB1 (DQA1*05, DQB1*02 et DQB1*03:02) [118]. Les patients atteints de la MC sont plus susceptibles de présenter des gènes HLA-DQB1 * 02 homozygotes [119].

Les individus peuvent être catégorisés comme présentant un risque élevé ou modéré de MC en fonction du nombre d'allèles portant DQA1 * 05 et DQB1 * 02. Le plus grand risque de développer une MC est observé lorsque les patients sont porteurs de l'haplotype : homogénéité cis-DQ2.5 du chromosome avec le deuxième allèle DQB1 * 02 (DQ2.2) [120]. Les haplotypes HLA DQ2/DQ8 se retrouvent chez 98,4 % des patients atteints de la MC, 89,6 % des membres de la famille de la MC, selon une recherche en portugaise [121]. Seulement en présence de HLA-DQ2, -DQ8, Barbara Piccini et al ont observé une augmentation de la progression du risque de 1:7 chez les sujets homozygotes HLA-DQ2 à 1:85 chez les sujets hétérozygotes DQ8, avec 8,6 % des parents au premier degré affectés [122]. D'autre part dans une étude iranienne, des hétérodimères HLADQ2/ HLA-DQ8 homozygotes ou hétérozygotes ont été trouvés chez 97 % des patients atteints de la MC et 58 % des témoins [123]. La prévalence du génotype HLA-DQ chez les patients atteints de la MC varie légèrement en fonction de leurs antécédents familiaux de la maladie, chez les parents au premier degré des patients atteints de la MC, le profil HLA-DQ2.5 contenant des doubles dosages de HLA-DQB1 * 02 semble être lié à des présentations cliniques typiques et des symptômes plus sévères [124]. Selon une étude menée dans la population suédoise, au moins 3,5 % des enfants porteurs des allèles HLA-DQB1*02, DQB1*0302 ou des deux allèles avaient une MC non découverte [125]. De plus le groupe de patients homozygotes pour l'haplotype DQ2.5 présente le risque le plus élevé de récurrence de la MC, suivi par le groupe de porteurs hétérozygotes lorsque l'haplotype DQ2 est présent. Les porteurs d'une seule copie des allèles DQB1*02 ou DQA1*05, ou d'autres variants non sensibles, présentent le risque le plus faible [126]. En effet les enfants porteurs du gène HLA-DQ2.5, notamment ceux qui possèdent deux allèles HLA-DQB1*02, ont le plus de chances de contracter la maladie. Chez les homozygotes HLA-DQ8, un risque accru comparable a été signalé [127]. L'haplotype DQ7 était l'un des haplotypes les plus courants chez tous les patients

atteints de la MC, et il était considérablement plus courant chez les individus DQ2/DQ8 [128]. Les patients atteints de la MC présentaient plus d'allèles de risque non HLA que les témoins [129]. Les allèles HLA-DQ2.5 et HLA-DQ8 sont plus exprimés que les allèles non associés chez les patients atteints de diabète de type 1, et augmentent la présentation de l'auto-antigène [130]. Chez environ 90 % des enfants atteints de MC, l'allèle HLA-DQB1*02:01 est présent [131]. En revanche, une étude portant sur des enfants grecs a révélé que les patients atteints de la MC présentaient des fréquences plus élevées de HLA-DQB1 *02:01 et DQB1 * 02:02, tandis que les fréquences de HLA-DQB1 *03:01, DQB1 *05:01 et DQB1 *05 : 02 étaient nettement inférieures à celles des témoins [132]. En effet une étude sur des enfants turcs a montré que 76 % des patients étaient positifs pour HLA-DQ2 et/ou HLA-DQ8, 67 % pour HLA-DQ2 et 25 % pour HLA-DQ8. Néanmoins, 24 % étaient HLA-DQ2 et HLA-DQ8 négatifs [133].

Le typage HLA de classe II (HLA-DQA1/DQB1/DRB1) chez des patients marocains atteints de MC et un groupe témoin marocain a révélé des associations HLA-DQ typiques, en comparaison avec d'autres groupes (23 % -32 %), la fréquence élevée d'homozgotie DQ2.5 (45,2 %) rapportée chez les Marocains atteints de MC est remarquable [134].

La population d'enfants saoudiens a montré 52,7 % de HLA-DQ associés à un risque élevé de MC : homozygote DQ2.5 (2,6 %), DQ2.5/DQ2.2 (4,7 %), hétérozygote DQ2.5 (28,15 %), homozygote DQ8 (4,2 %), DQ8 / DQ2.2 (3,6 %), et double dose DQ2.2 (9,4 %), les allèles HLA-DQ à faible risque de CD ; la dose unique DQ2.2 et l'hétérozygotie DQ8 représentaient respectivement 3,6 % et 9,4 % [135]. En effet les enfants qui possèdent l'allèle DRB1*16 et DOA1*0501 ont un risque plus élevé de maladie réfractaire que les porteurs de l'allèle DRB1*12, qui ont un risque plus élevé de formes atypiques de la maladie. La présence de HLA DRB1*12 est une caractéristique ethnique de la population ouzbèke et témoigne de son implication dans le développement de formes atypiques de la maladie [136].

5.2 Gènes CD

Les molécules CD1 sont des molécules de présentation de l'antigène de type Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH) classe I, impliquées dans la présentation d'antigènes lipidiques aux cellules T avec un phénotype et une fonction diversifiés, jouant ainsi un rôle dans les réponses immunitaires innées et adaptatives contre un large éventail d'agents pathogènes. Ils sont largement exprimés sur cellules d'origine hématopoïétique, en particulier les cellules présentatrices d'antigènes [137]. Les cellules T limitées par CD1 reconnaissent les lipides et les

glycolipides, qu'ils soient propres ou non, et la présentation de CD1 peut susciter et affecter les réponses immunitaires contre le cancer, les maladies auto-immunes et les maladies infectieuses.

Sur la base de leurs similitudes, les molécules CD1 peuvent être divisées en trois groupes : le groupe 1 est constitué de CD1A, CD1B et CD1C, le groupe 2 est formé uniquement par CD1D et le groupe 3 contient CD1E qui, à la différence des autres protéines CD1, ont une fonction de chaperon pour d'élargir le répertoire des antigènes lipidiques [138].

Ces gènes codent pour le domaine $\alpha 1$ des molécules CD1. Comme les molécules du CMH de classe I, les molécules CD1 sont des hétérodimères composés d'une chaîne lourde CD1 liée de manière non covalente à la $\beta 2$ -microglobuline. La chaîne lourde CD1 comprend trois domaines protéiques, $\alpha 1$, $\alpha 2$ et $\alpha 3$. Les domaines $\alpha 1$ et $\alpha 2$ forment le sillon de liaison à l'antigène, tandis que le domaine $\alpha 3$ est associé à la $\beta 2$ -microglobuline [139-140]. Le sillon CD1 est structuré en poches contenant des acides aminés non polaires qui facilitent la liaison de molécules hydrophobes, telles que les queues lipidiques des glycolipides [141].

La variation allélique extrêmement limitée des gènes CD1 constitue la principale différence par rapport aux molécules classiques du CMH de classe I et de classe II. Cependant, on a observé que le polymorphisme CD1D affecte l'activation des cellules NKT restreintes par CD1 [142], un sous-groupe de cellules T, largement représentés parmi les lymphocytes intra-épithéliaux non conventionnels (IEL) et impliqué à la fois dans l'homéostasie intestinale et dans le développement de maladies, telles que les maladies inflammatoires de l'intestin [143]. Les antigènes lipidiques et non-soi présentés par les molécules CD1 sont reconnus par les cellules T tueuses naturelles (NKT) et par les cellules T restreintes par CD1 [144] ; ainsi, les lipides microbiens, les lipides du soi et leur présentation, médiée par les molécules CD1, semblent impliqués dans les mécanismes d'inflammation intestinale et d'auto-immunité. En outre, on a émis l'hypothèse d'un rôle des cellules d'NKT limitées par CD1 dans les interactions hôte-microbe au début de la vie pourrait être à la base d'une sensibilité ultérieure aux maladies immunitaires/inflammatoires [145]. Les molécules CD1 semblent être impliquées dans le développement des neuropathies inflammatoires [146] et jouent un rôle important dans la susceptibilité polygénique à la sclérose en plaques (SEP) [147]. De plus, en 2011, Rodrigo et al. ont montré qu'il y a une plus grande prévalence de marqueurs sérologiques de la CD chez les patients présentant une sclérose en plaques [148], suggérant une relation possible entre ces deux maladies auto-immunes. Sur la base de ces observations, nous avons envisagé d'étudier

l'implication des gènes CD1 dans la pathogenèse de la MC, qui n'a pas encore été analysée dans cette maladie.

6 Physiopathologie de la maladie cœliaque

La MC est une maladie auto-immune à prédisposition génétique définie par une réaction anormale au gluten alimentaire [149]. Cette maladie diffère des autres maladies auto-immunes parce que le déclencheur environnemental (le gluten) a été découvert, ainsi que la contribution HLA primaire requise pour le déclenchement de la maladie (DQ2/DQ8) et l'auto-antigène tTG [150]. La consommation de gluten est une étape critique dans la physiopathologie de la MC. Le gluten, en raison de sa forte concentration en proline, résiste à la dégradation protéolytique dans le tube digestif de l'estomac, du pancréas et des intestins [151]. La désamination des peptides du gluten a lieu dans la lamina propria et est désamidée par la tTG [152]. L'immunité innée et acquise médiée par les cellules T joue un rôle important dans le développement de la maladie. Les cellules CD4⁺ Th1 dans la lamina propria sont les médiateurs de la réponse adaptative médiée par les cellules T dans la MC [153]. Les cellules T auxiliaires Th1 et Th2 sont classées en fonction du type de cytokine qu'elles génèrent [154].

6.1 Rôle de la transglutaminase tissulaire dans la maladie cœliaque

La transglutaminase tissulaire (tTG) est une enzyme calcium-dépendante qui catalyse la modification post-traductionnelle des protéines et est produite par les cellules au cours de l'inflammation. On pense que la tTG a au moins deux fonctions importantes dans la maladie cœliaque : en tant qu'enzyme désamidante qui renforce l'action immunostimulante du gluten, et en tant qu'antigène cible de la réponse immunitaire [155].

Dieterich et al, 1997 ont identifié la transglutaminase tissulaire (tTG) comme la cible des anticorps endomysiaux spécifiques typiques de la MC en 1997 [156]. Les anticorps IgA anti-endomysium (EMA) sont considérés depuis de nombreuses années comme le meilleur marqueur sérologique avec une spécificité de presque 100 % chez les patients non traités [157]. Chez les personnes atteintes de la maladie cœliaque, la tTG a été identifiée comme un auto-antigène important ciblé par les auto-anticorps [158]. La tTG est une enzyme calcium-dépendante de 686 acides aminés (76-kD). Elle a de nombreuses fonctions physiologiques. Sa distribution cellulaire n'est pas limitée à un seul compartiment ; on peut la trouver dans la matrice extracellulaire, à l'intérieur de la cellule (principalement dans le cytoplasme), dans le

noyau et à la surface de la cellule. Les fonctions variées de la tTG caractérisent ces différentes localisations [159, 160]. Sa tTG est exprimée par pratiquement tous les types de cellules et est généralement stockée dans un état enzymatiquement inactif dans la cellule [161]. La tTG est une enzyme de transamidation dépendante du calcium [162], qui catalyse la réticulation covalente et irréversible d'une protéine contenant de la glutamine (donneur de glutamine) à une protéine contenant de la lysine (accepteur de glutamine), ce qui entraîne la création d'une liaison ϵ -(γ -glutamyl)-lysine (isopeptidyl) [155]. De plus, en ajoutant un isopeptide, la tTG catalyse le processus de transamidation dans lequel les amines primaires sont incorporées dans les protéines [155]. De plus, la tTG fonctionne comme une déamidase, convertissant des résidus de glutamine distincts en glutamate lorsque les substrats aminés appropriés ne sont pas disponibles [145].

Lorsque l'accepteur de glutamine (lysine) n'est pas disponible ou que le pH est bas, comme cela peut être le cas lors d'une inflammation intestinale, la tTG déamide uniquement la glutamine cible dans la protéine substrat, convertissant la glutamine neutre en glutamate chargé négativement (Figure : 4) [163]. Selon les recherches, la tTG est non seulement un marqueur diagnostique de la MC, mais elle joue également un rôle dans l'étiologie de la maladie [165]. La tTG peut aggraver le processus inflammatoire chez les patients atteints de la MC en endommageant la matrice extracellulaire des villosités et en agissant comme une cible pour la destruction des cellules épithéliales des villosités intestinales [166]. En effet, les réactions susmentionnées sont significatives, tout d'abord, la tTG peut éliminer des résidus de glutamine particuliers des peptides de gliadine immunogènes, ce qui donne des épitopes ayant une plus grande affinité pour DQ2 [167, 168]. En effet, HLA DQ2 est un gène du complexe majeur d'histocompatibilité HLA de classe II de type DQ.

Pour les peptides de gluten immunopathogènes, la tTG a une spécificité de substrat très élevée, de plus, la désamidation catalysée par la tTG améliore grandement la détection de ces peptides de gluten par les maladies liées à HLA-DQ2 ou -DQ8, et l'interféron est la principale cytokine libérée lorsque les cellules T sensibles au gluten et DQ2 sont activées [169].

Le tTG est également lié à la réponse humorale, qui joue un rôle dans la progression de la maladie. Les peptides du gluten sont produits à la suite de la réponse humorale, qui exacerbe les cellules T dans l'intestin grêle des patients atteints de la MC [168]. Des recherches antérieures ont révélé que les personnes sensibles au gluten (types HLA DQA * 0501 et DQB1 * 0201) présentent des réponses aberrantes au gluten alimentaire. Par conséquent, la présence

de gluten alimentaire et les minuscules lésions intestinales qui en résultent sont tenues pour responsables de l'inflammation intestinale [169].

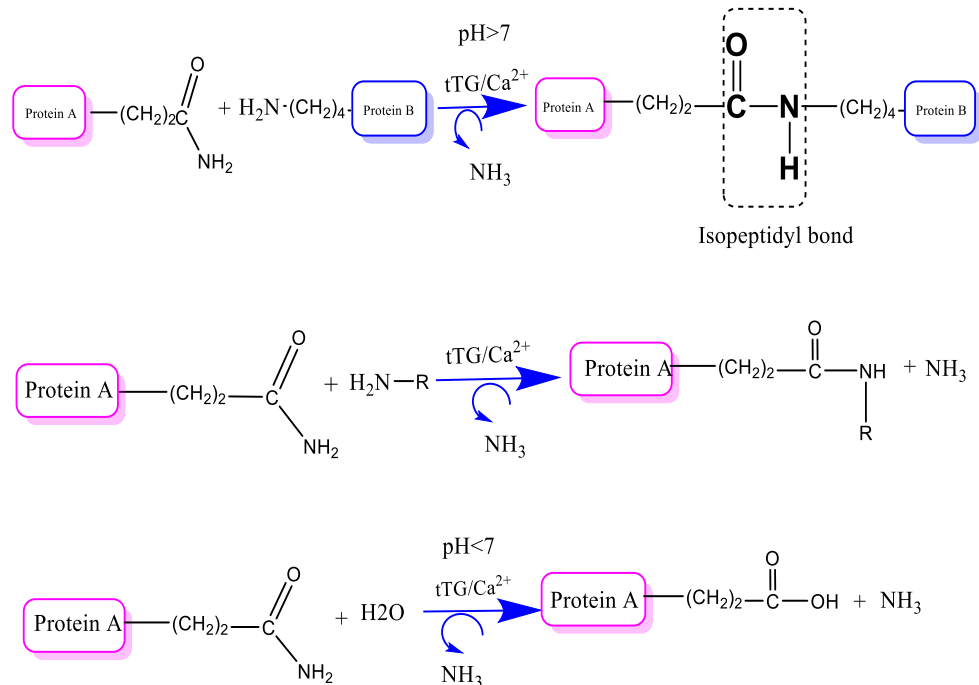


Figure 5 : Réactions biochimiques catalysées par la transglutaminase tissulaire calcium-dépendante (tTG)⁵. La tTG catalyse la réticulation d'un résidu glutamine de la protéine A liée à une protéine (donneur de glutamine) avec le résidu lysine de la protéine B d'une seconde protéine (accepteur de glutamine, c'est-à-dire la lysine ou une polyamine), entraînant la formation d'une liaison isopeptidyle irréversible. La réaction de transamidation peut entraîner l'incorporation covalente d'une amine (R-NH₂, comme les polyamines, les histamines) dans le résidu glutamine de la protéine acceptrice (protéine A). En l'absence d'accepteurs de glutamine disponibles ou à des valeurs de pH faibles, la désamidation des protéines donneuses de glutamine est plus efficace que la réticulation, ce qui entraîne la production de peptides désamidés.

6.2 Cellules T et B dans la maladie cœliaque

6.2.1 Cellules T CD4⁺ et T CD8⁺ dans la maladie cœliaque

Le peptide du gluten est sélectivement désaminé par la tTG, ce qui le transforme en un bon épitope pour les lymphocytes T [170]. Les épitopes du gluten représentés par les molécules HLA DQ liées à la maladie sont reconnus par ces lymphocytes T [171, 172] qui produisent alors beaucoup d'interféron- γ (IFN- γ) et d'IL-21, mais pas d'IL-17 [173, 174].

⁵ Aboulghras, S., Piancatelli, D., Oumhani, K., Balahbib, A., Bouyahya, A., & Taghzouti, K. (2022). Pathophysiology and immunogenetics of celiac disease. *Clinica Chimica Acta*.

Ces cytokines anti-inflammatoires agissent sur les cellules épithéliales intestinales et stimulent l'activation des lymphocytes T cytotoxiques (CTL) intra-épithéliaux, ce qui entraîne la mort des cellules épithéliales et l'atrophie des villosités [175]. De plus, on ignore comment les cellules T CD4+ spécifiques du gluten deviennent pro-inflammatoires chez les souris nourries au gluten exprimant HLA-DQ2.5 et le récepteur des cellules T (TCR) spécifique du gluten [176, 177]. En effet, la tTG est nécessaire à la production de facteur de croissance transformant (TGF- β), qui s'effectue en réticulant la protéine de liaison du TGF- β [178].

L'immunité des lymphocytes T CD4+ anti-gluten est insuffisante pour assurer la destruction des tissus dans la MC. En effet, certains patients atteints de MC ne présentent pas de destruction tissulaire malgré la présence d'anticorps anti-tTG et donc d'une immunité des lymphocytes T CD4+ vis-à-vis du gluten [179,180]. La réintroduction du gluten alimentaire chez les patients cœliaques suivant un régime sans gluten favorise l'apparition en périphérie d'un nombre important de CD8+ activés et de cellules T présentant des marqueurs intestinaux, ainsi que l'activation des cellules CD4+ spécifiques du gluten, selon Han et al [181].

6.2.2 Cellules B dans la maladie cœliaque

Deux réponses des cellules B sont nécessaires pour les anticorps anti-tTG et anti-gluten, le développement des deux réponses des cellules B semble être comparable, sur la base de la réponse au gluten alimentaire, les individus avec les allèles HLA-DQ2 ou HLA-DQ8 sont les seuls à développer des anticorps anti-tTG et peut-être des anticorps anti-gluten sur la seule base de la consommation de gluten [182]. De nombreuses études ont montré que les lymphocytes T interagissent avec les lymphocytes B, que les auto-anticorps anti-tTG se fixent aux lymphocytes B et que les lymphocytes B dotés d'un BCR peuvent présenter des complexes tTG-gliadine aux lymphocytes T, ce qui entraîne la maturation et la prolifération des lymphocytes B et des plasmocytes et la production de tTG-IgM et de tTG-IgA [183]. Cependant, malgré plusieurs tentatives, aucune preuve concluante de la présence de cellules T spécifiques de la tTG n'a été trouvée [184-185]. Par conséquent, il semble que la sélection de tous les composants des lymphocytes B réactifs au gluten soit le meilleur moyen d'obtenir l'aide des lymphocytes T réactifs au gluten, le mécanisme par lequel les lymphocytes T réactifs au gluten aident les lymphocytes B spécifiques de la tTG étant inconnu [184].

Du Pre et al, 2020 ont découvert que les cellules B autoréactives tTG manquent de tolérance et que ces cellules B autoréactives génèrent des auto-anticorps avec l'aide des cellules T [185]. Cela se produit dans le cas de l'activité enzymatique de la tTG. Fleckenstein et al, 2004 ont

découvert que la tTG peut former un complexe lié de manière covalente avec les peptides du gluten, qui peut alors servir de complexe «haptène-porteur» [186].

Les lymphocytes B, avec l'aide des lymphocytes T, s'activent, et les lymphocytes T s'activent à leur tour, ce qui entraîne une croissance et une prolifération clonales [187]. Dans le cas de la MC, il n'est pas certain que les cellules B fonctionnent comme des cellules présentatrices d'Antigène (CPA) pour activer les cellules T inflammatoires. Les lymphocytes B naïfs qui sont spécifiques de la tTG se trouvent dans le tissu lymphoïde secondaire, où ils localisent leur antigène pour être activés, après que les cellules B et la tTG se soient liées, ces cellules peuvent interagir avec les peptides du gluten [184].

Les cytokines jouent un rôle central dans l'amélioration et le contrôle de la réponse immunitaire en développement par leurs effets régulateurs sur les cellules T helper, les cellules T et les macrophages sont des cellules majeures dans l'entéropathie intestinale [188]. Antonio Di Sabatino et al ont découvert un grand nombre de cellules dendritiques dans la muqueuse. Les patients cœliaques avaient des niveaux plus élevés de transcriptions liées à Th1 comme IFN alpha, et de cytokines intracellulaires comme IL-6 et IL-23 dans les cellules dendritiques. L'absence d'IL-12p40 est également vérifiée et l'expression de l'IL-6 est plus importante tandis que celle de l'IL-10 est plus faible [189]. L'IFN- γ est important dans l'entéropathie de la MC, selon des études in vitro [190]. L'ARNm de l'IFN- γ a également été trouvé dans les contrôles et les biopsies de la MC, selon Lahat et al. Les cellules T auxiliaires Th1 et Th2 sont classées selon le type de cytokine qu'elles génèrent [191]. L'IFN- γ , qui peut activer les phagocytes et générer des anticorps opsonisants et fixant le complément, est produit en grande quantité par les cellules T auxiliaires (Th1). Par conséquent, elles jouent un rôle crucial dans la protection des cellules contre les infections intracellulaires [192, 193].

6.3 Rôle de l'IL15 dans la pathogenèse de la maladie cœliaque

L'interleukine (IL)-15 contribue à l'immunopathogénie de la MC. Une quantité plus faible d'IL-15 augmente la réponse IFN- γ des cellules mononucléaires du sang périphérique humain (PBMC) des patients atteints de la MC à la gliadine digérée par la pepsine-trypsine par rapport au groupe témoin [194]. L'étiologie de la MC peut être influencée par des variables génétiques et/ou environnementales qui affectent la production et la réactivité de l'IL-15 dans l'intestin, selon [194].

La surexpression de l'interleukine 15 (IL-15) dans l'épithélium intestinal et la lamina propria conduit à un désordre du système immunitaire, ce qui entraîne des dommages épithéliaux. Cette étude récente a montré que l'utilisation de stratégies de traitement par interférence ARN tTG et IL-15 peut traiter la MC avec des préparations de microsphères orales [195].

De nouveaux biomarqueurs ont été examinés comme voie de traitement de la MC et cibles thérapeutiques pour la muqueuse buccale dans des recherches récentes. Ces résultats suggèrent que chez tous les patients atteints de la MC, l'expression de la connexine épithéliale est fortement diminuée. La population FoxP3+ s'est avérée nettement plus élevée chez les patients atteints de la MC, ce qui suggère que les Tregs sont recrutés à partir de la muqueuse lésée, même après l'éviction du gluten [196]. Une culture ex-vivo d'organes de l'intestin grêle de souris sensibles au gluten a été développée et exposée à la gliadine pendant 16 heures, afin de reproduire les effets de l'exposition au gluten in vivo (4 semaines) : les résultats ont révélé que la perméabilité intestinale est liée aux déséquilibres d'expression des protéines de la jonction serrée et à l'induction et la production de cytokines pro-inflammatoires telles que l'interleukine (IL)-15, , IFN- γ et IL-17 dans les organes présentant des anomalies de la jonction serrée intestinale [179]. Clara Mancuso et ses collègues pensent que les nanoparticules métalliques (mNP) utilisées dans l'industrie alimentaire peuvent perturber l'homéostasie intestinale et l'intégrité de la barrière gastro-intestinale, ce qui en fait un nouveau facteur de risque pour le développement de la maladie cœliaque [198].

Les cellules T spécifiques du gluten présentent des caractéristiques transcriptionnelles qui sont principalement similaires à celles des cellules Th1, mais elles expriment également des cytokines qui ne sont observées que dans d'autres types de cellules T helper [199]. Selon une étude actuelle, les lymphocytes T CD4+ et CD8+, ainsi que l'IFN- γ , sont impliqués dans la destruction du tissu intestinal dans un modèle de souris CD qui développe une atrophie villositaire en réponse au gluten. D'après les résultats de ce modèle [200], les lymphocytes B sont nécessaires au développement de l'atrophie villositaire et à l'élimination complète des lymphocytes intra-épithéliaux cytotoxiques (IELs).

Dans un modèle de souris, les cellules T CD4+ activées par l'ovalbumine alimentaire ont produit de l'IL-2, qui, avec l'IL-15, stimule la production de cellules T CD8+ cytotoxiques intestinales inconnues avec des niveaux élevés de granzyme B. En présence d'IL-15, ces cellules n'ont pas répondu aux cellules T régulatrices et se sont rassemblées dans l'estomac près des lésions épithéliales. Ces résultats indiquent que les cellules T CD4+ spécifiques du gluten génèrent des

cytokines qui collaborent avec l'IL-15 pour favoriser le développement et l'activation des IEL cytotoxiques, ce qui entraîne des lésions tissulaires CD [201].

La fonction précise de l'IL-15 dans la cascade de cytokines est inconnue. L'inflammation chronique liée à l'auto-immunité peut réguler à la hausse l'expression de l'IL-15, permettant aux processus inflammatoires de se poursuivre. Des polymorphismes de l'IL-15 et/ou de l'IL15RA ont été trouvés dans des enquêtes de cartographie de susceptibilité au psoriasis, à la polyarthrite rhumatoïde et à la maladie cœliaque [202].

Par conséquent, de nombreux sous-groupes de cellules immunitaires innées et adaptatives ont été mis en évidence comme cibles potentielles de l'IL-15 [203,204]. Les niveaux de surexpression de l'IL-15 étaient tous différents chez les patients atteints d'une éventuelle MC, d'une MC active et d'un régime sans gluten (RSG). Chez la majorité des patients atteints de MC active, les taux d'IL-15 dans la lamina propria et l'épithélium sont élevés. En revanche, de nombreux patients atteints de la MC suivant un régime sans gluten présentent des quantités considérables d'expression d'IL-15 dans l'épithélium, ce qui suggère que l'expression incontrôlée d'IL-15 dans l'épithélium est insuffisante pour provoquer une atrophie villositaire [205].

6.4 Autres facteurs impliqués dans la pathogenèse de la maladie cœliaque

De nouvelles sous-populations de T CD4, les cellules T régulatrices (Treg) CD4⁺ CD25⁺ et les cellules TH17 ont démontré leur rôle dans l'inflammation lors de recherches récentes. Dans la MC active, les cellules Treg et Th17 sont élevées [206]. Dans les biopsies de l'intestin grêle d'enfants atteints de la MC non traitée, le profil d'expression génétique Th1, qui comprend l'interféron IFN- γ , transducteur de signal et activateur de la transcription (STAT) 1 et le facteur de régulation de l'interféron 1, ainsi qu'une diminution de l'expression de l'interleukine (IL)-2, était évident [207]. Les cellules T activées dans la muqueuse des patients cœliaques produisent de l'interféron et présentent le facteur de transcription Th1 T-bet [208].

Plusieurs cytokines, dont l'interleukine (IL)-12, IL-18, IL-23 et IFN- α , sont impliquées dans la polarisation Th1 [209]. Bien que l'on ne connaisse pas la source biologique de l'IL-18 et de l'IFN- α , on a constaté qu'ils se développent tous deux dans la muqueuse cœliaque non traitée, bien que l'IL-12p40 ne semble pas en faire partie [210, 211]. Les cellules Th17 spécifiques de la gliadine sont présentes dans la muqueuse des patients atteints de la MC, selon Fernández, Silvia et al. Ces cellules ont un double rôle dans la pathogenèse de la maladie car elles

produisent des cytokines pro-inflammatoires (IL-17, IFN γ , et IL-21), de l'IL-22 muqueux protecteur, et le modulateur TGF- β , et elles peuvent réguler activement la production d'IL-17A par les cellules T du mucus péritonéal [197].

Dans la pathologie de la MC, l'IL-33 et ses fragments peuvent aggraver le circuit pro-inflammatoire et augmenter l'activité cytotoxique des cellules T CD8⁺ [91]. L'IL-21 est importante dans la régulation de la réponse cellulaire Th17, selon les études, et est surproduite chez les patients atteints de la MC. Dans des cultures viables de cellules MC, le blocage de l'activité de l'IL-21 par un anticorps neutralisant l'IL-21 diminue l'expression de l'IL-17A. Ces résultats suggèrent que les niveaux d'IL-17A sont plus élevés dans la MC et qu'elle est générée par des cellules qui produisent également de l'IFN- γ [212]. L'expression de l'IL-17A dans la muqueuse était considérablement plus élevée chez les patients atteints de la MC, mais pas chez les patients présentant une sensibilité au gluten non cœliaque [213]. Les cellules T restreintes par HLA-DQ2 et HLA-DQ8, qui sont spécifiques des peptides de " gluten " isolés de la paroi interne de l'intestin grêle des patients atteints de la MC et qui sont considérées comme impliquées dans le déclenchement en aval des lésions muqueuses, produisent de l'IFN- γ [190].

Wapenaar et al [92] ont découvert un lien entre la quantité moyenne d'expression de l'INF- γ et le degré de remodelage du tissu muqueux intestinal. Chez les patients présentant une atrophie villositaire MIII (classification de Marsh), l'expression de l'INF- γ était plus importante que chez les témoins [214]. Les niveaux d'expression des gènes de la protéine A de résistance du myxovirus humain MxA, de l'IL-15, du TNF- α , de l'IL-10 et du TGF- β étaient significativement plus élevés dans l'épithélium de surface des MC non traités et témoins. La lamina propria et le compartiment épithélial de surface de la muqueuse active de la MC présentent des niveaux plus élevés d'IFN- γ [212]. La perméabilité intestinale a augmenté plus fortement chez les patients sensibles au gluten et les patients atteints de maladie cœliaque active après exposition à la gliadine que chez les patients atteints de maladie cœliaque en rémission [215]. La gliadine provoque une augmentation de la sécrétion de zonuline dans les premiers stades de la maladie cœliaque [216].

La gliadine interagit avec la muqueuse de l'intestin grêle après la consommation de gluten en déclenchant la production d'IL-8 par les entérocytes, ce qui provoque le rappel des neutrophiles dans la lamina propria. En même temps, la gliadine provoque la libération de zonuline, ce qui permet à la gliadine de pénétrer dans la sous-muqueuse par différenciation myéloïde réponse primaire 88 (MYd-88) [217]. Ses interactions avec les macrophages entraînent la libération de

cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF et IFN- γ , le TNF et l'IFN- γ favorisent et augmentent le processus déclenché par la zonuline d'une perméabilité intestinale accrue, permettant le passage d'un plus grand nombre d'antigènes [218]. Ce processus entraîne une destruction à médiation immunitaire de la muqueuse intestinale chez les personnes génétiquement sensibles. Lorsque le gluten est supprimé du régime alimentaire, les taux de zonuline chutent, l'intestin retrouve sa fonction de barrière et les titres d'anticorps se normalisent. Le processus auto-immun prend fin et les lésions intestinales sont entièrement guéries [219].

La zonuline est une protéine paracrine qui régule l'ouverture des jonctions serrées dans l'intestin et qui est sécrétée par diverses lignées cellulaires [220], y compris les petites cellules épithéliales de la paroi intestinale. L'exposition à la gliadine ou un déséquilibre du microbiome (dysbiose écologique ou colonisation intestinale proximale) peut stimuler la libération de zonuline luminale [221]. La gliadine interagit avec le récepteur de chimiokine CXCR3 sur les cellules épithéliales intestinales et les monocytes, provoquant une libération de zonuline dépendante de MyD88 et une augmentation de la perméabilité intestinale (Figure : 6) [222].

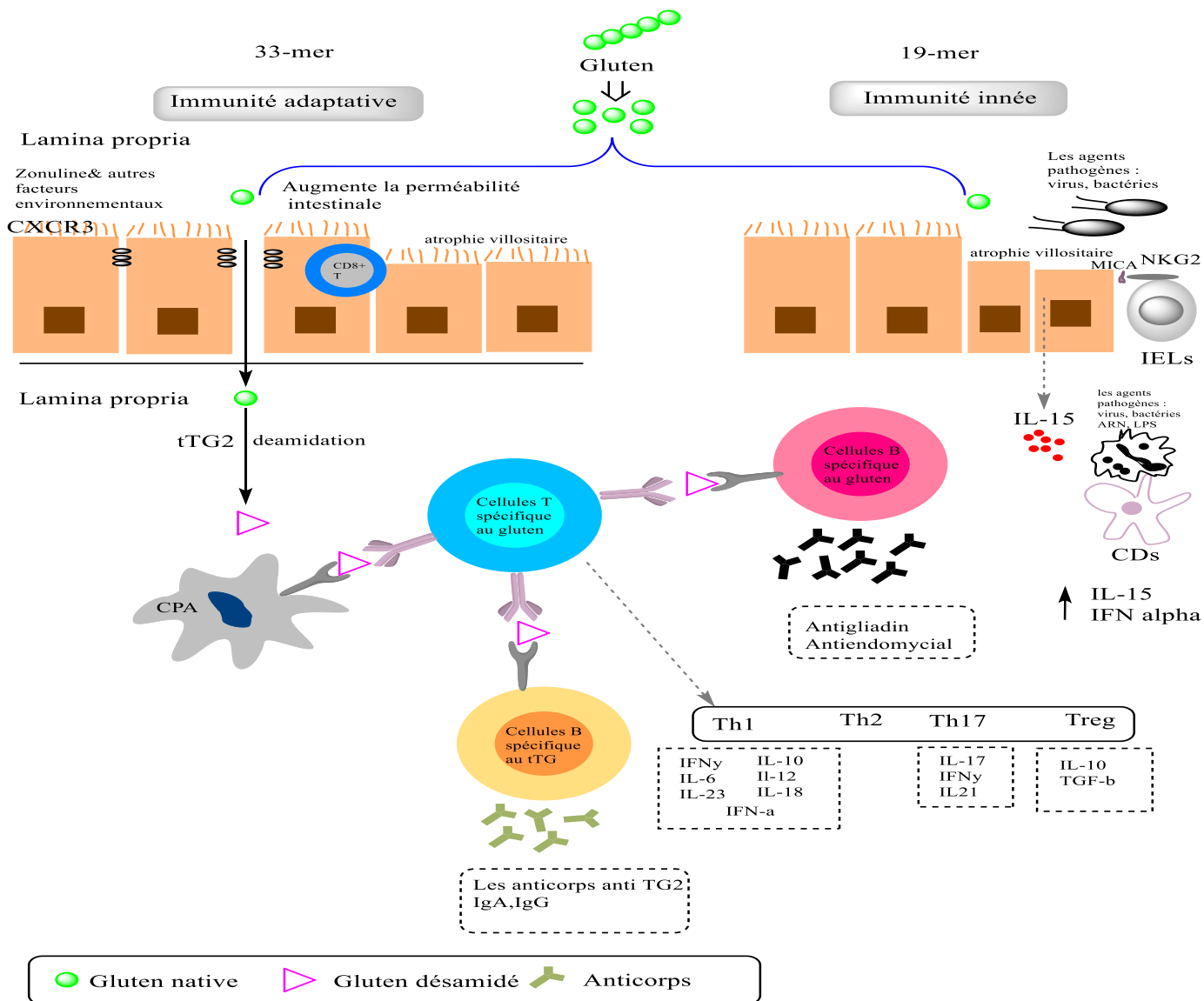


Figure 6 : Pathogénie de la maladie cœliaque⁶. Les peptides du gluten pénètrent dans la lamina propria via une perméabilité accrue de la jonction serrée, ce qui entraîne l'activation des cellules T CD4+ spécifiques du gluten et des cellules B spécifiques du TG2. La désamination des peptides du gluten est assurée par TG2, et ces peptides sont présentés sur les cellules présentatrices d'antigènes par HLA-DQ2/DQ8, à la suite de quoi les cellules TCD4 sont activées, sécrétant principalement des cytokines Th1 telles que le TNF (IFN alpha, IFN γ , IL-6, IL-23, IL-10, IL-12, IL-18).

⁶ Aboulghras, S., Piancatelli, D., Oumhani, K., Balahbib, A., Bouyahya, A., & Taghzouti, K. (2022). Pathophysiology and immunogenetics of celiac disease. Clinica Chimica Acta.

7 Maladie cœliaque et Microbiote

Le système gastro-intestinal humain est un habitat complexe et dynamique qui abrite un large éventail de bactéries commensales [223]. Ce micro-écosystème bien équilibré agit comme une barrière naturelle contre l'invasion des maladies. L'implication du microbiome dans la physiopathologie de la MC a récemment fait l'objet d'une grande attention.

7.1 Microbiome oral chez les patients atteints de la maladie cœliaque

Le microbiote oral est la deuxième plus grande communauté microbienne humaine après le côlon et est plus complexe et plus abondant dans le corps humain [224]. Les peptides immunogènes générés après la première phase du processus de digestion du gluten sont influencés par le microbiote oral. Tian et al ont récemment signalé une augmentation des actinomycètes dans le microbiote oral des patients réfractaires, ainsi qu'une réduction des immunoglobulines actinomycètes et une diminution des *Bacteroides* et *Fusobacteria* [225].

Les repas contenant du gluten ne sont pas entièrement digérés par le microbiote oral endogène. Une digestion partielle, en revanche, pourrait être essentielle pour la présentation en aval du gluten dans le système gastro-intestinal. Le gluten est partiellement digéré par *Pseudomonas aeruginosa* dans le modèle de souris MC, cette bactérie est isolée des cavités orales des patients et est capable de produire des peptides plus petits, qui peuvent alors plus facilement pénétrer la barrière intestinale de la souris et augmenter l'activité de la maladie [226].

Fernandez Feo et al. Des bactéries dotées d'enzymes protéolytiques capables de lyser la gliadine intacte et de générer des peptides immunodominants ont été étudiées dans le microbiome oral humain pour voir si elles pouvaient jouer une fonction physiologique dans la digestion du gluten. Ils ont découvert des bactéries dégradant le gluten dans la plaque dentaire et la salive. Ces bactéries peuvent interférer avec la digestion de la gliadine immunogène qui joue un rôle dans la pathogenèse de la MC [227,228].

Dewhirst, F. E et al, 2010 suggèrent que les enfants atteints de maladie cœliaque traitée (T-MC) présentaient les plus grandes quantités de *Lachnospiraceae*, *Gemellaceae* et *Streptococcus sanguinis*. Les enfants T-MC présentaient des niveaux considérablement plus faibles de *Streptococcus thermophilus*. Les *Bacteroidetes* (par exemple *Porphyromonas sp.*, *Porphyromonas endodontalis* et *Prevotella nanceiensis*) étaient les plus abondants dans la salive des enfants T-MC, tandis que les *actinobactéries* étaient les moins abondantes [228]. Une

évaluation de l'influence de la MC sur la santé bucco-dentaire réalisée aux Pays-Bas a révélé que les problèmes de santé bucco-dentaire sont plus fréquents chez les adultes atteints de MC que dans le groupe témoin [227]. Les espèces de *Rothias* sont des habitants courants de la cavité buccale et du pharynx oral [228] et ont également été trouvées dans des biopsies duodénales [227].

7.2 Microbiote intestinal chez les patients atteints de la maladie cœliaque

Le profil du microbiote intestinal lié aux problèmes de santé et/ou aux maladies inflammatoires de l'intestin (y compris la MC) dépend de l'habitat ou de l'échantillon étudié, ainsi que de toute autre variable ayant un impact sur la variabilité du microbiote intestinal [229]. Le microbiome intestinal équilibré est responsable du développement physiologique du système immunitaire intestinal et favorise la maturation et la tolérance immunitaires en activant des réponses immunitaires qui entraînent l'expression d'immunoglobulines et de cytokines comme l'interleukine-8, -10, -17, -21, -22 et l'interféron [230,231]. Hansen et al, 2018 montrent qu'un régime pauvre en gluten chez des adultes apparemment en bonne santé modifiait la composition du microbiome intestinal [232].

Au cours des dernières décennies, il a été suggéré que les bactéries intestinales observées chez les patients atteints de la MC pouvaient jouer un rôle dans l'activation de la réponse des cellules T CD4+ et dans la perte de la tolérance au gluten. Dans l'ensemble, les résultats indiquent qu'une microflore intestinale altérée est liée aux manifestations cliniques de la MC et qu'un régime sans gluten ne permet pas de rétablir entièrement le microbiote intestinal "normal" chez les patients atteints de la MC [233].

Comparé au microbiote de parents au premier degré, le microbiote duodéal de CD présentait une plus grande abondance de variation de séquence d'amplicon (ASV) des genres *Megasphaera* et *Helicobacter* (FDR) [234]. Les *Firmicutes*, *Bacteroides*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria*, *Proteobacteria* et *Verrucomicrobia* sont quelques-uns des phyla qui dominent l'intestin humain sain. Les deux premiers phyla représentent environ 90 % du microbiote intestinal [235]. Les *Firmicutes* les plus courants sont *Clostridium*, *Lactobacillus* et *Enterococcus*, *Bacteroides* et *Prevotella* sont les *Bacteroides* les plus courants, et *Bifidobacterium* est l'*Actinobacteria* le plus courant [236].

Les différentes régions du système gastro-intestinal ont des compositions microbiennes différentes. Les types de bactéries aérobies diminuent régulièrement en fonction du pH, des

sécrétions de l'hôte, de la disponibilité des substrats et d'autres facteurs, mais les types d'anaérobies stricts augmentent [236]. Certaines anomalies du microbiome ont été régulièrement identifiées chez des patients atteints de la MC, qu'ils soient actifs ou non, ce qui indique qu'elles jouent un rôle dans la progression de la maladie. Certaines anomalies du microbiome ont été régulièrement identifiées chez des patients atteints de la MC, qu'ils soient actifs ou non, ce qui indique qu'elles jouent un rôle dans la progression de la maladie [237].

Chez les patients atteints de la MC, la dysbiose intestinale est définie par une augmentation de la quantité ou du pourcentage de *Bacteroides*. Après l'adhésion du patient au RSG, la diminution de *Bifidobacterium spp.* et de *Bifidobacterium longum* n'est pas entièrement rétablie [238]. En comparant des bébés à haut risque et à faible risque, une étude a montré que les premiers avaient des proportions plus faibles d'*Actinomyces* et de *Bifidobacterium duodenum*, tandis que les seconds avaient des proportions plus faibles de *Firmicutes* et de *Proteobacteria* [239].

7.3 Microbiote fécal chez les patients atteints de la maladie cœliaque

La composition du microbiote fécal des enfants qui ont ensuite contracté la maladie a été comparée à celle des matières fécales d'autres enfants. Les résultats de cette étude ont révélé que la composition du microbiote fécal à 9 et 12 mois n'est pas liée au développement de la MC. Ces résultats n'excluent toutefois pas l'existence d'un microbiote duodéal [240].

Les patients atteints de la MC non traités ont un microbiote fécal distinct de celui des personnes en bonne santé. Un pourcentage de patients atteints de la MC dont le microbiote a été restauré présente à nouveau un microbiome "normal". La diversité des *Lactobacillus* et des *Bifidobacterium* était considérablement réduite chez les patients atteints de la MC. La teneur fécale en acides gras à chaîne courte (AGCC) des personnes en bonne santé diffère de celle des patients atteints de la MC [241]. La majorité des patients atteints de la MC (6 sur 11) ont un microbiote fécal comparable à celui des adultes sains, ce qui suggère que le microbiote des personnes saines a été partiellement restauré. Plusieurs études ont montré qu'un RSG à long terme ne rétablissait que partiellement le microbiote fécal chez les enfants atteints de la MC non traitée [242]. La composition du microbiote fécal a été étudiée récemment, et les résultats ont révélé des variations substantielles dans la composition du microbiote intestinal entre les patients atteints de la MC avec et sans maladie poly-auto-immune. Par rapport aux témoins, les patients atteints de la MC avec une maladie poly-auto-immune avaient des niveaux plus élevés de *Bacteroides*, *Ruminococcus* et *Veillonella* [243].

Le microbiome et le métabolome de 19 patients atteints de la maladie cœliaque et suivant un régime sans gluten (maladie cœliaque traitée, T-MC) et de 15 enfants sains (HC) ont été examinés. Les résultats ont révélé que la variété d'*Eubactéries* était plus élevée dans les biopsies duodénales des enfants T-MC que dans celles des enfants HC. Seuls les échantillons fécaux contenaient des *Bifidobactéries* [244].

Les patients atteints de la MC non traités ont des taux de *Bifidobacterium bifidum* considérablement plus élevés que les personnes en bonne santé. Les patients atteints de la MC non traités ont un microbiote fécal distinct de celui des personnes en bonne santé. Un pourcentage des patients atteints de la MC qui ont été traités ont vu leur microbiome "normal" restauré. La variété de *Lactobacillus* et de *Bifidobacterium* chez les patients atteints de la MC qui ont été traités a été considérablement réduite. Le niveau des AGCS fécaux chez les personnes en bonne santé diffère de celui des patients atteints de la MC [245]. Les résultats ont montré que le microbiote fécal des enfants cœliaques suivant un régime sans gluten présentait un nombre significativement plus faible de lactobacilles par rapport aux enfants sains, tandis que les *entérobactéries* avaient tendance à augmenter chez les enfants cœliaques [245].

Comparé à celui des patients sains, le microbiote fécal des personnes atteintes de maladie cœliaque active présente une plus grande diversité microbienne, avec une expansion des *Bacteroides*, *Prevotella* et autres bactéries. Les taxons de *Clostridium* et *Staphylococcus*, ainsi que les bactéries ayant des propriétés anti-inflammatoires et protectrices des muqueuses, comme *Bifidobacterium* et *Lactobacillus*, étaient significativement réduits [245]. Des composants spécifiques du microbiote fécal, en particulier les *Bifidobacterium spp.* (Par exemple, *Bifidobacterium longum*), pourraient néanmoins mériter d'être étudiés plus avant afin de mieux apprécier leur utilité potentielle en tant que traitement probiotique et biomarqueur de diagnostic/pronostic [246].

8 Présentation cliniques de la maladie cœliaque

Lorsque les tests sérologiques sont devenus disponibles dans les années 1990, les manifestations cliniques qui ont conduit au diagnostic de la maladie cœliaque se sont élargies. Avant cette époque, la majorité des patients souffraient de diarrhée. La proportion de patients atteints de maladie cœliaque qui présentaient une diarrhée est passée de 73 % avant 1993 (années où les tests sérologiques sont devenus disponibles) à 43 % par la suite [246].

La maladie cœliaque est de loin la cause la plus fréquente d'entéropathie. Il convient de noter, cependant, que l'atrophie villositaire et la lymphocytose intraépithéliale ne sont pas exclusives à la maladie cœliaque [247]. En effet le diagnostic de la maladie cœliaque nécessite à la fois une biopsie duodénale qui montre les résultats caractéristiques de la lymphocytose intraépithéliale, de l'hyperplasie des cryptes et de l'atrophie villositaire et une réponse positive à un régime sans gluten. Les critères diagnostiques développés par l'European Society for Pediatric Gastroenterology and Nutrition ne nécessitent qu'une amélioration clinique avec le régime [248]. Bien que l'amélioration histologique avec un régime sans gluten soit largement recherchée et conseillée chez l'adulte, l'atrophie villositaire peut persister malgré une réponse clinique au régime [249]. De plus quatre présentations possibles de la maladie cœliaque sont reconnues : (i) typique, caractérisée principalement par des signes et symptômes gastro-intestinaux ; (ii) atypique ou extra-intestinal, où les signes/symptômes gastro-intestinaux sont minimes ou absents et un certain nombre d'autres manifestations sont présentes ; (iii) silencieux, où la muqueuse de l'intestin grêle est endommagée et l'auto-immunité de la maladie cœliaque peut être détectée par sérologie, mais il n'y a aucun symptôme ; et, enfin, (iv) latente, où les individus possèdent une compatibilité génétique avec la maladie cœliaque et peuvent également présenter une sérologie auto-immune positive, qui ont une morphologie muqueuse normale et peuvent ou non être symptomatiques (tableau 1) [250].

Bien que la diarrhée soit toujours le symptôme le plus fréquent à la présentation, la plupart des patients ont reçu leur diagnostic sur la base d'autres signes ou symptômes, tels que l'ostéoporose, l'anémie, les ballonnements ou des habitudes intestinales irrégulières. Certains présentaient des symptômes moins courants, notamment l'infertilité, [251] des migraines, [252] des symptômes neuropsychiatriques [253] et des enzymes hépatiques anormales [254].

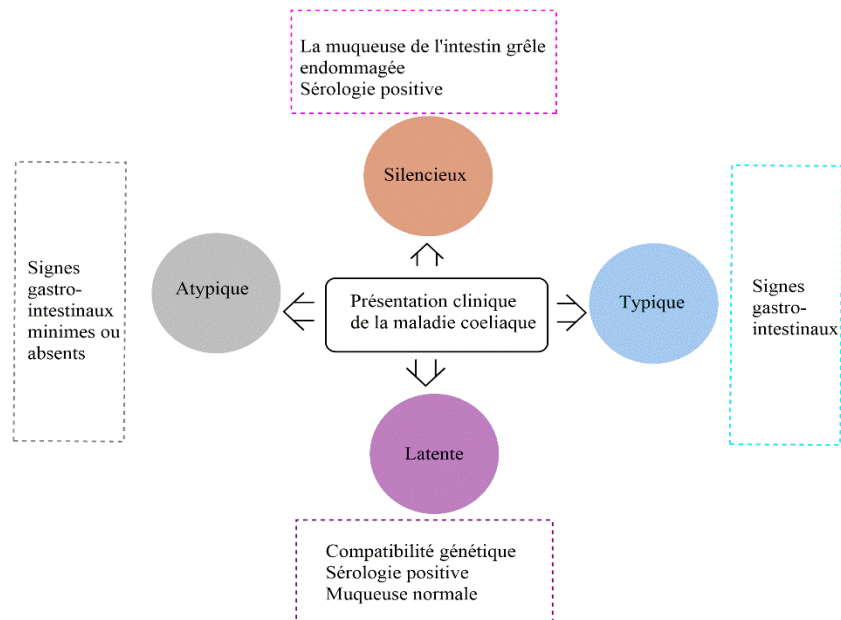


Figure 7 : Présentation clinique de la maladie cœliaque⁷; typique, caractérisée principalement par des signes et symptômes gastro-intestinaux, atypique où les symptômes gastro-intestinaux sont minimes ou absents, silencieux, où la muqueuse de l'intestin grêle est endommagée et l'auto-immunité de la maladie cœliaque peut être détectée par sérologie, mais il n'y a aucun symptôme ; et, latente, où les individus possèdent une compatibilité génétique avec la maladie cœliaque et peuvent également présenter une sérologie auto-immune positive, qui ont une morphologie muqueuse normale et peuvent ou non être symptomatiques.

Auparavant, les nourrissons et les jeunes enfants étaient principalement caractérisés par des manifestations gastro-intestinales et une malabsorption, telles que diarrhée, stéatorrhée, distension abdominale, fesses émaciées, hypotonie, retard de croissance, perte de poids, anémie, anorexie, irritabilité, malnutrition et carences nutritionnelles associées aux vitamines, certains présentaient des vomissements ou une constipation récurrente, ainsi qu'un prolapsus rectal et une intussusception [255]. En revanche, les signes gastro-intestinaux étaient moins fréquents lors du diagnostic dans les recherches ultérieures 36 % à 42 % ont signalé une diarrhée, tandis que 26 % ont été détectés par un dépistage ciblé et 16 % ont ressenti une gêne gastrique

⁷ Setty, M., Hormaza, L., & Guandalini, S. (2008). Celiac disease. *Molecular diagnosis & therapy*, 12(5), 289-298.

récurrente non spécifique [256-257]. De plus, il est clair que la majorité des enfants MC ne sont pas diagnostiqués.

Une autre tendance est la présentation plus tard dans la vie symptômes atypiques tels que l'anémie, les troubles osseux ou des maladies auto-immunes [258].

8.1 Manifestations clinique de la Maladie Cœliaque Chez les enfants :

Les symptômes gastro-intestinaux chez les enfants étaient plus souvent chez les patients cœliaques que chez les patients sans MC. Chez les patients cœliaques, les douleurs abdominales et la diarrhée étaient des plaintes fréquentes, alors que la distension abdominale, la flatulence et la constipation étaient moins fréquentes [259]. La maladie gastro-intestinale classique était plus fréquente dans les 2 groupes d'âge plus jeunes (0–2 ans et >2–6 ans) alors que la MC asymptomatique a été signalée presque exclusivement chez les enfants dont l'âge dépasse 6 ans ; dans ce groupe d'âge, la MC non classique était la forme de présentation la plus fréquente. Il y avait des antécédents familiaux de MC (premier degré, deuxième degré ou les deux) dans 19,4 % des cas [260].

8.2 Manifestations clinique de la Maladie Cœliaque Chez les adultes :

La maladie cœliaque ressemble à un phénomène d'iceberg. Peu de patients présentent des signes et symptômes classiques principalement dus à la MC ou secondaires à des carences en vitamines et à une malabsorption des nutriments [261]. Tursi, A et al confirment le caractère extrêmement polymorphe de cette affection pouvant toucher plusieurs organes et appareils sans symptômes gastro-intestinaux. Cependant, une description plus précise de la maladie cœliaque infraclinique/silencieuse ne peut émerger que d'études de dépistage sur des populations générales [262].

Les principales plaintes du patient par ordre de fréquence décroissante étaient la dyspepsie, la diarrhée, l'anémie et les flatulences. Une maladie osseuse a été observée (ostéopénie, ostéoporose) chez des patients [263]. Le diagnostic a été posé à un âge plus avancé depuis 1980, et il y a eu une tendance linéaire négative significative des patients présentant une diarrhée au fil du temps et une tendance linéaire positive chez les patients asymptomatiques détectés par dépistage. En effet une tendance à la diminution du nombre de patients présentant une maladie cœliaque symptomatique caractérisée par la diarrhée et un changement significatif vers plus de patients présentant des adultes asymptomatiques détectés lors du dépistage [264].

Les manifestations cliniques sont multiples en forme et en nombre en raison de la nature multisystémique de la MC. Il y a eu un changement progressif des manifestations cliniques au cours des dernières décennies avec moins de patients, adultes et enfants, présentant une forme diarrhéique classique. Chez les adultes, la diarrhée est la présentation la plus courante suivie de l'anémie. Le dépistage des groupes à risque, les maladies osseuses métaboliques et la reconnaissance fortuite à l'endoscopie réalisée pour le reflux sont les autres principaux modes de présentation [265].

Un plus grand pourcentage de personnes présente certains symptômes qui ne sont pas liés à la malabsorption gastro-intestinale, tels que l'ostéopénie, l'anémie et les problèmes neurologiques. C'est ce qu'on appelle un MC atypique. La majorité des patients sont asymptomatiques et sont détectés par des examens sérologiques et histologiques ; ce type de maladie est connu sous le nom de MC silencieux [261]. En plus l'ostéoporose, l'infertilité et la dermatite herpétiforme sont des manifestations typiques de l'âge adulte. L'anémie, les anomalies hépatiques et les problèmes articulaires sont observés tant chez les enfants que chez les adultes. Bien que l'on sache que la maladie cœliaque est plus fréquente chez les femmes, la répartition par sexe des symptômes extra-intestinaux est actuellement peu claire [266].

Récemment les symptômes classiques (diarrhée, fatigue, douleurs abdominales et/ou perte de poids) étaient plus fréquents chez les femmes que chez les hommes, mais le sexe n'était pas significativement associé à l'âge au moment du diagnostic. Dans une analyse multivariée, une présentation non classique (sans aucun symptôme classique) et des antécédents familiaux négatifs de MC étaient des prédicteurs significatifs de l'âge au moment du diagnostic (coefficients de 8 et 12 ans, respectivement) (Tableau : 1) [267].

Tableau 1 : Signes cliniques de la maladie Cœliaque chez les enfants et les adultes⁸.

Signes cliniques chez les enfants	Signes cliniques chez les adultes
-Douleurs abdominales	-Dyspepsie
-Diarrhée	-Diarrhée
-Distension abdominale	-Anémie et flatulences
-Flatulence	-Ostéopénie
-Constipation	-Ostéoporose
-Anémie	-L'infertilité
-Défaut de l'email dentaire	-Dermatite herpétiforme
-Ulcères buccaux	

9 Diagnostic de la maladie Cœliaque

Le diagnostic de la maladie cœliaque repose sur trois critères :

- Les données cliniques : les symptômes vus précédemment,
- Les données sérologiques,
- Les données histologiques (biopsie).

9.1 Diagnostic sérologique

9.1.1 Anticorps Anti-Gliadine

En cas de suspicion clinique de la maladie cœliaque, la recherche de marqueurs sérologiques constitue la première étape du diagnostic. La recherche des anticorps anti-gliadine, de type IgA et IgG, est de nos jours la plus utilisée. Mais sa sensibilité et sa spécificité sont faibles. En conséquence, l'utilisation d'anticorps anti-gliadine IgG ou IgA anti-gliadine n'est plus recommandée pour le diagnostic de la maladie [268-269].

⁸ Tan, IL, Withoff, S., Kolkman, JJ, Wijmenga, C., Weersma, RK et Visschedijk, MC (2021). Présentation clinique non classique au moment du diagnostic chez les patients masculins atteints de maladie cœliaque d'âge avancé. Journal européen de médecine interne, 83, 28-33.

9.1.2 Anticorps Anti-Endomysium (EMA)

La détection fluorescente des auto-anticorps dirigés contre les antigènes endomysiaux a été mise au point en 1984 [270]. L'endomysium est un tissu conjonctif qui enveloppe les fibres musculaires [271]. Le test EMA détecte les anticorps de classe IgA qui se fixe sur ce tissu conjonctif dans l'œsophage du singe [272]. La recherche par immunofluorescence indirecte des IgA anti-endomysium (EMA) a une excellente sensibilité et spécificité. Néanmoins, cette technique d'immunofluorescence est très coûteuse. Le test EMA est une méthode semi-quantitative, avec une dilution en série du sérum du patient pour obtenir un titre.

9.1.3 Anticorps Anti-Transglutaminase tissulaire

La détection d'auto-anticorps dirigés contre la tTG est la base de la sérologie de la maladie cœliaque. Les niveaux d'IgA du patient et les taux des patients sont comparés à une valeur seuil déterminée par l'analyse d'une population saine, en général, les patients nouvellement diagnostiqués et non traités présentent généralement des taux élevés d'anticorps anti-tTG [273]. La nature gluten-dépendante des anticorps anti-transglutaminase tissulaire a justifié leur utilisation comme marqueur de la conformité au régime sans gluten [274].

La Haute Autorité de Santé recommande actuellement en première intention le dosage des IgA anti-transglutaminase tissulaire 2. Dans un deuxième temps la Haute Autorité de Santé recommande un dosage des IgA anti-EMA. Il est essentiel et indispensable d'effectuer un dosage pondéral des immunoglobulines. En effet, des faux négatifs représentent 2% des sujets atteints de la maladie cœliaque lorsque le seuil d'IgA < 0,2g/L. Il est recommandé par la suite de rechercher les IgG anti-transglutaminase tissulaire 2 et IgG anti-EMA [275].

9.2 Diagnostic histologique

L'atteinte histologique se décompose en une atrophie villositaire qui peut être à la fois totale, sub-totale voir même partielle provoquant une augmentation des lymphocytes intraépithéliaux puis d'une hypercellularité du chorion pour terminer par une hyperplasie des cryptes (Figure : 8) [276].

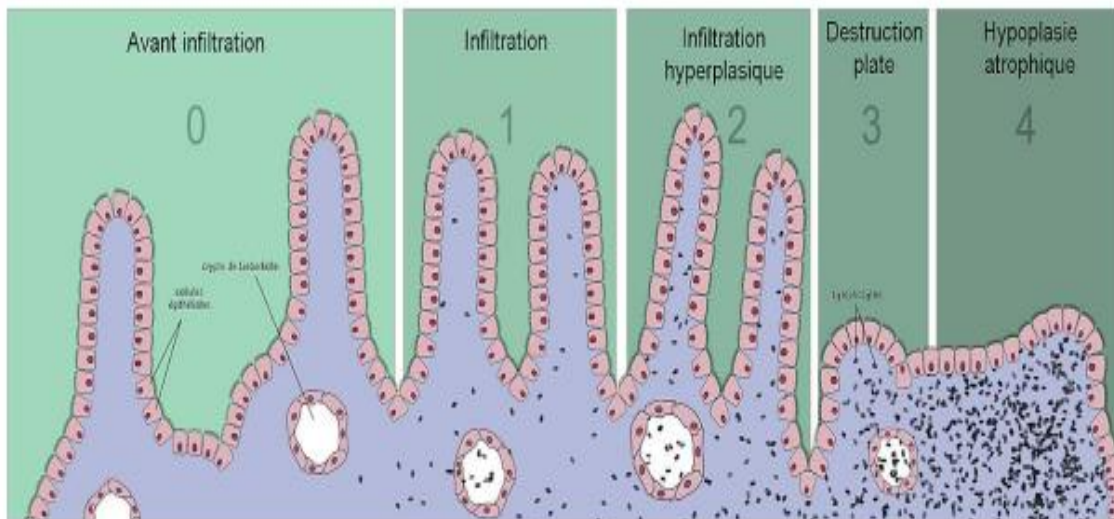
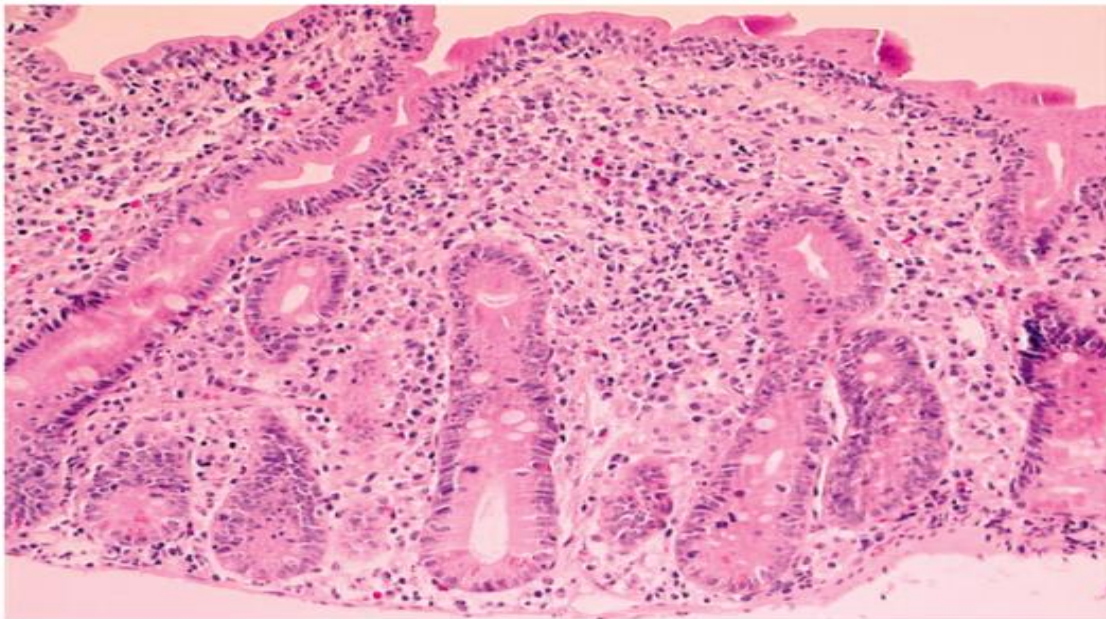


Figure 8 : Biopsie duodénale avec atrophie villositaire totale, hypercellularité du chorion, hyperplasie des cryptes et augmentation des lymphocytes intraépithéliaux⁹.

Les biopsies duodénales per-endoscopiques avant RSG sont nécessaires au diagnostic [277]. Il est recommandé d'effectuer des prélèvements nombreux, six en moyenne, au niveau du

⁹ Farthing, M., Salam, M. A., Lindberg, G., Dite, P., Khalif, I., Salazar-Lindo, E., & LeMair, A. (2013). Acute diarrhea in adults and children: a global perspective. *Journal of clinical gastroenterology*, 47(1), 12-20.

deuxième duodénum sous papillaire, ou mieux, répartis sur le deuxième et troisième voire le quatrième duodénum [277]. C'est au niveau de l'angle de Treitz que les biopsies duodénales ont le meilleur rendement [278]. La MC touche d'abord le duodénum puis s'étend progressivement vers l'aval [278].

L'étude histologique au cours de la MC est d'un grand intérêt; elle permet d'une part de poser le diagnostic d'une AV qui est un critère majeur au cours de la maladie et de suivre l'évolution sous traitement d'une autre part. Les critères histologiques permettant d'évoquer le diagnostic de MC sur une biopsie intestinale associent [279] :

Une AV.

Une augmentation du nombre des LIE.

Une hyperplasie des cryptes.

Une augmentation de la densité cellulaire du chorion.

Evaluation de l'atrophie villositaire

La quantification de l'AV est fondée sur la mesure de la hauteur respective des villosités (V) et des cryptes (C). Plusieurs classifications ont été proposées dans la littérature, celles de March [286] et Matuchansky [281] sont voisines et comportent 5 degrés (Tableau 2).

Tableau 2 : Classification des atrophies villositaires selon March ¹⁰et Matuchansky¹¹

Grade	Histologie	Hauteur V μm	Rapport C/V
I	Muqueuse normale	350-500	<0,27
II	Atrophie modérée	300-350	0,27
III	Atrophie partielle	150-300	$1 > C / V > 0,27$
IV	Atrophie subtotale	50-150	>1
V	Atrophie totale	<50	

Autres critères histologiques

Augmentation des LIE

Le deuxième critère histologique majeur dans la MC active est l'augmentation constante du nombre des LIE, variant de 40 à 150 pour 100 cellules épithéliales [279].

Hyperplasie des cryptes

À ces deux critères majeurs (AV et augmentation des LIE), s'associe l'hyperplasie des cryptes avec augmentation du nombre des mitoses. La densité cellulaire du chorion est augmentée, polymorphe, comportant essentiellement des plasmocytes, des lymphocytes, et des polynucléaires éosinophiles; des polynucléaires neutrophiles peuvent être observés [279].

Epaississement de la membrane basale sous épithéliale

La membrane basale sous-épithéliale peut être épaissie réalisant, si elle mesure plus de 10 μm , un aspect de sprue collagène. Cette dernière a été mise en évidence dans 36 % des cas d'une série de MC et sa fréquence serait associée à une longue durée d'évolution de la maladie [279]. Dans de rares cas, notamment chez l'adulte jeune, l'AV peut être partielle voire absente. Une

¹⁰ Silano M et al 2014

¹¹ Matuchansky, C et al 1970.

augmentation notable des LIE, même sans AV, doit faire évoquer et rechercher une MC (Figure : 9,10) [279].

Atrophie villositaire

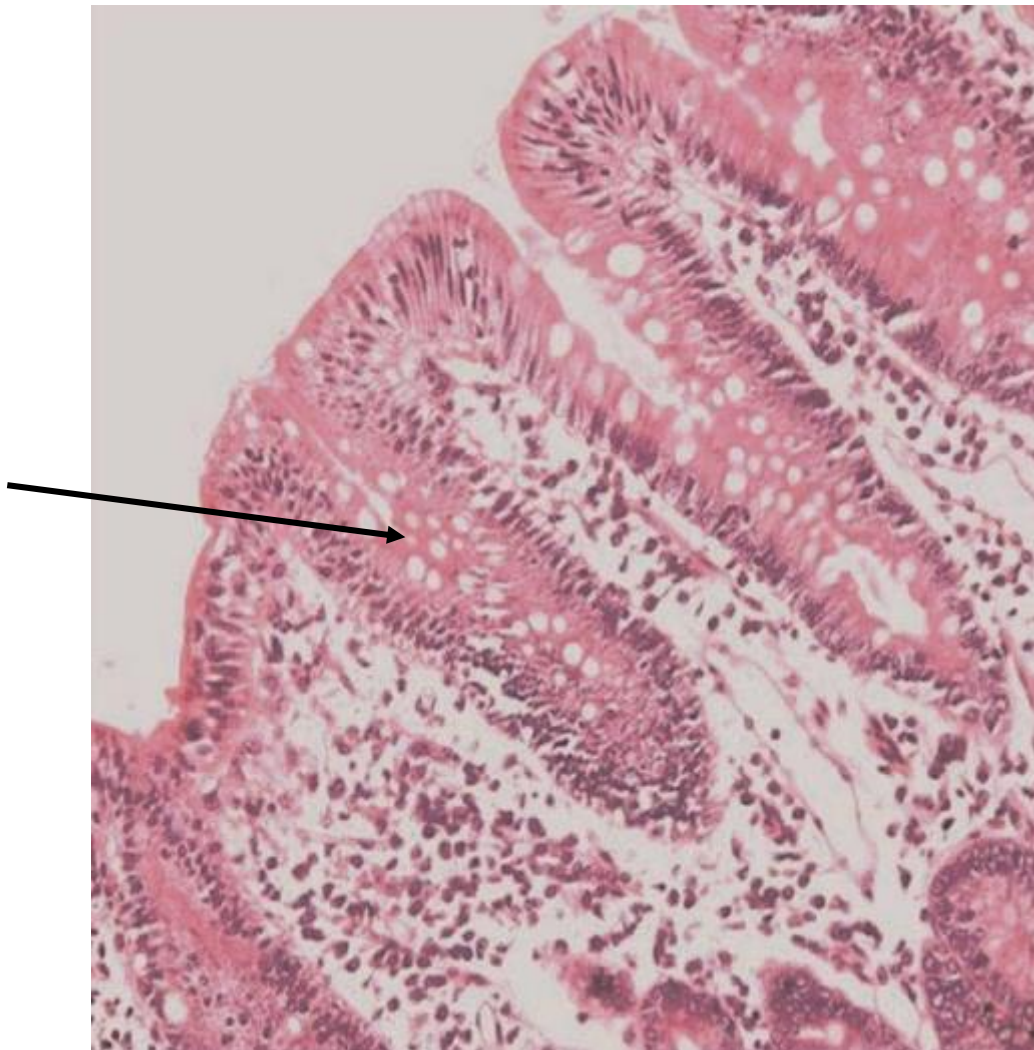


Figure 9 : Atrophie villositaire totale: stade 3 c de Marsh ¹²[282].

¹² Kallel, R., Krichen-Makni, S., Ellouze, S., Châari, C., Charfi, S., & Sellami, A. (2009). Aspects histologiques de la maladie coeliaque dans le sud Tunisien: étude de 114 cas pédiatriques. *Tunisie médicale*, 87(4), 262-266.

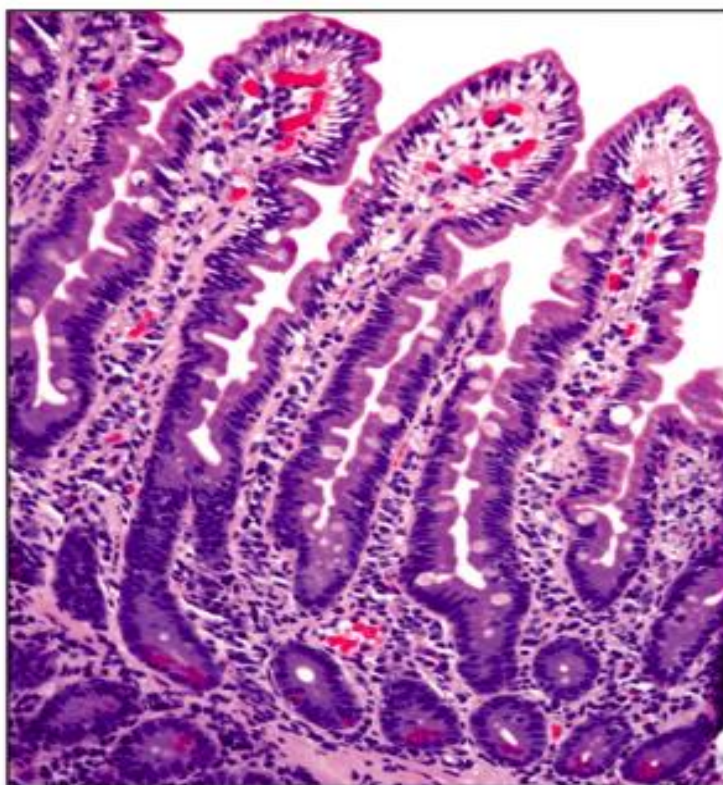


Figure 10 : Histologie intestinale d'un individu sain¹³[283]

Classifications des lésions

Différentes classifications ont été proposées pour évaluer les lésions des muqueuses duodénales des patients atteints de MC [284]. Les 2 classifications les plus pertinentes et les plus utilisées sont celles de Marsh-Oberhuber et celle de Corraza-Vilanaci. V (Tableau : 4) La classification Marsh-Oberhuber (Tableau : 3) décrit 5 états (types 0-4) [285]. Les types 1 et 2 ne sont souvent pas reconnus, et les méthodes de différenciation des lésions de type 3a et 3b sont lourdes avec un haut degré de variabilité d'interprétations, même parmi les pathologistes gastro-intestinaux experts [286].

¹³ Cerar, A., Zidar, N., & Vodopivec, B. (2004). Colorectal carcinoma in endoscopic biopsies; additional histologic criteria for the diagnosis. *Pathology-Research and Practice*, 200(10), 657-662.

Tableau 3 : Classification Marsh-Oberhuber

Classification Marsh Oberhuber	% LIE	Aspect des cryptes	Aspect des villosités
Type 0, preinfiltrative	Normal (<40)	normal	normal
Type 1, Infiltrative	>40	normal	normal
Type 2, Hyperplasique	>40	hypertrophique	Atrophie légère
Type 3a, Destructive	>40	hypertrophique	Atrophie modérée
Type 3b, Destructive	>40	hypertrophique	Atrophie modérée
Type 3c, Destructive	>40	hypertrophique	Atrophie sévère, Muqueuse plate
Type 4, Hypoplastique	>40	atrophique	Atrophie sévère, Muqueuse plate

La classification de Corazza ¹⁴et Villanacci¹⁵ [287,288] divise les lésions muqueuses de la maladie cœliaque en 2 catégories (Figure : 10) : - Grade A : Lésion non atrophique (image A) ; - Grade B : Lésions atrophiques : Niveaux B1: avec villosités encore apparentes (image B) ; Niveaux B2 : absence totale de villosités (image C).

¹⁴ Hahn, M., et al, 2014

¹⁵ Villanacci, V., et al, 2015

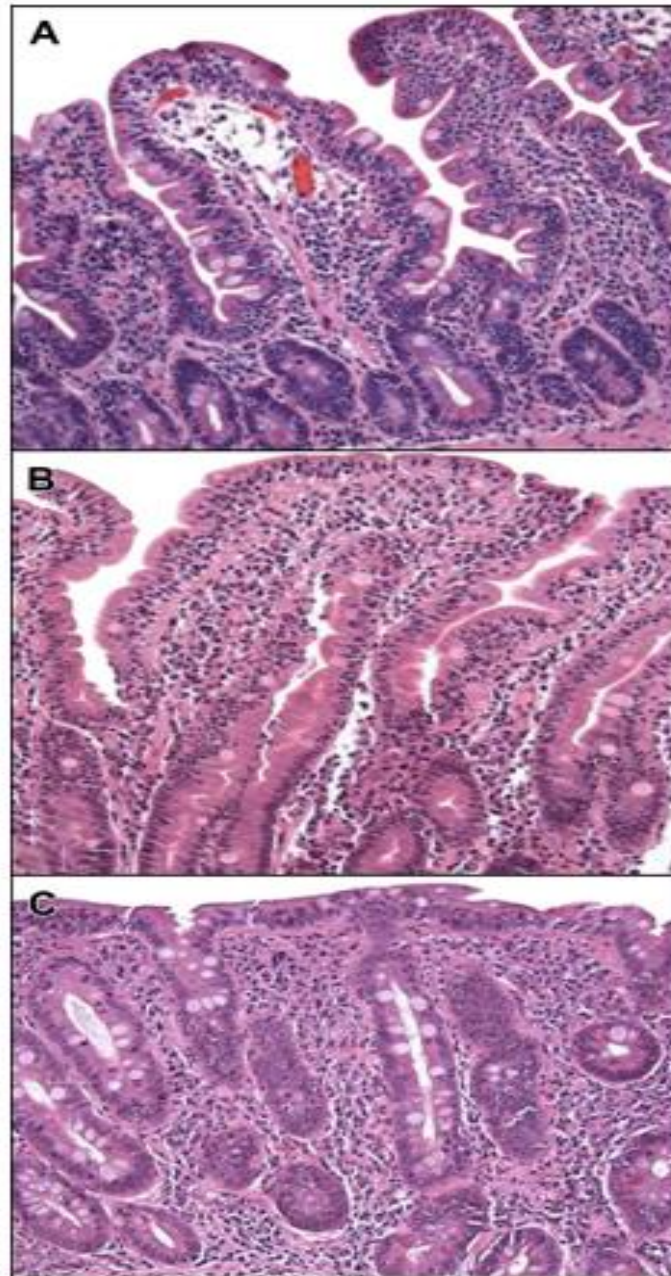


Figure 11 : Différents grades de lésions de la muqueuse duodénale dans la MC¹⁶. (A) Lésion non atrophique (grade A) ou de type infiltrant (type 1), montrant une architecture normale des cryptes et des villosités et un nombre accru d'IEL (hématoxyline-éosine, 100). (B) Lésion de type destructif (type 3b) ou atrophique (grade B1), montrant une atrophie villositaire modérée et une augmentation diffuse des IELs (hématoxyline-éosine, 100). (C) Lésion plate (type 3c ou grade B2), manifestant une atrophie villositaire totale et une augmentation diffuse des IELs (hématoxyline-éosine, 100) [289].

¹⁶ Bao, F., Green, P. H., & Bhagat, G. (2012). An update on celiac disease histopathology and the road ahead. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 136(7), 735-745.

Tableau 4 : Classification de Corazza-Vilanaci¹⁷

Classification de Corazza-Vilanaci	%LIE	Aspect des cryptes	Aspect des vilosités
Grade A	>40	Normal	Normal
		Hypertrophique	
Grade B1	>40	Hypertrophique	Atrophie légère
			Atrophie modérée
Grade B2	>40	Hypertrophique	Atrophie totale

Le système Marsh est utilisé pour décrire l'étendue des lésions des muqueuses et s'étend de Marsh 1 (augmentation des IEL), Marsh 2 (augmentation des IEL + hyperplasie de la crypte), Marsh 3a (atrophie villositaire partielle), Marsh 3b (atrophie villositaire subtotale) et Marsh 3c (atrophie villositaire totale). Bien qu'il s'agisse d'un outil précieux dans l'étude de la maladie cœliaque, le diagnostic ne doit jamais être posé sur la seule base de l'histologie [308].

L'amélioration de l'histologie après l'adoption d'un régime sans gluten est une observation précieuse qui conforte le diagnostic.

Les progrès du diagnostic sérologique ont remis en question la nécessité absolue de réaliser une biopsie intestinale pour le diagnostic de la maladie cœliaque. Les nouvelles directives publiées par la Société européenne de gastroentérologie, hépatologie et nutrition pédiatriques (ESPGHAN) suggèrent que dans les cas où les niveaux d'anti-tTG dépassent dix fois le seuil, la biopsie est inutile pour le diagnostic de la maladie cœliaque en maladie cœliaque pédiatrique [291]. Bien que certaines études sur des cohortes d'adultes aient suggéré que les résultats de titres élevés d'anti-tTG ont une forte valeur prédictive positive pour l'atrophie villositaire [293], la plupart des cliniciens préconisent toujours la biopsie de l'intestin grêle en tant que méthode de référence [294]. La figure 12 présente un organigramme détaillant un travail typique pour le diagnostic de la maladie cœliaque.

¹⁷ Kelly, C. P., et al 2009

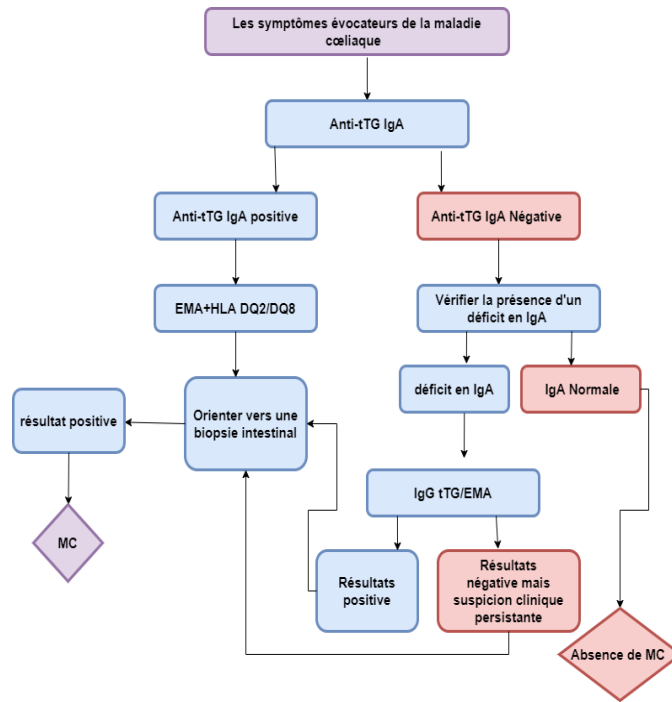


Figure 12 : Organigramme de diagnostic de la maladie Coeliaque¹⁸ [293].

10 Traitement de la maladie coeliaque

La maladie coeliaque est traitée avec un régime sans gluten (RSG) à vie, qui consiste à éviter le blé, le seigle, l'orge, l'épeautre, le kamut, l'amidon, le petit épeautre, l'épeautre vert et tout article prêt à l'emploi fabriqué à partir des céréales susmentionnées. La plupart des patients ont du mal à s'y conformer, car des traces de gluten peuvent être détectées dans pratiquement tous les repas transformés, et un RSG rigoureux limite nécessairement les activités sociales du patient [294]. Bien que des incidences isolées de sensibilité à l'avoine aient été documentées, l'avoine est un grain similaire qui est accepté par pratiquement tous les coeliaques. De nombreux produits d'avoine disponibles dans le commerce sont contaminés par d'autres grains. Le maïs, le riz et le sorgho font partie des autres céréales acceptées [295].

Il a été démontré que même de petites quantités de gluten consommées régulièrement par des personnes atteintes de MC produisaient des altérations de la muqueuse lors d'une biopsie intestinale. Les produits sans gluten étaient auparavant définis comme ceux contenant moins de

¹⁸ Fernandez-Banares F, Alsina M, Modolell I. (2012). Are positive serum-IgA-tissue transglutaminase antibodies enough to diagnose coeliac disease without a small bowel biopsy? Post-test probability of coeliac disease. *J Crohns Colitis* 6(8):861–866

200 ppm de gluten. Dans le projet de Codex Alimentarius, une limite de 20 ppm est considérée comme définissant sans gluten [296].

L'enzymothérapie orale, qui implique des enzymes dégradant le gluten, est récemment apparue comme une option de traitement viable. Il est essentiel que ces enzymes fonctionnent dans des contextes gastro-duodénaux, qu'elles puissent neutraliser les peptides de gluten qui activent rapidement les cellules T et qu'elles puissent affecter le système immunitaire. In vitro et in vivo, il a été démontré que diverses enzymes, notamment les prolyl endopeptidases, les cystéines protéases et les subtilisines, cassent les peptides de gluten résistants à la digestion humaine [297].

De plus, des études cliniques sont actuellement en cours, bien que seules quelques - unes aient atteint les dernières phases, comme celles avec l'acétate de larazotide et les protéases spécifiques au gluten dérivées d'une combinaison bactérienne (ALV003) [298-301]. L'acétate de larazotide est un antagoniste de la zonuline qui empêche le gluten de pénétrer à travers une barrière muqueuse intestinale perméable en bloquant le désassemblage des jonctions serrées [298]. Plutôt que de restaurer l'intégrité de la barrière épithéliale et d'empêcher le gluten de pénétrer dans la muqueuse, le larazotide s'est avéré utile pour réduire les symptômes liés au gluten [298]. Il doit y avoir des considérations spécifiques pour le régime sans gluten et la maladie cœliaque réfractaire. Le RSG est un échec même avec une restriction alimentaire chez la minorité de personnes atteintes de la maladie cœliaque réfractaire (RCD) [302]. Les corticostéroïdes et autres immunosuppresseurs, tels que l'azathioprine ou la cyclosporine, peuvent être nécessaires dans ces cas et peuvent temporairement soulager les symptômes cliniques chez la plupart des gens. Cependant, aucun traitement efficace pour les deux types de RCD n'a été développé à ce jour [302]. De plus, ces médicaments peuvent augmenter le risque de développer un lymphome à cellules T manifeste, ils doivent donc être pris avec précaution, en particulier chez les patients atteints de RCD de type 2 qui risquent d'avoir cette conséquence. Les médicaments de chimiothérapie comme la cladribine et la pentostatine, qui sont des analogues nucléosidiques anti-cellules T, ont récemment été utilisés efficacement, et la greffe de cellules souches a également été considérée comme une option de traitement [303,304].

En effet, des moyens non invasifs de modifier le gluten alimentaire pour rendre la gliadine non toxique ont été développés pour les patients atteints de MC. La perte des caractéristiques de cuisson, le rejet public des cultures génétiquement modifiées, la contamination des cultures

génétiqnement modifiées par des cultures contenant du gluten à proximité , des épitopes immunostimulants hétérogènes non caractérisés dans le gluten et la différence entre la réponse des patients aux épitopes et les niveaux de gluten ont tous fait en sorte que cette approche moins attrayante [305].

Le larazotide (AT-1001, Alba Therapeutics, Baltimore, MA), est un hexapeptide synthétique dérivé de la toxine Zonula Occludens de *Vibrio cholera* [306]. Il est utilisé pour empêcher les jonctions serrées de s'ouvrir dans les minuscules cellules épithéliales intestinales. Selon les résultats d'une étude clinique de phase I chez des patients atteints de MC, le médicament larazotide est bien toléré par les patients et réduit le dysfonctionnement de la barrière intestinale, la production de cytokines pro-inflammatoires et les symptômes gastro-intestinaux chez les patients atteints de MC après la prise de gluten [307]. Une expérience de phase IIb de 6 semaines a donné des résultats encourageants en termes de symptômes et de titres d'anticorps [308] démontrant que l'acétate de larazotide est un candidat thérapeutique potentiel. Ce médicament diminue l'absorption de la gliadine par la voie paracellulaire via les jonctions serrées, qui n'est pas le seul mécanisme d'absorption de la gliadine. En réalité, en plus de la voie paracellulaire, la gliadine peut pénétrer dans la muqueuse via des voies transcellulaires. Par conséquent, cette stratégie pourrait être mieux exploitée en combinaison avec d'autres traitements [309-310]. En outre l'acétate de larazotide (AT-1001, Alba Pharmaceuticals) est un inhibiteur de la zonuline humaine qui aide à maintenir les connexions protéiques de l'épithélium intestinal .Cela a été validé chez des souris sensibles au gluten à la fois *in vitro* et *in vivo* [311]. Dans une étude *in vitro* et *ex vivo* ont montré que deux inhibiteurs de TG2 (R281 et R283) manifestent des effets protecteurs de l'épithélium intestinal exposé à la gliadine [312]. Cependant, étant donné que la tTG est une enzyme omniprésente et que la séquence d'acides aminés dans la tTG2 intestinale est identique à celle observée dans d'autres tTG humaines, les inhibiteurs non sélectifs de la tTG peuvent avoir des effets indésirables importants. Chez la souris, le déficit en tTG2 est lié à la splénomégalie, aux auto-anticorps et à la glomérulonéphrite à complexes immuns [313]. Récemment, trois inhibiteurs de tTG hautement solubles (ZED1098, ZED1219 et ZED1227) avec une grande sélectivité pour la tTG2 intestinale ont été identifiés. L'objectif est de créer un inhibiteur qui peut atteindre une concentration adéquate au niveau de la lamina propria muqueuse tout en traversant la muqueuse pour avoir le moins d'action systémique. Il faut également souligner que certains peptides du gluten sont

immunogènes même lorsqu'ils n'ont pas été désamidés par les tTG tissulaires. Par conséquent, ils doivent être examinés conjointement avec d'autres médicaments [314].

PARTIE II : PARTIE PRATIQUE

11 Etude 1 : Typage HLA DQ/DR par sérologie Microlymphocytotoxicité (MLC).

Notre étude rapporte l'analyse du polymorphisme des antigènes HLA de classe II par la technique de microlymphocytotoxicité (kits one lambda) chez 58 patients marocains atteints de la maladie cœliaque (hommes 20%; femmes 80%; âge : 17-58 ans) par rapport à une population témoin (108 cas).

Les méthodes sérologiques de typage HLA sont basées sur la technique de MLC complément dépendante introduite par Terasaki en 1964.

Les cibles cellulaires sont les lymphocytes obtenus par centrifugation sur gradient de Ficoll (milieu de séparation des lymphocytes) à partir du sang périphérique. Le principe du test repose sur la mise en présence de lymphocytes portant à leur surface les Ag HLA avec des Ac reconnaissant spécifiquement ces Ag et préalablement déposés dans les puits d'une microplaque. Ces Ac de spécificité connue et sélectionnés pour la qualité de leur réactivité reconnaissent soit des spécificités antigéniques uniques (Ac monospécifiques), soit plusieurs spécificités antigéniques (épitopes partagés par plusieurs spécificités).

Après action du complément de lapin incorporé à la plaque de typage ou ajouté au moment du test (dans notre cas il est incorporé à la plaque), la réaction Ag/Ac, lorsqu'elle se produit, est révélée par un colorant vital ajouté à la fin du test. Ce colorant s'intègre aux cellules lysées et permet, après lecture au microscope inversé, de définir les spécificités antigéniques présentes sur les cellules testées. Les Ac utilisés dans les tests sont soit des allo-antisérums obtenus après immunisation (grossesse, transfusion, greffe) soit des Ac monoclonaux. Dans notre étude ce sont des Ac monoclonaux de la société OneLambda.

11.1 Séparation lymphocytaire

Un prélèvement de 5 ml de sang sur EDTA (acide éthylène-diamine-tétraacétique) est effectué et qui sera ensuite dilué au 1/2 dans un milieu physiologique, le milieu utilisé est le PBS (Phosphate buffered saline). La séparation est réalisée sur gradient Ficoll (milieu de séparation lymphocytaire, $d= 1.077$) (Figure : 13).

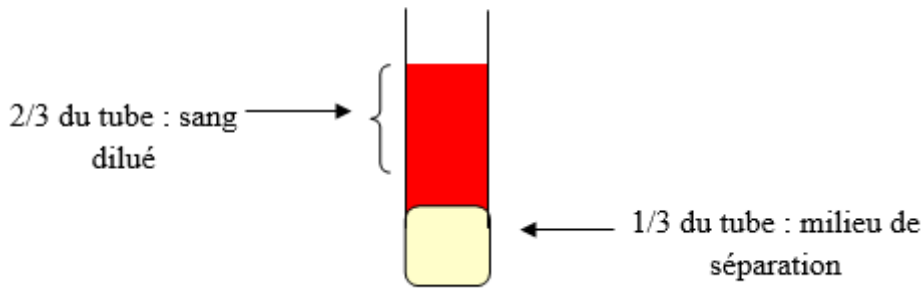


Figure 13 : Séparation des lymphocytes sur gradient de Ficoll

La centrifugation des tubes se fait à 500 g pendant 11min, ensuite l'anneau lymphocytaire est récupéré avec une pipette pasteur dans un autre tube et pour remplir le tube, le volume est complété par addition du PBS (1x). Ainsi, les lymphocytes sont lavés après centrifugation à 600 g pendant 11min. A la fin, le culot de chaque tube est récupéré auquel est ajouté 1ml de PBS (1x) pour la resuspension.

11.2 Numération des lymphocytes

- On dépose une goutte des lymphocytes dilués avec une goutte de bleu de trypan dans une boîte de pétri
- A l'aide d'une pipette pasteur on met une goutte de l'échantillon entre l'hématimètre et la lamelle
- Finalement on compte dans le quadrillage (volume précis) les cellules vivantes

La numération des cellules se fait à l'aide la cellule Malassez et calcul de la concentration cellulaire selon la formule suivante

$$[C] = N \times Fd \times 10^5$$

[C] : concentration cellulaire en million de cellules par ml

N : nombre moyen des lymphocytes comptés dans les chambres de la cellule Malassez.

Fd : facteur de dilution dans le colorant (bleu trypan)

10^5 : facteur de conversion relatif à la cellule Malassez

On ajuste la concentration cellulaire de façon à avoir 2.5 million de lymphocytes par ml

11.3 Réaction de MLC

La réaction se fait sur des microplaques Terasaki (One Lambda) (figure 14) contenant les Ac anti-HLA spécifiques (1 μ l/ puits) ainsi que le complément de lapin (HLA-classe II, one lambda) (3 μ l/puits). Les microplaques congelées à -20°C, sont décongelées à T° ambiante. Ensuite, avec une seringue HAMILTON on distribue 1 μ l/ puits de suspension lymphocytaire dans chaque puits de la microplaque Terasaki puis, on laisse incuber pendant une heure à température T°=21°C. Après une heure, on flique les plaques pour éliminer le surnageant et la lyse cellulaire est révélée par la distribution de bleu trypan (3 μ l/puits) puis lecture au microscope inversé.

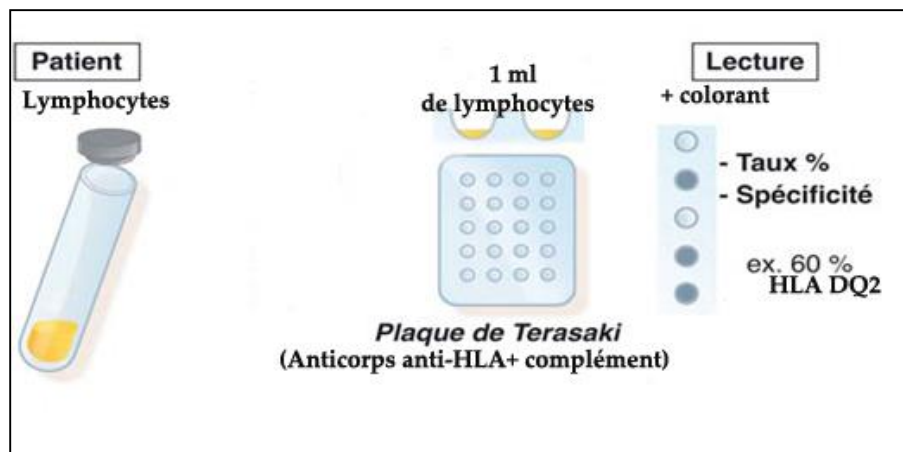


Figure 14 : Principe de la technique de Microlymphocytotoxicité

11.4 Contrôle qualité

- Témoin négatif inclus dans la plaque: il permet de contrôler la viabilité des suspensions lymphocytaires utilisées. Ce témoin devra rester négatif à la lecture sinon le test n'est pas validé.
- Témoin positif : le témoin positif permet de vérifier l'activité du complément. Il devra avoir au moins 81-100% de lymphocytes lysés.

L'identification des Ag HLA se fait en suivant la fiche accompagnant la microplaque Terasaki OneLambda

11.5 Résultat de l'étude I : Typage HLA DQ/DR par sérologie Microlymphocytotoxicité (MLC)

Les résultats ont montré une fréquence élevée de HLA DQ2 (65,5%) chez les patients marocains par rapport à la population témoin (30,6%), ainsi qu'une fréquence élevée de HLA DQ8 (34,5%) par rapport aux témoins. Pour les deux antigènes HLA DQ2 ou HLA DQ8, ils montrent une fréquence de 93,1% par rapport aux témoins (30,6%). Les résultats ont également montré une fréquence de 41,3 %, 34,5 % et 31 % respectivement pour les loci HLA DR3, DR7 et DR5 par rapport aux témoins (17,1 %, 13,9 % et 10,2 %) (*Tableau 5*).

Tableau 6 : Résultats des gènes HLA-DQ/DR par sérologie

	HLA-DQ2	HLA-DQ8	HLA-DQ2/DQ8	HLA-DR3	HLA-DR7	HLA-DR5
Patients	65,5%	34,5%	93,1%	41,3%	34,5%	31%
Témoin	30,6%	-	30,6%	17,1%	13,9%	10,2%

11.6 Discussion de l'étude I : Typage HLA DQ/DR par sérologie Microlymphocytotoxicité (MLC)

Les résultats ont montré une fréquence élevée de HLA DQ2 (65,5%) chez les patients marocains par rapport à la population témoin (30,6 %), ainsi qu'une fréquence élevée de HLA DQ8 (34,5%) par rapport aux témoins. Pour les deux antigènes HLA DQ2 ou HLA DQ8, ils montrent une fréquence de 93,1% par rapport aux témoins (30,6 %). Ces résultats sont similaires à des résultats génétiques d'une population turque sur la MC ont montré que 69,1 % des patients cœliaques sont positifs pour HLA-DQ2 par rapport à 28,4% des témoins [315]. En effet récemment une étude réalisée en Romain a montré une fréquence de HLA-DQ2 significativement plus élevée dans le groupe MC que dans le groupe des sujets sains (95,6 % vs 29,8 %, $p < 0,001$) [319]. Pour HLA-DQ8 une fréquence plus élevée a été observée également dans une population iranienne 16% des patients MC par rapport à 13,9% pour les témoins [317]. En ce qui concerne HLA-DQ2/DQ8 une population turque a montré également une fréquence plus élevée 73,4% par rapport aux témoins 28,4% [315].

Nous remarquons que la plupart des patients cœliaques peuvent exprimer sur leurs cellules une (ou les deux) des molécules d'antigènes HLA de classe II de type DQ2 ou DQ8, conformément aux études de liaison peptidique qui suggèrent que les molécules DQ2 et DQ8 jouent un rôle clé dans la réponse inflammatoire de la MC en se liant aux peptides dérivés de la gliadine et en les présentant aux cellules T de l'intestin grêle [316-319].

Les résultats ont également montré une fréquence de 41,3 %, 34,5 % et 31 % respectivement pour les loci HLA DR3, DR7 et DR5 par rapport aux témoins (17,1 %, 13,9 % et 10,2 %).

Pour estimer l'effet supplémentaire des haplotypes HLA DQ-DR, nous avons calculé la fréquence de ces haplotypes par rapport à la population témoin. La fréquence la plus élevée a été observée pour l'haplotype DQ2-DR3 (41,37 % vs 9,03 % chez les témoins), un résultat similaire à ceux obtenus au niveau de slovenia où cet haplotype est majoritaire avec une fréquence de 13.23 %. Ces résultats suggèrent que les individus porteurs de génotypes à haut risque DR3-DQ2/DR3-DQ2 ou DR3-DQ2/DR4-DQ8 sont plus susceptibles de développer une MC [320]. On peut donc supposer que l'haplotype DQ2-DR3 présente un risque de MC plus élevé que les autres haplotypes. L'haplotype DQ2-DR7 est observé avec une fréquence significative (34,5%). Ces résultats sont similaires à des résultats trouvés chez une population des enfants coeliaque, un pourcentage de 34,1% sont porteurs de HLA DR7-DQ2 [321]. La plupart des autres sujets sont porteurs de l'haplotype DQ2-DR5 (17,24 %). En Europe du Sud, les trois mêmes haplotypes HLA DQ-DR, qui ont été observés dans notre étude, comportent le risque de MC mais dans des proportions différentes reflétant les distributions HLA dans la population générale [320].

12 Etude I : L'implication des gènes CD1 dans la pathogenèse de la maladie cœliaque chez des patients adultes

12.1 Les participants à l'étude :

Un total de 114 patients atteints de Maladie Cœliaque (hommes, 16 % ; femmes, 84 % ; âge : 18-67 ans) ont été collectés au service de médecine C de l'hôpital Ibn Sina de Rabat, au Maroc, et ont été analysés pour les polymorphismes de CD1 dans l'exon 2. Le diagnostic a été confirmé par la sérologie (anticorps anti-transglutaminase, anticorps anti-endomysium) et une biopsie intestinale; les patients dont le diagnostic était incertain ont été exclus de l'étude. La présentation clinique était classique dans 83 % des cas et atypiques dans 17 % des cas typiques.

L'étude génétique des échantillons a été approuvée par le comité du Centre national de la recherche scientifique et technique du Maroc (Code 103212) dans le respect des principes éthiques du Ministère de la santé du Maroc et le consentement éclairé a été obtenu de tous les patients.

Quatre-vingt-dix individus marocains non apparentés et en bonne santé, précédemment analysés [322], ont été utilisés pour la comparaison ; leurs fréquences alléliques étaient en l'équilibre de Hardy-Weinberg, comme indiqué précédemment [322].

Les données disponibles provenant de populations témoins néerlandaises et italiennes ont également été utilisées à des fins de comparaison [323-324] (tableau 9).

12.2 Matériels et Méthodes

12.2.1 Prélèvements

Les prélèvements sanguins ont été effectués sur des tubes EDTA de 5 ml. Les culots du sang ont été acheminés au laboratoire d'Immunologie cellulaire département HLA à l'institut National d'hygiène Rabat. Les échantillons sanguins ont été conservés à -20°C.

12.2.2 Extraction D'ADN

L'ADN génomique a été extrait du sang total à l'aide de kits commerciaux (QIAamp DNA blood mini kit, Qiagen, Hilden, Allemagne). Les allèles/haplotypes HLA de classe II associés à la maladie cœliaque ont été identifiés à l'aide de la méthode de réaction en chaîne par polymérase (PCR-SSP) (kit de typage DQ-CD, Biodiagene s.r.l., Palerme, Italie).

Tableau 7 : Amorces PCR et de séquençage pour les gènes CD1A, CD1D et CD1E (Refs. [325, 326]).

CD1A exon2-F	5'-AGACGGGCTCAAGGAGCCTC-3'
CD1A exon2-R	5'-TTCAAAGTCAATTCATGGGC-3'
CD1D exon2-F	5'-TTTCCCCCTCCGCTGCCTCC-3'
CD1D exon2-R	5'-GGATAAGCGTAGCATTTTGG-3'
CD1E exon2-F	5'-GAGGAGCAGCTGTCCTTCCG-3'
CD1E exon2-R	5'-ATTGACCAGCAGAAGCTTGC-3'

[327]

Les patients ont été stratifiés selon les classifications des groupes à risque pour la MC en fonction des génotypes des loci HLA-DR-DQ ; le statut DQ2.5 a également été analysé (homozygote, positif, négatif [327-328]).

12.2.3 Protocole de l'extraction

Protocole : Purification de l'ADN à partir du sang :

Un volume de 20 µl de protéase QIAGEN dans le fond d'un tube de microcentrifugation de 1,5 ml. Puis on a ajouté 200 µl de sang total dans le tube de microcentrifugation et 200 µl de PBS.

Nous avons ajouté 200 µl de tampon AL à l'échantillon. Mélanger en effectuant un pulse-vortex pendant 15 s pour assurer une lyse efficace, il est essentiel que l'échantillon et le tampon AL soient mélangés minutieusement pour obtenir une solution homogène.

Puis nous avons incubé à 56°C pendant 10 minutes.

Ensuite nous avons ajouté 200 µl d'éthanol (96-100 %) à l'échantillon et mélanger à nouveau en effectuant un vortex pulsé pendant 15 secondes.

Après le mélange, nous avons centrifugé brièvement le tube de microcentrifugation de 1,5 ml pour éliminer les gouttes de l'intérieur du couvercle.

En plus nous avons appliqué délicatement le mélange de l'étape 6 sur la colonne de spin QIAamp Mini (dans un tube de collecte de 2 ml) sans mouiller le bord de la colonne. Et on ferme le bouchon, et centrifuger à 6000 x g (8000 rpm) pendant 1 minute. Et on place la colonne de spin QIAamp Mini dans un tube de collecte propre de 2 ml (fourni) et jeter-le tube contenant le filtrat*.

On a fermé chaque colonne de centrifugation pour éviter la formation d'aérosols pendant la centrifugation.

La centrifugation est effectuée à 6000 x g (8000 rpm) pour réduire le bruit.

Aussi nous avons ouvrir délicatement la colonne de spin QIAamp Mini et ajouter 500 µl de tampon AW1 sans mouiller le bord. Fermer le bouchon et centrifugez à 6000 x g (8000 rpm) pendant 1 min. Ensuite nous avons placé la colonne de spin QIAamp Mini dans un tube de collecte propre de 2 ml (fourni), et on a jeté le tube de collecte contenant le filtrat.

Ensuite nous avons ouvrir délicatement la colonne de spin QIAamp Mini et ajouter 500 µl de tampon AW2 sans mouiller le bord. Fermer le bouchon et centrifuger à pleine vitesse (20 000 x g ; 14 000 rpm) pendant 3 minutes.

Puis nous avons placé la colonne de spin QIAamp Mini dans un nouveau tube de collecte de 2 ml (non fourni) et jeter l'ancien tube de collecte avec le filtrat. Centrifuger à pleine vitesse maximale pendant 1 minute.

Cette étape permet d'éliminer le risque d'un éventuel transfert de tampon AW2.

Et nous avons placé la colonne de spin QIAamp Mini dans un tube de microcentrifugation propre de 1,5 ml (non fourni), et jeter le tube de collecte avec le filtrat. Ouvrir délicatement la colonne de spin QIAamp Mini et ajouter 200 µl de tampon AE ou d'eau distillée.

Par la suite nous avons incubé à température ambiante (15-25°C) pendant 1 min, puis centrifuger à 6 000 x g (8 000 rpm) pendant 1 min.

Analyse du polymorphisme des gènes CD1A, CD1D et CD1E

Le polymorphisme de l'exon 2 de CD1A, D et E a été analysé à l'aide de techniques de séquençage de l'ADN. Les segments d'ADN correspondant à l'exon 2 des gènes CD1A, -D et -E ont été amplifiés par réaction en chaîne par (PCR) en utilisant les amorces indiquées dans le tableau 6 et décrites précédemment [325- 326]

Les amplifications PCR ont été réalisées dans un système Gene Amp PCR 9700 (Applied Biosystems) et ont consisté en en 50 ng d'ADN génomique, 1X avec MgCl₂, 0,2 mM de chacun des désoxynucléotides, 0,5 U de polymérase Taq et une concentration de 3,2 pmol/μl de chaque amorce dans un volume final de 50 μl. Les conditions de cycle étaient les suivantes 5 min de dénaturation à 95 °C, 30 cycles de 20 secondes à 95 °C, 30 secondes à 60 °C, 30 secondes à 72 °C et un cycle d'élongation final de 5 minutes. Les produits PCR ont été électrophorés dans un gel d'agarose à 1,5 % contenant 0,5 mg/ml de bromure d'éthidium.

La vérification de l'amplification a été réalisée par migration électrophorétique sur gel d'agarose 2% (Figure 12 et 13)

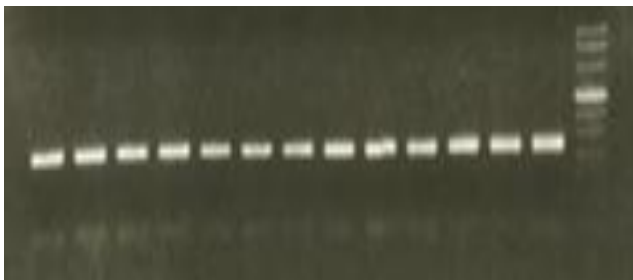


Figure 15 : Photo du gel après amplification du fragment d'ADN de CD1A, 255bp



Figure 16 : Photo du gel après amplification du fragment d'ADN de CD1E, 241bp

Les produits amplifiés ont été purifiés (kit de purification QIA Quick PCR, Qiagen) et séquencés à l'aide de la chimie Big Dye Terminator (Applied Biosystems, Foster City, USA) sur un analyseur génétique ABI Prism 3130 (Applied Biosystems). Les réactions de séquençage ont été purifiées et le typage a été obtenu sur la base des alignements des séquences traitées avec les séquences exon 2 des gènes humains CD1A, -D et -E extraites de la Genbank.

12.3 Analyse statistique

Les fréquences des allèles et des génotypes ont été obtenues par comptage direct.

Les fréquences des haplotypes CD1 ont été estimées à l'aide d'une méthode de maximisation de l'espérance pour les données génotypiques multilocus lorsque la phase gamétique n'est pas connue [329].

Les résultats des fréquences allèles/génotypes/haplotypes ont été analysés à l'aide du test du Khi-deux avec correction de Bonferroni (p) et comparés à ceux des témoins et d'autres populations caucasiennes. L'odds ratio (OR) et l'intervalle de confiance (IC) à 95 % ont été calculés. Le niveau de signification a été fixé à $p = 0.05$. Le logiciel de statistiques SPSS et le logiciel de génétique des populations Arlequin v.3.5 (<http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3>) [330] ont été utilisés pour les analyses.

12.4 Résultats de l'étude II: L'implication des gènes CD1 dans la pathogenèse de la maladie cœliaque chez des patients adultes

Les fréquences du génotype/allèle de CD1A n'ont pas montré de différences entre les groupes (tableau 7), tandis que CD1D était monomorphe (*01/01) chez les individus cœliaques. Une distribution différente des génotypes de CD1E a été observée entre les patients cœliaques et la population témoin (tableau 7). Dans le modèle récessif, les homozygotes CD1E*02/02 étaient significativement plus fréquents chez les patients cœliaques que chez les témoins du Maroc (Tableau 7 : 24,6 %, 28/114, vs 10,0 %, 9/90, $p = 0,007$, OR = 2,93, CI 1,30-6,59) et d'autres populations caucasiennes (Italie, 12%, $p = 0,020$; Pays-Bas, 11,3%, $p = 0.002$).

Tableau 8 : Génotypes et allèles CD1A et CD1E chez les patients atteints de la MC et dans la population témoin du Maroc.

	Patients avec MC		Contrôles		valeur p	OR
CD1A géotype ^{a19}	n = 113	%	n = 90	%		
CD1A*01/01	1	0,8	1	1,1	ns	-
CD1A*01/02	9		11	12,2	ns	-
CD1A*02/02	8,0		78	86,7	ns	-
	103					
	91,2					
Alleles	2n = 226	%	2n = 180	%		-
CD1A*01	11	0,05	13	0,07	ns	-
CD1A*02 ns	215	0,95	167	0,93	ns	
CD1E géotypes	n = 114	%	n = 90	%		
CD1E*01/01	44	38,6	36	40,0	ns	
CD1E*01/02	40	35,1	45	50,0	ns	
CD1E*02/02	28	24,6	9	10,0	p = 0,007 ^{b20}	2,93 ^{c21}
CD1E*01/05	2	1,8	0	0	ns	-
Alleles	2n = 228	%	2n = 180	%		
CD1E*01	130		117	0,65	ns	-
CD1E*02	0,57		63	0,35	ns	-
CD1E*05 ns	96		0	0,00	ns	-
	0,42					
	2					
	0,01					

^{19 a} CD1A a été testé chez 113 des 114 sujets.

^{20 b} pc = 0,028.

^{21 c} 95%CI:1,30-6,59.

Les patients ont également été analysés en fonction des catégories de risque HLA-DQ décrites pour la MC (génotypes/haplotypes DQ) [327-328].

La fréquence du génotype CD1E*02/02 était particulièrement élevée chez les patients porteurs de l'haplotype DQ2.5 (DQB1*0201-DQA1*05) (29,5 %, $p = 0,001$, OR 3,76, IC 1,62-8,75), par rapport aux témoins (tableau 12). De plus, les individus porteurs des génotypes associés CD1A*02/02 et CD1E*02/02 étaient significativement plus nombreux parmi les patients atteints de la MC, par rapport aux témoins (19,5 % vs. 6,7 %, $p = 0,013$, OR 3,39, CI 1,31-8,75), en particulier chez les individus DQ2.5⁺ ($p = 0,011$).

L'analyse des haplotypes CD1A-CD1E estimés a démontré que CD1A*02-E*02 tendait à être plus prévalent chez les patients cœliaques, 37 % chez les personnes atteintes de CD contre 29 % des témoins marocains et 27-28 % dans d'autres populations caucasiennes (néerlandaise et italienne) (tableau 13), bien que les résultats ne soient pas significatifs [323,324].

12.5 Discussion de l'étude II : L'implication des gènes CD1 dans la pathogenèse de la maladie cœliaque chez des patients adultes

La prévalence de la MC en Afrique du Nord est en augmentation 10-15 dernières années, elle a atteint environ 1%, comme cela a été observé en Europe et aux États-Unis [331-333] Les gènes HLA représentent une condition nécessaire mais non suffisante pour le développement de la MC. En effet, 39% de la population générale possède DQ2 ou DQ8 mais seulement 3 % développeront la maladie [334]. Par conséquent, on pense que de nombreux autres facteurs génétiques régissent la susceptibilité de l'hôte à cette maladie. Un lien entre les polymorphismes CD1 et certaines maladies auto-immunes et inflammatoires a déjà été indiqué [335,336]. Dans cette étude, l'association éventuelle entre CD1 et le risque de MC dans un échantillon de patients atteints de MC et de témoins sains du Maroc a été étudiée. A ce jour, seules quelques données concernant le polymorphisme du gène CD1 et leur éventuelle variabilité parmi les individus de différentes origines ethniques et maladies sont disponibles [322] [324] [326] [335] [336], [336-338]. Nos résultats indiquent une distribution différente des génotypes CD1E entre les patients cœliaques et la population témoin saine. Le génotype CD1E*02/02 homozygote était significativement associé au risque de MC, en particulier chez les patients porteurs de l'haplotype DQ2.5. L'association des génotypes CD1A*02/02 et CD1E*02/02 était également significativement augmentée chez les patients atteints de la MC. L'analyse des haplotypes CD1A-E estimés a également démontré une fréquence plus élevée de CD1A*02-E*02 chez les

patients cœliaques du Maroc. Il a été suggéré précédemment que les individus CD1E*02/02 ont une meilleure protection immunitaire contre le paludisme à *Plasmodium falciparum*, car une forte association avec la résistance aux attaques palustres a été trouvée chez des enfants homozygotes CD1E*02 au Gabon [338]. Par rapport aux gènes des protéines CD1 du groupe 1 (CD1a, CD1b, et CD1c) et du groupe 2 (CD1d), moins d'études ont été menées sur les antigènes humains CD1 du groupe 3, qui comprennent CD1e [324] [339,340].

La principale caractéristique principale de CD1e, outre le polymorphisme génétique plus élevé, est qu'il joue un rôle indirect dans le chargement des antigènes, car il affecte la présentation des lipides par d'autres isoformes CD1 [341].

Par exemple, CD1e est nécessaire au chargement et à la transformation des antigènes lipidiques en CD1b, pour la présentation d'une variété d'antigènes lipidiques microbiens restreints par CD1b [342]. Il est important de souligner que CD1e pourrait moduler à la fois la réponse immunitaire antimicrobienne et l'auto-immunité en opérant une sélection d'antigènes lipidiques et glycolipidiques pour la présentation par les autres isoformes de CD1 (chargement et présentation des antigènes en fonction de l'efficacité, faible ou élevée, de liaison de différents antigènes lipidiques) [343]. De même, l'implication du microbiome intestinal a été suggérée dans la MC, car des modifications de la composition et de la fonction du microbiome intestinal ont été observées avec une prévalence plus élevée de *Bacteroides* qui caractérise la MC [344].

Les *Bacteroides* sont particulièrement pertinents dans ce cadre, car ils sont riches en sphingolipides, qui pourraient être présentés par CD1d aux cellules NKT, régulant ainsi la réponse immunitaire et les polymorphismes des molécules présentatrices d'antigènes (par exemple, HLA-DQ2) affectent la composition du microbiote intestinal chez les nourrissons [344]. Récemment, la contribution de la reconnaissance des lipides médiée par CD1 par les cellules NKT dans la dérégulation de la diapason entre le système immunitaire et le microbiote et dans le développement de maladies inflammatoires chroniques a été discutée [345].

Dans cette optique, on pourrait émettre l'hypothèse que certains variants du gène CD1E, modifiant l'affinité de liaison des antigènes lipidiques, pourraient continuer à être sélectionnés pour leur rôle potentiel dans l'immunité protectrice contre les glycolipides microbiens. On a découvert ici que le gène CD1E*02/02, en association avec les principaux loci de susceptibilité à la maladie cœliaque, pourrait contribuer au risque de maladie dans cette zone géographique.

Comme l'homozygotie pour CD1E*02 pourrait être associée à la résistance au paludisme, l'hypothèse qui se dégage de cette étude est que l'homozygotie pour CD1E*02 pourrait contribuer d'une part à la résistance au paludisme (ou à d'autres microbes) et, d'autre part, au risque de maladie cœliaque dans les populations africaines.

De plus, Mombo et al. [338] ont rapporté une fréquence très élevée de l'allèle CD1E*02 chez les Africains sub-sahariens (87,4%). Bien que l'Afrique subsaharienne soit apparemment une zone " sans cœliaque ", il serait approprié de quantifier l'incidence de la MC. Il serait opportun de quantifier l'incidence de la MC. En fait, étant donné la tendance générale de nombreux pays en développement à adopter des régimes occidentaux riches en gluten, on peut s'attendre à une augmentation de la fréquence de la MC dans un avenir proche. Cependant, à notre connaissance, aucune donnée sur les associations entre les polymorphismes du gène CD1 et la maladie cœliaque dans d'autres zones géographiques n'a été démontrée d'où l'importance d'une étude du polymorphisme du gène CD1E chez les patients atteints de la MC dans d'autres populations.

Tableau 9 : Génotypes CD1A, CD1E et groupe de risque HLA-DQ selon le statut DQ2.5 chez les Marocains

groupe à risque	CD1E*02/02		P	OR, IC	CD1A*02/02- CD1E*02/02		p	OR, IC
	Patients MC N (%)	Contrôles N(%)			Patients MC N(%)	contrôles N(%)		
DQ2.5+ (DQB1*02/01- DQA1*05)	23/78 (29,5)	3/33 (9,1)	0,001	3,76, 1,62- 8,75	18/77 (23,4)	1/33 (3,0)	0,011	9,76 1,25-76,53
DQ2.5-	5/36 (13,9)	6/57 (10,5)	Ns	-	4/36 (11,1)	5/57 (8,8)	ns	-

Tableau 10 : Estimation des haplotypes CD1A-CD1E chez les patients atteints de maladie cœliaque (présente étude) et dans les populations caucasiennes.

	population caucasienne			
	Maladie cœliaque (2n=226)	Marocains ^a (2n=180)	Néerlandais ^b (2n=414)	Italiens ^c (2n=200)
CD1A-CD1E haplotypes	hf ^d	hf	hf	hf
CD1A*02-CD1E*01	0,58	0,64	0,67	0,61
CD1A*02-CD1E*02	0,37	0,29	0,27	0,28
CD1A*01-CD1E*02	0,05	0,06	0,06	0,11
CD1A*02- CD1E*05	0,01	-	-	-
CD1A*01-CD1E*01	-	0,01	-	-

a Ref. (A. Aureli et al, 2019) [336]

b Ref. (A. Fasano et al, 2003) [333]

c Ref. (C.M. Caporale et al,2006) [336]

d Haplotype frequencies; p = ns

13 Etude III : Distribution des gènes HLA DQ2/ HLA DQ8 chez des patients adultes atteints de maladie cœliaque

13.1 Méthodologie de recherche

Nous avons effectué une recherche approfondie sur Google Scholar, Science direct, Pub Med, Embase et Medline en utilisant les mots-clés suivants (HLA OU antigènes HLADQ OU HLA OU antigènes HLADQ OU antigène de leucocyte humain (leucocyte ou leucocytes) ET (antigène ou antigènes)) AND (HLADQ2 OR HLADQ8 OR HLADQ2 and HLADQ8) OR ((celiac OR celiac disease OR CD) AND (HLA OR HLADQ antigens OR adults OR adults)). Nous avons limité notre recherche en anglais et nos termes sujets incluait "celiac disease",

Dans la recherche de la fréquence des gènes prédisposants, les termes sujets de la stratégie étaient : "antigènes HLA", "antigènes d'histocompatibilité de classe II" ou "antigènes du complexe majeur d'histocompatibilité", et les termes du texte étaient : "DQ2", "DQ8". Les articles ont également été identifiés par une recherche manuelle des références des études dont le texte intégral a été consulté. Aucune restriction n'a été appliquée lors de la recherche concernant la publication, le moment, le statut ou la langue de la publication. Les résumés qui n'ont pas été publiés en texte intégral n'ont pas été inclus dans cette étude.

Les actes qui n'ont pas été publiés en texte intégral n'ont pas été inclus dans cette étude.

Tous les articles publiés pertinents répondant à notre question de recherche HLA DQ et maladie cœliaque chez les adultes ont été inclus dans cette méta-analyse.

Deux auteurs (A.S et O.K²².) ont effectué la recherche documentaire, examiné tous les textes intégraux et décidé individuellement d'inclure ou non l'étude en fonction de critères d'inclusion et d'exclusion prédéfinis. Les désaccords entre les deux auteurs ont été résolus par la discussion. En cas de désaccord persistant, l'auteur principal (T.K¹) a examiné l'étude et pris la décision.

13.2 Les critères de sélection

Les critères d'inclusion et d'exclusion ont été définis avant le début de la recherche documentaire. Par conséquent, les études éligibles publiées sous forme d'articles complets ou de résumés ont été incluses dans cette méta-analyse si elles répondaient aux critères suivants :

- a. L'étude doit être conçue pour des adultes atteints de la MC
- b. Études portant sur des patients atteints de la MC et non de sensibilité au gluten
- c. L'échantillon de l'étude doit être représentatif - le nombre de participants doit être supérieur à 30
- d. Les sujets peuvent être apparentés ou non, et inclure des hommes et des femmes.
- e. Les données doivent inclure les fréquences des haplotypes HLA DQ2 HLA DQ8

13.3 Les critères d'exclusion

²² A.S Aboulaghras Sara
O.K Oumhani Khadija
T.K Taghzouti Khalid

- a. Études traitant de la maladie cœliaque en association avec une autre maladie
- b. Les études qui se concentrent uniquement sur les enfants
- c. Les articles en double, les lettres, les éditoriaux, les séries de cas, les revues narratives, les revues systématiques et les méta-analyses, les abrégés ou les résumés en plus de ceux qui ne sont pas liés au sujet de notre étude, après le titre et/ou la lecture d'un résumé
- d. Les études qui ne répondent pas à notre question de recherche sont également exclues.

13.4 Qualité des études

La qualité des études incluses a été évaluée de manière indépendante par deux examinateurs (A.S, O.K) à l'aide d'une liste de contrôle conçue par Penny Whiting (tableau 2) en utilisant l'outil QUADAS (Diagnostic Accuracy Studies) pour les études de précision diagnostique [346] ; cet outil permet d'évaluer la qualité des études observationnelles. Il se compose de 14 questions - auxquelles on a répondu par "oui", "non" ou "pas clair" - qui ont été évaluées séparément, sans qu'il soit nécessaire d'établir une liste de contrôle.

Le score global n'est pas un score de synthèse en raison de sa difficulté d'interprétation et, en outre, parce qu'il signifie la perte d'informations de chacun d'entre eux séparément. Les points tentent de montrer si les patients de l'étude sont représentatifs de ceux qui reçoivent le test dans la pratique, l'exactitude et la cohérence de la norme de référence, la pertinence du délai entre la norme et le test évalué, l'interprétation des résultats, l'explication, la synthèse et l'analyse des données dans les études. Les deux examinateurs, en parvenant à un consensus en cas de divergences, ont également procédé à cette évaluation.

13.5 Extraction des données

Après une lecture critique, selon les critères d'inclusion, les données pertinentes ont été extraites indépendamment par les deux investigateurs (A.S et O.K²³) et les conflits ont été résolus par consensus. Les variables suivantes ont été extraites : Auteur, année de publication, année d'étude, pays d'étude, caractéristiques de la population, type d'étude, caractéristiques de la population (nombre de participants, pourcentage d'hommes, pourcentage de femmes et âge des participants), diagnostic utilisé.

²³ A.B Aboulaghras Sara
O.K Oumhani Khadija

13.6 Résultat de l'Etude III : Distribution des gènes HLA DQ2/ HLA DQ8 chez des patients adultes atteints de maladie cœliaque

Identification et sélection des études

Selon la stratégie de recherche établie, 2969 articles ont été identifiés. La figure 12 montre l'organigramme qui regroupe les étapes suivies pour obtenir les 13 études incluses dans la méta-analyse et la procédure d'exclusion des études inéligibles. Les articles en double, les lettres, les éditoriaux, les revues narratives et les lignes directrices ont été supprimés, les études non liées à notre objectif, les articles courts non publiés ont également été exclus, et les articles traitant du HLA chez les patients atteints de maladie cœliaque en association avec une maladie ne sont pas éligibles pour cette étude après une lecture du titre et/ou du résumé. n=22 articles ont ensuite été obtenus et après une revue du texte complet, les références parmi ces 22 études ont été consultées n=7 études qui traitent de la MC chez les enfants ont été exclues et 2 études ont été exclues.

Nous avons extrait 30183 informations sur les patients à partir de 13 études. Les références indépendantes de 13 études ont été incluses dans cette étude. La plus grande taille d'échantillon pour l'étude individuelle était n=25025, et n=49 était la plus petite taille d'échantillon, les autres caractéristiques de l'étude sont résumées dans le tableau 10.

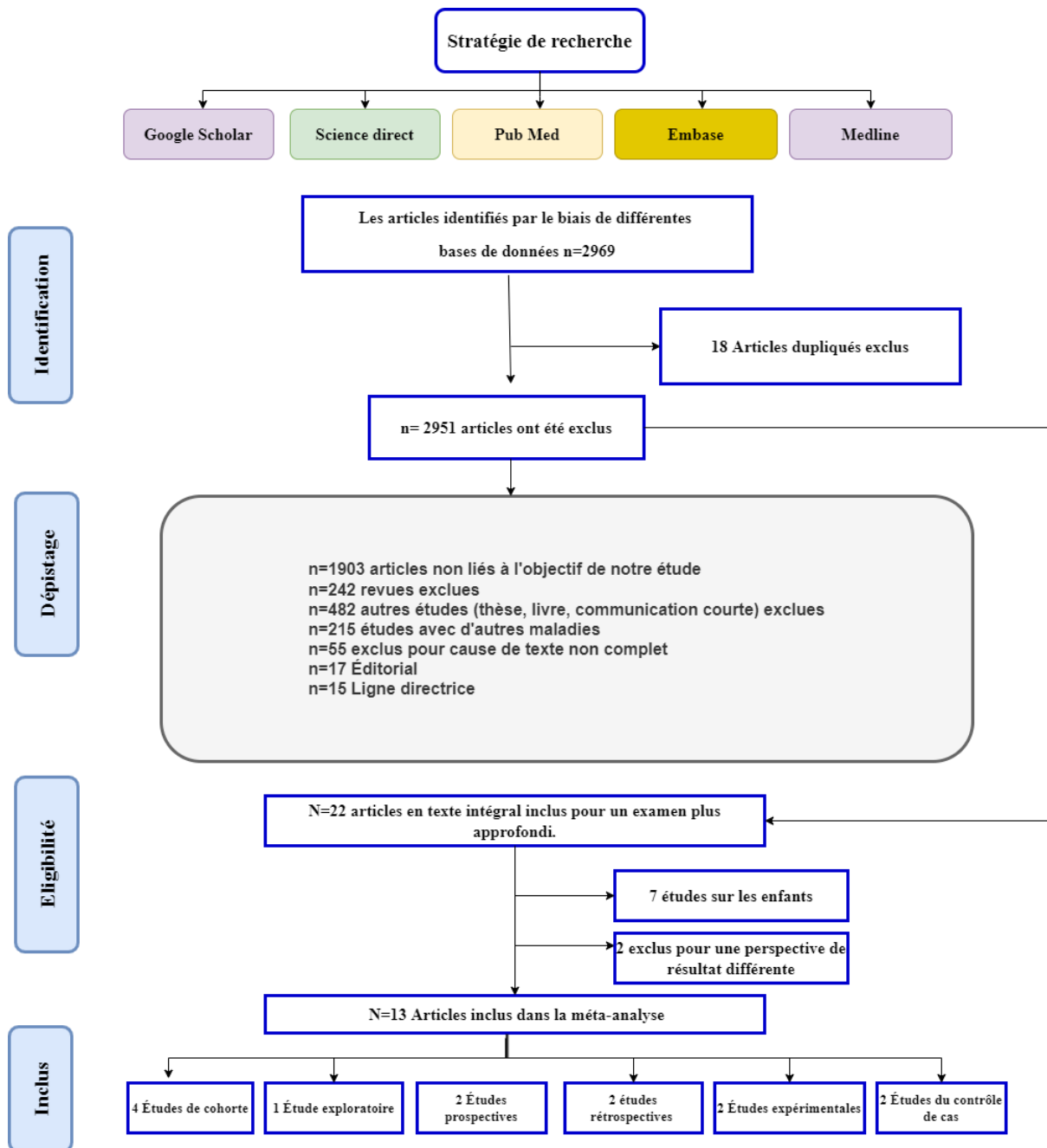


Figure 17 : Diagramme des résultats de la recherche

Tableau 11 : Caractéristiques des études incluses sur les patients atteints de la MC

Type d'étude	Diagnostique	Nombre de participants	Patients / Contrôle	Sexe Hommes / femmes	Âge moyen	Pays /Ville	Auteur
Étude exploratoire	Concentration des IgA / IgG anti-tTG, et des IgA EmA endoscopie PCR-SSP	49	30/19	11/38	[53 ± 14.5]	Mexique, Mexico	E. Cerda-Contreras et al, 2018 [347]
Cohorte	Biopsie Analyse pathologique Typage HLA	104	44/60	18/26	46,2 Âge au moment du diagnostic, année	USA, New york	T.C. Johnson et al, 2004 [348]
Cohorte	Biopsie Analyse pathologique Typage HLA	507	66/441	14/12	21,7 Âge au moment du diagnostic, année	France, Paris	T.C. Johnson et al, 2004 [348]
Étude prospective transversale	IgG anti-DGP IgA anti-tTG Typage HLA	147	59/88	-	[18,8±1.1]	Chine, Jiangxi	J. Yuan et al, 2017 [349]
-	Histologie Endoscopie Concentration d'IgA, IgG et IgA EmA	151	30/121	16/14	61,5[52-79]	Nerthland, Arnhem	A. Al-Toma, 2006 [350]
Étude de cohorte prospective	Typage HLA Histologie	77	61/16	15/46	36[14-66]	Italy, Bologne	U. Volta, 2015 [351]
Étude rétrospective monocentrique	Biopsie Anticorps anti-Tg2 et/ou EMA IgG (IgG DGP) et/ou IgG anti-transglutaminase tissulaire 2 (IgG anti-Tg2) Endoscopie Typage HLA	223	197/26	76/213	[15-89]	Spain, Madrid	R.R. León et al, 2019 [352]
cohorte	Biopsie Sérologie Typage HLA	2548	1390/1158	1,158 /1,390	[20-97]	Australie, Parkville	R.P. Anderson et al, 2013 [353]
Étude de cohorte	Anti-TTG Génotypage par micropuces Illumina.	557	340/217	345/ 526	[35.34 ± 11.83]	Inde, Delhi	S. Senapati et al, 2016 [354]
rétrospective	Sérologie Histologie Typage HLA	59	34/25	8/26	[38,79±15,84]	Inde, Mumbai	D.N.Amarapurkar et al ,2015 [355]
-	Diagnostic sérologique et histologique Biopsie duodénale IgA, IgG transglutaminase Anticorps anti-TTG, anti-EMA Antigladine	285	94/102	30/64	>18 ans	Turkey Eskişehir	Ş.M. Özgenel et al, 2019 [315]
Étude de cohorte	Anti-IgA, Anti-tTG Endoscopie Biopsie duodénale	25025	613/24339	185/428	17.6 ans	Etats Unis Rochester	J.R. Mills et al, 2020 [316]
Étude cas-témoin	Anti tTG Typage HLA	251	100/151	49/51	[30-35]	Iran Tehran	M. Mansouri et al, 2021 [317]

Étude cas-témoïn	Anti tTG / EMA Histologie	Syrie Damasens	200	100/100	51/49	2021	A. Alhabbal, 2021 [318]
------------------	------------------------------	-------------------	-----	---------	-------	------	-------------------------

Tableau 12 : Résultats de l'évaluation de la qualité à l'aide de QUADAS

	Cerda Contreras [347]	Timothy c. Johnson [348]	Timothy c. Johnson [348]	Juanli Yuan [349]	Abdulbaqui Altoma [350]	Umberto Volta [351]	Raque l Rios Leon [352]	Robert P Andersn [353]	Deepak Amarpukar [355]	Sabyasachi senapati [354]	Şafak Meriç Özgenel [315]	MILLS, John R[316]	Masoume Mansouri [317]	Adel alhabbal [318]
1. L'éventail de patients était-il représentatif des patients qui recevront le test dans la pratique ?	<i>N</i> ²⁴	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
2- Les critères de sélection ont-ils été clairement décrits ?	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
3- La norme de référence est-elle susceptible de classer correctement l'affection cible ?	I	I	I	I	I	I	O	O	I	O	O	O	O	O
4- La période entre la norme de référence et le test d'indice est-elle suffisamment courte pour être raisonnablement sûr que la condition cible n'a	I	O	O	O	I	I	I	O	O	I	I	I	O	O

²⁴ N Non
O Oui
I Inconnu

pas changé entre les deux tests ?

5- être sûr que la condition cible n'a pas changé entre les deux tests ?	<i>O</i>	<i>I</i>	<i>I</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>I</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>
6- L'ensemble de l'échantillon ou une sélection aléatoire de l'échantillon ont-ils été vérifiés à l'aide d'une norme de diagnostic de référence ?	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>
7- La norme de référence était-elle indépendante du test d'indexation (c'est-à-dire que le test d'indexation ne faisait pas partie de la norme de référence) ?	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>
8- L'exécution du test d'indexation a-t-elle été décrite de manière suffisamment détaillée pour permettre la reproduction du test ?	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>	<i>O</i>
9- L'exécution de la norme de référence a-t-elle été décrite de manière	<i>I</i>	<i>I</i>	<i>I</i>	<i>I</i>	<i>I</i>	<i>I</i>	<i>I</i>	<i>I</i>	<i>I</i>	<i>I</i>	<i>I</i>	<i>I</i>	<i>I</i>	<i>I</i>

suffisamment détaillée pour permettre sa reproduction?

10- Les résultats du test d'indexation ont-ils été interprétés sans connaître les résultats du test de référence ?

O O O I I O O I O O O O O O

11- Les résultats de la norme de référence ont-ils été interprétés sans connaître les résultats du test de l'index ?

O O O O O O O O O O O O O O O

12- Les données cliniques disponibles lors de l'interprétation des résultats du test étaient-elles les mêmes que celles qui seraient disponibles lorsque le test est utilisé dans la pratique ?

O O O O O O O O O O O O O O O

13- Les résultats de tests ininterprétables/intermédiaires ont-ils été signalés ?

O O O O O O O O O O O O O O O

14- Les retraits de l'étude ont-ils été expliqués ?

O O O O O O O O O O O O O O O

Tableau 13 : Caractéristiques cliniques de la population

Author	Number of patients CD	Age at diagnosis, yr	Diarrhea	Autoimmune enteropathy	Anemia
E. Cerda-Contreras [347]	30	54.2	1	2	
Timothy c. Johnson [348]	44	46.2	20		
Timothy c. Johnson [348]	66	21.7	59		
Juanli Yuan [349]	59	20.5	7	13	
Abdulbaqui Altoma [350]	30	61.5			
Umberto Volta [351]	61	40	10	22	
Raquel Rios Leon [352]	223	52	86	84	86
Robert p Anderson [353]	2548	58.5	2		
Sabyasachi Senapati [354]	557	35.34	606	6	167
Deepak N Amarapurkar [355]	59	38.79	20		26

Masoume Mansouri [317]	40	22	6	25
------------------------	----	----	---	----

Tableau 14 : Caractéristiques histologiques des patients atteints de MC

Author	Marsh I	Marsh II	Marsh III
Abdulbaqui Altoma [350]	43	43	30
Umberto Volta [351]	46	-	-
Raquel Rios Leon [352]	11	2	276
Sabyasachi Senapati [354]	92	139	640
Deepak N Amarapurkar [355]	31	10	11
Adel alhabbal [337]	3	11	58

Nous avons extrait 30183 informations sur les patients de 13 études. Les références indépendantes de 13 études ont été incluses dans cette étude. La plus grande taille d'échantillon pour l'étude individuelle était $n=25025$, et $n=49$ était la plus petite taille d'échantillon, les autres caractéristiques de l'étude sont résumées dans le tableau 10. Le tableau 10 montre que la majorité des patients atteints de la MC inclus dans l'étude ($42,70 \pm 14,21$) sont des femmes (63 %). Les caractéristiques cliniques (tableau 12) des patients comprenaient l'anémie (70 %), la diarrhée (22 %) et l'entéropathie auto-immune (14 %). La distribution histologique (Tableau 13) des patients atteints de MC était (70%) Marsh I, (15%) Marsh II, 14% pour Marsh I.

Le diagramme forestier (figure 18) montre que les 13 études étaient nécessaires pour la méta-analyse et ont fourni des informations sur la distribution du gène HLA DQ2. Les effets aléatoires de la méta-analyse ont montré que les patients atteints de la maladie cœliaque ont un risque plus élevé d'exprimer le gène HLA DQ2 (OR =2,39 ; IC 95 %, 1,15 à 4,96) ou le risque était significativement plus élevé pour un patient atteint de MC (valeur $p= 0,0190$) selon le modèle des effets aléatoires. Bien que les données de huit études isolées suggèrent que HLADQ2 est un facteur de risque significatif, trois études ont montré qu'il n'est pas significatif, et deux études sont neutres pour les patients atteints de la MC et rapportent que HLADQ2 n'a aucun effet sur la MC. L'effet global était significatif (p -value =0,0190 par le modèle à effets aléatoires P -value < 0,0001 par le modèle à effets fixes) et indiquait un risque plus élevé d'exprimer HLADQ2 chez un patient atteint de la maladie cœliaque. En effet, l'hétérogénéité ($I^2=97\%$) et le test d'hétérogénéité étaient significatifs ($\chi^2=403,21$ $p<0,01$).

La figure 19 montre que les 13 études étaient nécessaires pour la méta-analyse et ont fourni des informations sur la distribution du gène HLA DQ8. Les effets aléatoires de la méta-analyse ont montré que les témoins avaient un risque plus élevé d'exprimer le gène HLA DQ8 (OR=0,99, IC à 95 %, 0,57 à 1,70) ; le risque n'était pas statistiquement significatif (valeur p de 0,9654 selon le modèle des effets aléatoires). Bien que les données de huit études individuelles aient suggéré que le HLADQ8 était un facteur de risque, cinq études ont montré qu'il n'était pas significatif. L'effet global était significatif (valeur $p =0,0001$) selon le modèle à effets fixes et indiquait un risque plus élevé d'exprimer le gène HLADQ8 chez les témoins. De plus, l'hétérogénéité était importante ($I^2=79\%$) et le test d'hétérogénéité était significatif ($\chi^2=61,48$ $p<0,01$).

La figure 20 montre que les taux de HLA-DQ2 et/ou HLA-DQ8 sont élevés chez les patients atteints de la MC par rapport aux témoins. Six études ont suggéré ce facteur de risque tandis que trois études rapportent que HLADQ2 et/ou DQ8 sont plus fréquents chez les patients et deux études rapportent que ce facteur de risque n'a pas d'impact sur les patients atteints de la MC. L'effet global suggère que HLADQ2/DQ8 est plus fréquent chez les patients atteints de la MC que chez les témoins (OR=2.03, 95% CI, 0.67 à 6.14). L'hétérogénéité (I²=97%) et le test d'hétérogénéité étaient significatifs ($\chi^2=440,75$ p<0,01).

En outre, la figure 20 montre que les 13 études étaient nécessaires pour la méta-analyse et ont fourni des informations sur la distribution du gène HLADQ2/ HLADQ8. Les effets aléatoires de la méta-analyse ont montré que les patients atteints de maladie cœliaque ont un risque plus élevé d'exprimer le gène HLA DQ2/DQ8 (OR=1,78, IC 95 %, 0,64 à 4,90) mais ce risque n'était pas statistiquement significatif (valeur p=0,2663 selon le modèle à effets aléatoires). Bien que les données de sept études uniques suggèrent que HLADQ2/HLADQ8 est un facteur de risque significatif, cinq études ont montré qu'il n'est pas significatif, et une seule étude est neutre pour les patients atteints de la MC et affirme que HLADQ2/HLA DQ8 n'a aucun effet sur la MC. L'effet global est significatif (valeur p < 0,0001 selon le modèle à effet fixe) indiquant un risque plus élevé d'exprimer HLADQ2/HLADQ8 chez les patients atteints de la MC. En outre, l'hétérogénéité considérable (I²=97%) et le test d'hétérogénéité étaient significatifs ($\chi^2=402,72$ p<0,01).

De manière intéressante, la figure 21 montre que les 7 études étaient nécessaires pour la méta-analyse et ont fourni des informations sur la distribution de l'allèle HLA DQ2 homozygote. Les effets aléatoires de la méta-analyse ont montré que les patients atteints de maladie cœliaque ont un risque plus élevé d'exprimer l'allèle HLA DQ2 homozygote (OR=1,14, IC 95 %, 0,49 à 4,21) ou le risque était statistiquement significatif (valeur p= 0,1440 selon le modèle à effets aléatoires). Bien que les données de trois études isolées suggèrent que l'allèle HLAQ2 homozygote est un facteur de risque significatif, trois études ont montré qu'il n'est pas significatif, et une seule étude est neutre pour les patients atteints de la MC et affirme que l'allèle HLA DQ2 homozygote n'a aucun effet sur la MC. L'effet global est significatif (valeur p < 0,0001 selon le modèle à effet fixe) et indique un risque plus élevé d'expression homozygote HLADQ2 chez les patients atteints de la MC. En outre, l'hétérogénéité était considérable (I²=98%) et le test d'hétérogénéité était significatif ($\chi^2=287,50$, p<0,01).

En outre, la figure 22 montre que les 7 études étaient requises pour la méta-analyse et ont fourni des informations sur la distribution de l'allèle HLA DQ2 hétérozygote. Les effets aléatoires de la méta-analyse ont montré que les patients atteints de la maladie cœliaque ont un risque d'exprimer l'allèle HLA DQ2 hétérozygote (OR=1,54 ; IC 95 %, 0,86 à 2,73) ou le risque n'était pas statistiquement significatif (valeur $p=0,1440$ dans le modèle à effets aléatoires), mais dans le modèle à effets fixes (valeur $p < 0,0001$). Bien que les données de cinq études isolées suggèrent que l'allèle HLA DQ2 hétérozygote est un facteur de risque significatif, une étude a montré qu'il n'est pas significatif, et une seule étude est neutre pour les patients atteints de la MC et rapporte que l'allèle HLA DQ2 hétérozygote n'a aucun effet sur la MC. De plus, l'hétérogénéité était considérable ($I^2=94\%$) et le test d'hétérogénéité était significatif ($\chi^2=100,15$, $p<0,01$).

La figure 23 montre que les 7 études étaient nécessaires pour la méta-analyse et ont fourni des informations sur la distribution de l'allèle HLA DQ8 hétérozygote. Les effets aléatoires de la méta-analyse ont montré que les témoins avaient un risque plus élevé d'exprimer l'allèle HLA DQ8 hétérozygote (OR=0,79 IC 95 %, 0,33 à 1,88) ou le risque n'était pas statistiquement significatif ($p\text{-value}=0,5999$ selon le modèle à effets aléatoires), cependant, selon le modèle à effets fixes $p\text{-value}=0,0002$. Bien que les données de deux études uniques suggèrent que l'allèle HLA DQ8 hétérozygote est un facteur de risque significatif, trois études ont montré qu'il n'est pas significatif, et deux études sont neutres pour les patients atteints de la MC et rapportent que l'allèle HLA DQ8 hétérozygote n'a aucun effet sur la MC. L'hétérogénéité était significative ($I^2=89\%$) et le test d'hétérogénéité était significatif ($\chi^2=53,96$ $p<0,01$).

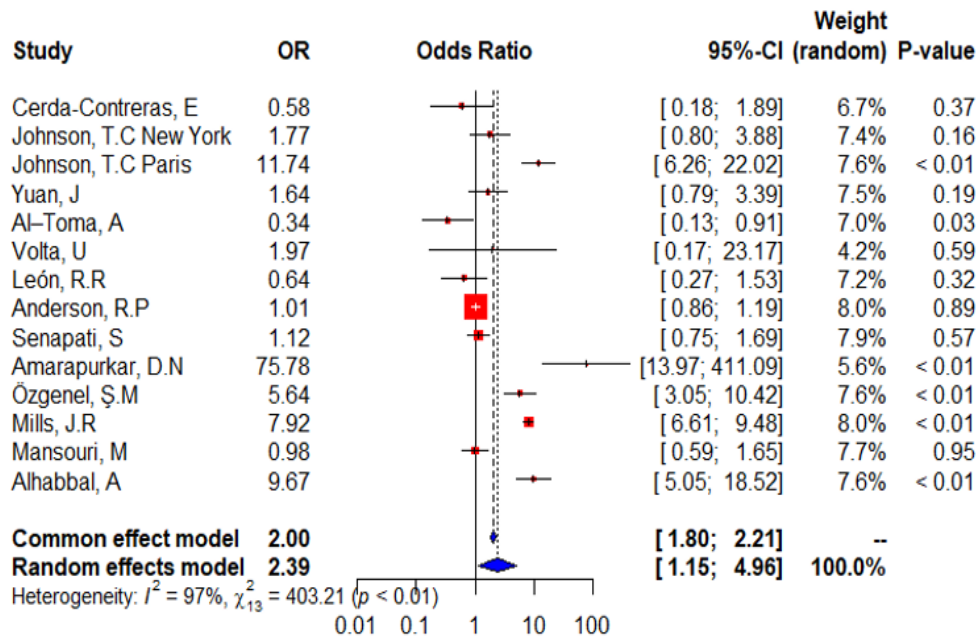


Figure 18 : Représentation graphique de l'analyse du risque de MC chez les patients adultes présentant l'allèle HLA-DQ2.

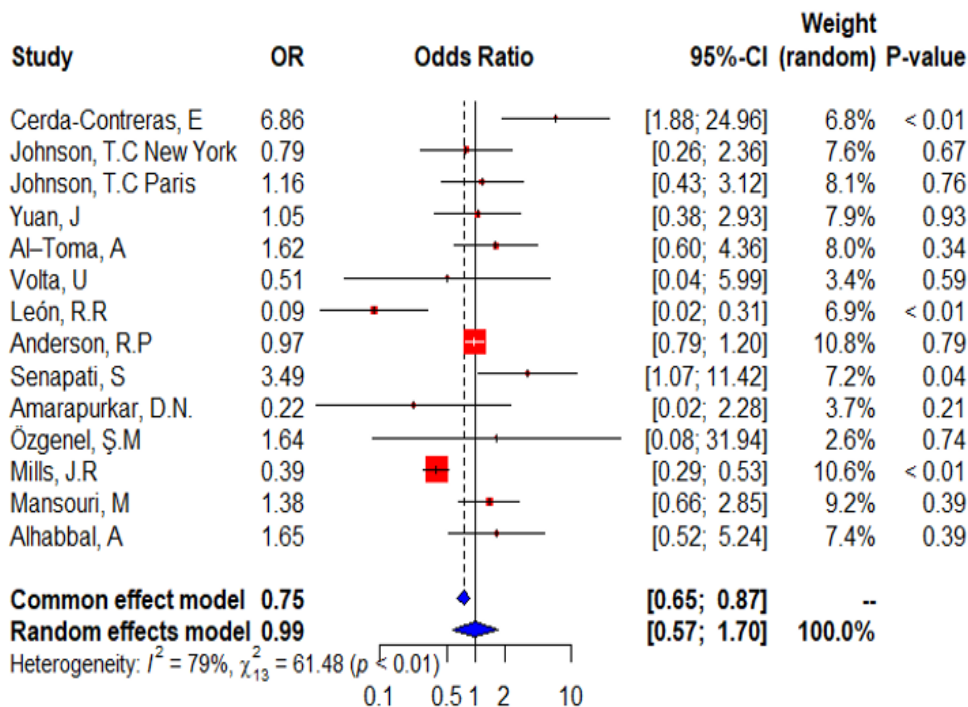


Figure 19 : Représentation graphique de l'analyse du risque de MC chez les patients adultes présentant l'allèle HLA-DQ8.

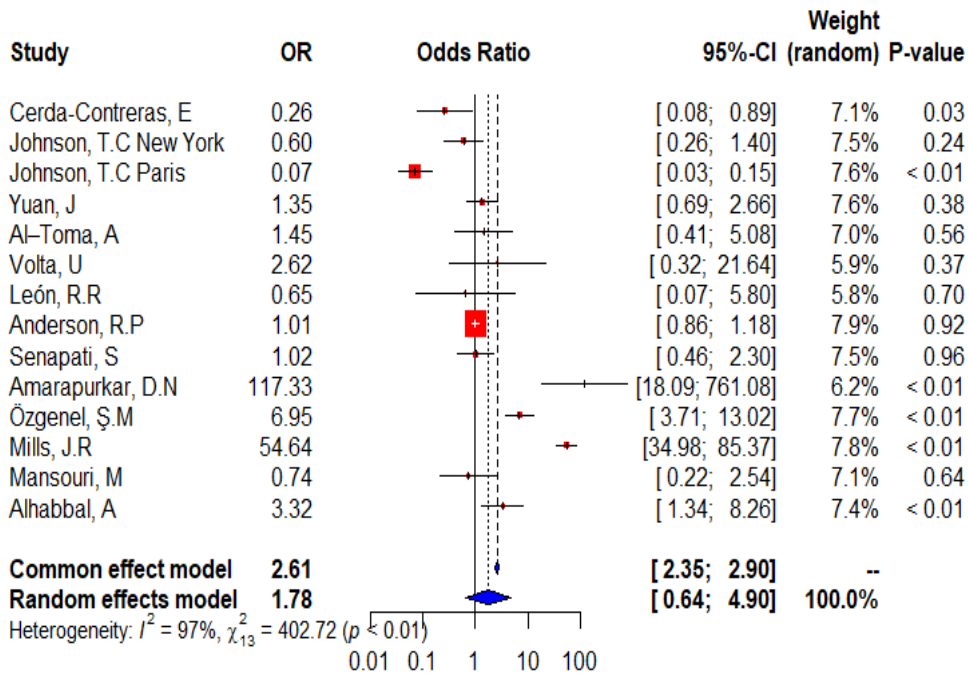


Figure 20 : Représentation graphique de l'analyse du risque de MC chez les patients adultes présentant l'allèle HLADQ2/DQ8.

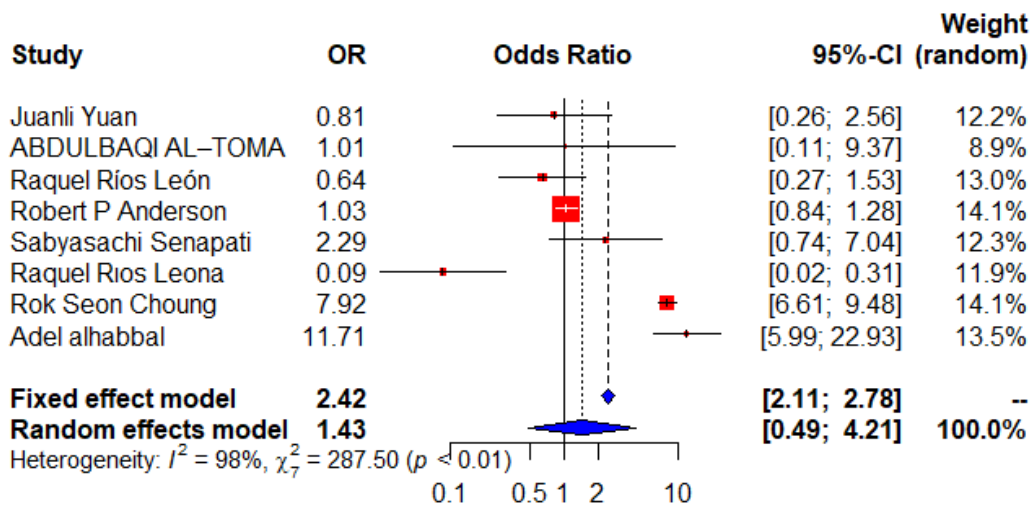


Figure 21 : Représentation graphique de l'analyse du risque de MC chez les patients adultes présentant l'allèle HLADQ2 homozygote.

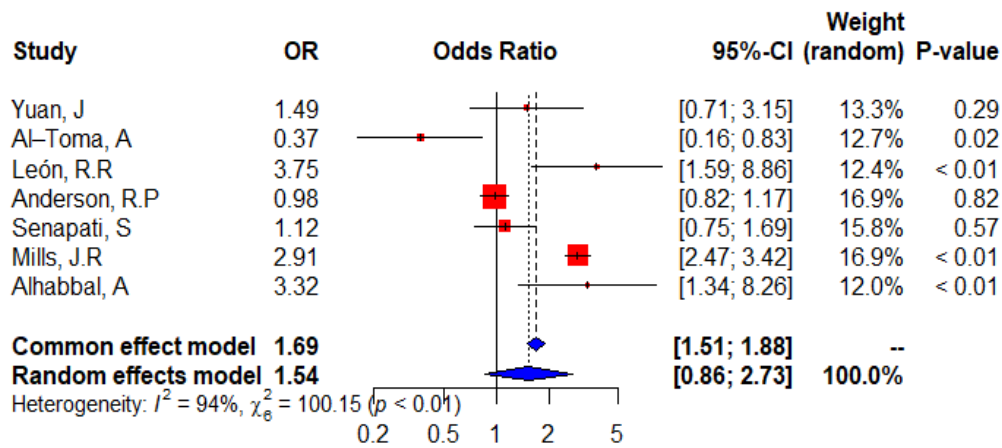


Figure 22 : Représentation graphique de l'analyse du risque de MC chez les patients adultes présentant l'allèle HLADQ2 hétérozygote.

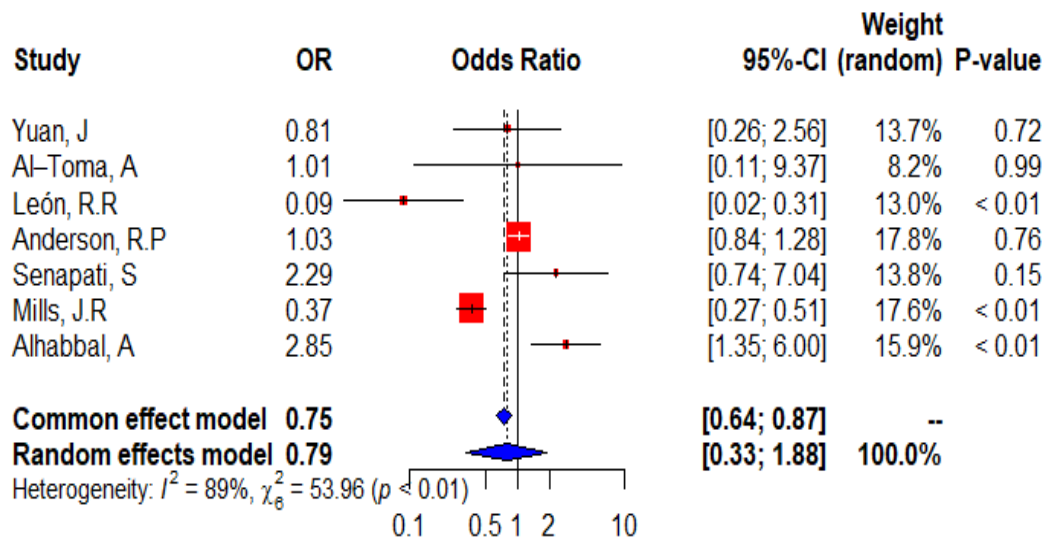


Figure 23 : Représentation graphique de l'analyse du risque de MC chez les patients adultes présentant l'allèle HLADQ2 hétérozygote.

13.7 Discussion de l'étude III: Distribution des gènes HLA DQ2/ HLA DQ8 chez des patients adultes atteints de maladie cœliaque

Cette étude est la première méta-analyse complète des hétérodimères DQ2 et DQ8 prédisposant à la MC qui sont codés par les allèles HLA-DQB1 et HLA-DQA1 chez les adultes atteints de la MC. En effet, elle a fourni 3158 patients adultes atteints de la MC et 26863 témoins pour l'analyse statistique. De nombreux laboratoires commerciaux et universitaires proposent des tests génétiques HLA, qui sont utilisés pour diagnostiquer la maladie cœliaque et trouver des personnes à risque dans les mêmes familles. Le test HLA pour la maladie cœliaque a une faible valeur prédictive positive mais une valeur prédictive négative élevée. Par conséquent, il est crucial pour le médecin praticien de savoir quand demander un test génétique HLA [356]. Chez les personnes symptomatiques qui ont déjà commencé un régime sans gluten, le test HLA peut être utilisé pour exclure pratiquement la maladie cœliaque [357], comme l'ont montré plusieurs chercheurs [358]. Un test HLA peut permettre de préciser le diagnostic. Le test HLA, par exemple, peut être utilisé pour exclure la maladie cœliaque en l'absence de HLA-DQ2 ou DQ8, et nécessiterait des tests supplémentaires si DQ2 ou DQ8 sont découverts, chez les personnes dont les résultats sérologiques ou biopsiques ne sont pas concluants et/ou dont l'élimination du gluten est inadéquate [357,359].

Des données récentes sur les études du microbiome dans la MC montrent l'importance d'un dépistage HLA plus large, car certaines bactéries ont été associées à la MC en l'absence d'allèles de risque HLA classiques. La connaissance du degré de pertinence des associations HLA classiques pourrait être incluse dans les algorithmes d'évaluation du risque dans différentes populations, en tenant également compte d'un éventail plus large d'haplotypes HLA [360].

Nous avons présenté certaines caractéristiques cliniques des patients telles que la diarrhée, l'anémie et l'entéropathie auto-immune. Nous avons présenté certaines caractéristiques cliniques des patients, telles que la diarrhée, l'anémie et l'entéropathie auto-immune. En effet, une étude sur des patients adultes danois atteints de la MC a également révélé que 30 % d'entre eux souffraient d'anémie, ce qui pourrait être le principal symptôme de la MC [361]. D'autre part, Saukkonen et al. ont rapporté que 23% des patients étaient anémiques au moment du diagnostic [361]. Nous avons constaté que la diarrhée constitue un pourcentage (22%) chez les patients adultes atteints de la MC. Parmi ceux-ci, nous avons constaté que la diarrhée constitue le pourcentage le plus élevé (18,6 %) chez les patients adultes atteints de la MC. Certaines

études antérieures [363,364] ont confirmé que la diarrhée est le symptôme le plus fréquent chez les patients adultes atteints de la MC [364]. Cependant, la présence de symptômes extra-intestinaux et de formes cliniques atypiques est très fréquente et explique les nombreux cas non diagnostiqués. Dans cette optique, l'identification des haplotypes de risque HLA dans les populations pourrait être l'une des principales questions à prendre en compte pour prédire le risque cœliaque et exclure le diagnostic de la MC chez les individus. Concernant l'entéropathie auto-immune présente un pourcentage (14%) dans cette étude est d'ailleurs une étude a montré que cette dernière constitue une cause rare de diarrhée réfractaire en présence d'auto-anticorps dans le sérum et d'entéropathie de l'intestin grêle [365,366]. La répartition histologique (tableau 4) des patients atteints de MC était la suivante : 70 % pour Marsh I, 15 % pour Marsh II et 14 % pour Marsh III. La classification de Marsh-Oberhuber modifiée peut être utilisée pour classer les caractéristiques histologiques associées à la MC [367]. Nos résultats indiquent que la majorité des patients adultes présentent un marsh I ; cependant, une étude récente réalisée sur une population adulte chinoise a montré que parmi 69 patients atteints de la MC, 9 avaient un grade de Marsh I et 50 un grade de Marsh ≥ 2 . Les résultats histologiques de la MC comprenaient une atrophie villositaire totale, une augmentation des lymphocytes intraépithéliaux et une hyperplasie cryptique [368]. Nous avons observé que le risque de contracter la MC chez les personnes atteintes de la DQ2, qui est codée par les allèles HLA-DQA1*05 et DQB1*02, a été généralement vérifié. C'est la conclusion à laquelle nous sommes arrivés après avoir effectué nos recherches. Selon les résultats de cette étude, le rapport de cotes pour la double dose de HLA-DQB1*02 chez les patients adultes atteints de la MC était significativement plus élevé que chez les témoins (OR=2,39) (p-value=0,0190 selon le modèle à effet aléatoire) (p-value<0. 0001 selon le modèle à effet fixe), et le rapport de cotes pour la dose unique de HLA-DQB1*02 chez les patients adultes atteints de la MC était également relativement plus élevé par rapport aux témoins (OR=2,14). Cependant, ces résultats n'étaient pas significatifs selon la p-value=0,1440 du modèle à effet aléatoire, le modèle à effet fixe montre une p-value significative =0,0001. Ce résultat est similaire à celui de [369]. Il a montré que le fait d'avoir un dosage double de l'allèle HLA-DQB1*02 était lié à un odds ratio de plus de cinq pour le développement de la MC juvénile, indépendamment de la présence d'autres allèles HLA-DQ. De plus, même une seule "dose" de HLA-DQB1*02 était liée à un risque assez important de développer la maladie (OR d'environ 4). Les gènes HLA-DQA1 et HLA-DQB1, qui sont responsables du codage de HLA-DQ2 et HLA-DQ8, sont les principaux facteurs génétiques qui déterminent la susceptibilité d'une personne à la maladie [370]. 69,5 %

des patients iraniens atteints de la maladie de Creutzfeldt-Jakob [371], au Brésil, 75 patients atteints de la maladie de Creutzfeldt-Jakob étaient porteurs du gène HLA-DQ2, 6 % [5] des patients atteints de la maladie de Creutzfeldt-Jakob étaient susceptibles d'exprimer l'hétérodimère DQ (A1*0501, B1*0201), soit 91 % au Royaume-Uni, 87 % à Rome (Italie) et 82 % à Bologne (Italie) [372]. Une fréquence significative des allèles HLA-DQ2/DQ8 a également été trouvée dans la FDR des patients atteints de la MC, selon une recherche antérieure [373]. Dans un examen transversal mené au Brésil, HLA-DQ2/DQ8 a été trouvé chez 98,4 % des personnes atteintes de la maladie cœliaque, 89,6 % des personnes dont la famille était atteinte de la maladie cœliaque et 55,4 % des personnes de la population générale qui n'étaient pas atteintes de la maladie cœliaque familiale [374]. Récemment, et al ont montré que les patients HLA-DQ2/DQ8 représentent un taux de 73,4 % [317].

Il a été démontré que la variation HLA-DQ2 était plus fréquente chez les patients atteints de la MC dans la communauté arabe. En effet, l'allèle DQB1*02 était présent chez 84,6 % des Palestiniens, 77,42 % des Égyptiens et 45,2 % des Marocains atteints de la maladie cœliaque. En outre, 48,0 % du groupe anti-TTG positif en Libye était homozygote pour le gène HLA-DQ2, et il en allait de même pour le Royaume d'Arabie saoudite. 52,7 % des individus ont été testés positifs pour les molécules HLA-DQ qui sont liées à la MC DQ2 ou DQ8 [371,373-376].

L'étude de l'homozygotie DQB1*02 est importante car la double dose de cet allèle est liée au développement précoce de cette pathologie ainsi qu'à une augmentation des taux d'anti-TTG, de la sévérité et des complications [377-379].

Les différences entre les études trouvées dans cette méta-analyse pourraient être dues à des différences dans les fréquences des haplotypes HLA dans les populations analysées. Les études sur la fréquence de différents loci génétiques et traits anthropologiques illustrent clairement la barrière géographique et génétique entre les Européens et les Asiatiques dans le nord-ouest de la Chine. Parmi les nombreuses communautés chinoises, la population du nord-ouest est plus étroitement liée aux Européens que les autres populations du sud de la Chine [380-382]. Cette hétérogénéité significative des fréquences génétiques constatée par les études peut également être due aux différents nombres de participants et à la variance de la précision associée aux différentes méthodes utilisées pour le typage HLA de classe II (telles que PCR-SSO, PCR-RFLP, PCR-SSP et PCR-SBT) [383]. Chez les patients adultes atteints de la MC, la fréquence de HLA DQ8 est plus faible que chez les témoins (OR=0.79) ; la p-value =0.5999 selon le

modèle à effet aléatoire n'est pas statistiquement significative mais selon l'effet fixe la p-value=0.0002 est significative. Ces résultats sont en accord avec le risque plus faible du variant DQ8 précédemment décrit chez les patients marocains et libyens en raison de la fréquence plus élevée de DQ8 chez les témoins [376]. Dans la population européenne, la fréquence de cette variante est de 17,8 % chez les patients atteints de la MC [347]. La fréquence de la variante HLA DQ2 est de 90 %, tandis que la fréquence de la variante HLA DQ8 se situe entre 5 et 10 % [379]. L'haplotype HLA-DQ8 (10,2%) se trouve parmi les parents au premier degré (FDR) avec l'haplotype hétérozygote HLADQ8 ; 9,4% étaient hétérozygotes HLA-DQ8. Cependant, un seul FDR était homozygote HLA-DQ8 (0,08 %) [384].

Dans notre analyse, l'hétérozygotie DQ8 n'a pas augmenté le risque de MC. Une recherche cas-témoins dans la population arabe a appuyé ces résultats, montrant que la fréquence de l'hétérozygotie HLADQ8 était identique chez les cas et les témoins, et représentait donc un risque pour la population générale (1:70-79 contre 1:67 dans la population générale) [384].

Dans notre analyse, l'hétérozygotie DQ8 n'a pas augmenté le risque de MC ; ce résultat corrobore l'observation précédente selon laquelle les porteurs du génotype DQ8 hétérozygote (2,11 %) ont une EMA plus faible que les personnes cœliaques homozygotes DQ8 (8,42 %) [385]. Le statut HLA DQ2 et/ou HLADQ8 des patients cœliaques adultes était plus élevé que celui des témoins. En effet, nos résultats sont conformes à ceux d'autres études brésiliennes menées dans le passé ; les génotypes DQ2 et DQ8 ont été trouvés chez 93,2 % des patients cœliaques dans la région nord-est du pays [386]. Ces résultats étaient similaires à ceux obtenus par Cecilio et Bonatto [374], qui ont émis l'hypothèse que les individus atteints de la maladie cœliaque avaient une fréquence de HLA DQ2/DQ8 de 98,4 % et 89,6 % des parents de patients cœliaques [374]. Comme dans une autre étude en Espagne, les patients cœliaques positifs pour les variants HLADQ2 /HLADQ8 étaient 98% contre 49,1% de témoins non malades ($p < 0,001$, OR : 51,57) [387]. Dans les figures 2 et 4, les deux études indiennes concordent avec la direction (bien que leur signification soit différente), alors que dans la figure 3, les deux études ont des effets différents, en effet récemment dans la population générale indigène du sud de l'Inde, la prévalence de HLA-DQ8 est plus élevée que la prévalence de HLA-DQ2. Ce résultat pourrait être lié à l'introduction tardive du blé dans le régime alimentaire de la population du sud de l'Inde [388].

La population européenne a montré des différences dans l'effet et la signification, cette différence pourrait être due à des combinaisons de facteurs génétiques et environnementaux liés à la population. De nombreuses questions sont encore ouvertes concernant le rôle et les interactions entre les facteurs génétiques et environnementaux dans le développement de la MC. Les facteurs environnementaux sont principalement associés à l'introduction du gluten (moment, quantité, allaitement, etc.) [136]. La population asiatique a montré des effets similaires dans l'effet et la signification (figure 2,3,4), la MC est émergente dans de nombreux pays asiatiques, En outre, l'Association Asie-Pacifique pour la gastroentérologie a établi un groupe de travail officiel sur la maladie cœliaque pour mener des recherches pertinentes afin de réduire le fardeau de la DAC en Asie [389], et la population américaine a montré le même effet et la signification (figure 2,3) qui est différente de celle de l'Amérique du Nord cela pourrait être dû à la différence environnementale entre l'Amérique du Nord et du Sud.

Le génotypage HLA-DQ complet pourrait être conservé pour les adultes présentant une suspicion clinique (les symptômes les plus fréquents chez les patients adultes atteints de la MC sont la diarrhée et l'entéropathie auto-immune ; les résultats histologiques ont montré que la majorité des patients adultes atteints de la MC ont le Marsh I dans leur muqueuse intestinale). Cependant, un grand nombre de cas non détectés pourraient être attribués à des symptômes extra-intestinaux de présentations cliniques inhabituelles. Les travaux récents de Verma et al. ont présenté une méthode rapide de typage HLA-DQ pour identifier les patients atteints de la MC qui possèdent les gènes de susceptibilité. Les chercheurs ont essentiellement effectué une réaction en chaîne par polymérase (PCR) sur des échantillons de sang provenant de patients atteints de la MC, de FDR et de témoins en utilisant un kit contenant des amorces pour les allèles cibles HLA-DQ exclusivement. En termes de présence ou d'absence des allèles HLA-DQ2 et HLA-DQ8, ils ont pu présenter une bonne concordance avec les résultats obtenus par le typage HLA-DQ traditionnel à haute résolution [390]. Bien que la MC ait fait l'objet de nombreuses recherches et ait été caractérisée en Occident, il est encore difficile de poser un diagnostic fondé sur des preuves dans de nombreux pays en développement en raison d'obstacles dans le système de santé [391-393]. La détermination du risque génétique de maladie cœliaque à un stade précoce de la vie peut permettre une surveillance ultérieure des anticorps chez les personnes très âgées [394].

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

La MC est une entéropathie auto-immune induite par l'ingestion de gluten chez des sujets génétiquement prédisposés. Aussi appelée sprue cœliaque touchant de nos jours 1% de la population occidentale. Problème de santé public en expansion, la maladie cœliaque entraîne une morbi-mortalité non négligeable et perturbe la qualité de vie des malades.

L'âge le plus jeune auquel la maladie s'est manifestée est de 1 à 2 ans (la période où le gluten a été introduit dans l'alimentation). Cependant, la maladie se développe à l'âge adulte et à un âge plus avancé. Toutefois, cela peut être dû au développement asymptomatique de la maladie. Les symptômes classiques, associés aux problèmes gastro-intestinaux - douleurs abdominales, selles malodorantes, diarrhée ou constipation, et même un ventre gonflé [395]. Mais il est aussi possible que la maladie se manifeste sous la forme de complications dues à la malabsorption, à la mauvaise absorption des aliments, un manque de minéraux et de vitamines. Habituellement, il s'agit d'une perte de poids, d'un ralentissement de la croissance, de l'irritabilité, de la fatigue et de l'apathie [395]. Cependant, les symptômes de la maladie cœliaque ne sont pas toujours le résultat d'une déformation des villosités sur les parois de l'intestin grêle. De nombreux chercheurs notent dans leurs travaux que les symptômes ont été imités pour d'autres maladies. Ainsi, par exemple, une éruption sur la peau ne peut pas toujours être associée à un dysfonctionnement des intestins. Cependant, une mauvaise absorption des nutriments dans les intestins peut provoquer une sécheresse de la peau et, par conséquent, des éruptions cutanées. Un neurologue traitera les crises ou la marche instable (ataxie), mais ne sera pas toujours en mesure de découvrir une raison évidente pour cet épisode, car l'électroencéphalogramme du patient ne montre pas de signes de troubles cérébraux.

Le polymorphisme de CD1 peut avoir une importance fonctionnelle compte tenu de l'emplacement des substitutions d'acides aminés, la présentation et la reconnaissance des glycolipides par les cellules T

CD1 définissent un type différent (autre que le CMH) de reconnaissance immunitaire et fournissent de nouveaux mécanismes pour les réponses de l'hôte aux infections microbiennes, au cancer et à l'auto-immunité [396]. Certaines études ont démontré que les variants polymorphes des molécules CD1 pourraient contribuer au déclenchement de processus neuroinflammatoires et que la molécule CD1 peut être impliquée dans la pathogenèse des infections mycobactériennes [397].

A l'heure actuelle, la maladie cœliaque ne semble pas avoir encore livré tous ses secrets. En effet, nous connaissons dorénavant le mécanisme immunologique, néanmoins la question de la prédisposition génétique reste imprécise en raison de l'implication supposée des gènes HLA et non HLA. Notre étude suggère que les gènes CD1 pourraient être impliqués dans la prédisposition de la MC dans la population marocaine et ajoute la nouvelle hypothèse d'un rôle de CD1E dans la MC. D'autres études dans d'autres groupes ethniques et sur des échantillons de plus grande taille sont nécessaires pour confirmer un lien pathogène entre les gènes CD1 et la MC.

Les résultats obtenus ont confirmé que DQ2 est le principal allèle associé à la MC en raison de sa fréquence élevée chez les patients adultes. Par conséquent, le statut homozygote et hétérozygote de HLADQ2 est présent avec une fréquence accrue chez la plupart des patients adultes. La nature hautement immune dominante et résistante aux protéases des peptides de gliadine pourrait contribuer à expliquer la forte association de HLA-DQ2 avec la maladie cœliaque. Cependant, une analyse détaillée du CMH chez les patients Coeliaque DQ2-négatifs devrait permettre de mieux comprendre les gènes de susceptibilité à la MC en association avec d'autres facteurs tel que les facteurs environnementaux.

L'exclusion à vie du gluten de l'alimentation quotidienne est, à ce jour, le traitement consolidé pour la maladie cœliaque. Un régime strict sans gluten est cependant difficile à suivre, en particulier lors d'événements sociaux et de voyages et chez les adolescents, dont l'observance est moins satisfaisante. En outre, l'utilisation généralisée du gluten comme additif dans les industries alimentaires est souvent responsable de la contamination des repas et de l'exposition accidentelle au gluten. Pour trouver une alternative au régime sans gluten, plusieurs recherches sont actuellement axées sur la prévention de la cascade inflammatoire activée par le gluten chez les patients atteints de la maladie cœliaque. Les stratégies visent à réduire la charge de séquences immunotoxiques du gluten dans le tractus luminal, ou à restaurer la tolérance orale grâce à des anticorps monoclonaux contre les cytokines inflammatoires et les lymphocytes T, et des médicaments immunomodulateurs [398].

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Caio, G., Volta, U., Sapone, A., Leffler, D. A., De Giorgio, R., Catassi, C., & Fasano, A. (2019). Celiac disease: a comprehensive current review. *BMC medicine*, 17(1), 1-20.
- [2] Chachu, K. A., & Osterman, M. T. (2016). How to diagnose and treat IBD mimics in the refractory IBD patient who does not have IBD. *Inflammatory Bowel Diseases*, 22(5), 1262-1274.
- [3] Barada K, Bitar A, Mokadem MA, Hashash JG, Green P. (2010) Celiac disease in Middle Eastern and North African countries: a new burden? *World J Gastroenterol*, 16:1449–1457.
- [4] Siddiqui, K., Uqaili, A. A., Rafiq, M., & Bhutto, M. A. (2021). Human leukocyte antigen (HLA) DQ2 and-DQ8 haplotypes in celiac, celiac with type 1 diabetic, and celiac suspected pediatric cases. *Medicine*, 100(11).
- [5] Aureli, A., Aboulaghras, S., Oumhani, K., Del Beato, T., Sebastiani, P., Colanardi, A., & Piancatelli, D. (2020). CD1 gene polymorphism and susceptibility to celiac disease: Association of CD1E* 02/02 in Moroccans. *Human Immunology*, 81(7), 361-365.
- [6] James MW, Scott BB. Coeliac disease: the cause of the various associated disorders? (2010) *Eur J Gastroenterol Hepatol*,13:1119–1121.
- [7] Catassi C, Ratsch IM, Fabiani E, Rossini M, Bordicchia F, Candela F, Coppa GV, Giorgi PL (1994). Coeliac disease in the year 2000: exploring the iceberg. *Lancet*, 343:200–203.
- [8] Green PH, Jabri B. (2003). Coeliac disease. *Lancet*,362:383–391.
- [9] Rubio-Tapia, A., Ludvigsson, J. F., Brantner, T. L., Murray, J. A., & Everhart, J. E. (2012). The prevalence of celiac disease in the United States. *Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG*, 107(10), 1538-1544.
- [10] Ludvigsson, J. F., Montgomery, S. M., Ekbo, A., Brandt, L., & Granath, F. (2009). Small-intestinal histopathology and mortality risk in celiac disease. *Jama*, 302(11), 1171-1178.
- [11] de Prehistorie Generale, F. R. M. (1958). Payor.
- [12] Fasano A, Catassi C. (2001) Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolvine spectrum. *Gastroenterology* 120:636–51.
- [13] Adams, F. (Ed.). (1856). *The extant works of aretaeus: the cappadocian* (Vol. 27). Sydenham Society.
- [14] Gee S. (1988) On the coeliac disease. *St Bart Hosp Rep*. 24:17–20.

- [15] Dicke WK, Weijers HA, van de Kamer JH. (1953). Coeliac disease. II. The presence in wheat of a factor having a deleterious effect in cases of coeliac disease. *Acta Paediatr.* 42:34–42.
- [16] Cataldo, F., & Montalto, G. (2007). Celiac disease in the developing countries: a new and challenging public health problem. *World journal of gastroenterology: WJG*, 13(15), 2153.
- [17] Paveley, W. F. (1988). From Aretaeus to Crosby: a history of coeliac disease. *BMJ: British Medical Journal*, 297(6664), 1646.
- [18] Losowsky, M. S. (2008). A history of coeliac disease. *Digestive diseases*, 26(2), 112-120.
- [19] Walker-Smith, J. A. (1997). historic notes in pediatric gastroenterology*: Margot Shiner, Coeliac Disease and Small Intestinal Biopsy in Childhood. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 25(3), 316.
- [20] Simoons, FJ. (1981). Coeliac disease as a geographic problem. In: Walcher DN, Kretchmer N, editors. *Food, nutrition and evolution*. New York: Masson, p. 179–99.
- [21] Auricchio, S., & Troncone, R. (1996). History of coeliac disease. *European journal of pediatrics*, 155(6), 427.
- [22] Dieterich, W., Ehnis, T., Bauer, M., Donner, P., Volta, U., Riecken, E. O., & Schuppan, D. (1997). Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nature medicine*, 3(7), 797-801.
- [23] Green, P. H., Krishnareddy, S., & Lebwohl, B. (2015). Clinical manifestations of celiac disease. *Digestive Diseases*, 33(2), 137-140.
- [24] A. Rubio-Tapia, R.A. Kyle, E.L. Kaplan, D.R. Johnson, W. Page, F. Erdtmann, et al. (2009) Increased prevalence and mortality in undiagnosed celiac disease *Gastroenterology*, 137 pp. 88-93.
- [25] G.K. Makharia, C.J. Mulder, K.L. Goh, V. Ahuja, J.C. Bai, C. Catassi, et al. (2014) Issues associated with the emergence of coeliac disease in the Asia–Pacific region: a working party report of the World Gastroenterology Organization and the Asian Pacific Association of Gastroenterology *J Gastroenterol Hepatol*, 29 pp. 666-677.
- [26] Lohi S, Mustalahti K, Kaukinen K, et al. (2007) Increasing prevalence of coeliac disease over time. *Aliment Pharmacol Ther.* 26:1217–25.
- [27] J. West, R.F. Logan, P.G. Hill, A. Lloyd, S. Lewis, R. Hubbard, et al. (2003). Seroprevalence, correlates, and characteristics of undetected coeliac disease in England *Gut*, 52 pp. 960-965.
- [28] Gandolfi L, Pratesi R, Cordoba JC, Tauil PL, Gasparin M, Catassi C. (2000). Prevalence of CD among blood donors in Brazil. *Am J Gastroenterol.*95:689–692.
- [29] Oliveira RP, Sdepanian VL, Barreto JA, et al. (2007). High prevalence of CD in Brazilian blood donor volunteers based on screening by IgA antitissue transglutaminase antibody. *Eur J Gastroenterol Hepatol.*19:43–49.
- [30] Weile B, Grodzinsky E, Skogh T, Jordal R, Cavell B, Krasilnikoff PA. (1996). Screening of Danish blood donors for antigliadin and antiendomysium antibodies. *Acta Pédiatre Suppl.* 412:46.

- [31] Rostami, K., Mulder, C. J. J., Werre, J. M., Van Beukelen, F. R., Kerckhaert, J., Crusius, J. B. A., ... & Meijer, J. W. R. (1999). High prevalence of celiac disease in apparently healthy blood donors suggests a high prevalence of undiagnosed celiac disease in the Dutch population. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 34(3), 276-279.
- [32] Shamir, R., Lerner, A., Shinar, E., Lahat, N., Sobel, E., Bar-or, R., & Eliakim, R. (2002). The use of a single serological marker underestimates the prevalence of celiac disease in Israel: a study of blood donors. *The American journal of gastroenterology*, 97(10), 2589-2594.
- [33] Abu-Zekry M, Kryszak D, Diab M, Catassi C, Fasano A. (2008). Prevalence of CD in Egyptian children disputes the east-west agriculture-dependent spread of the disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.*47:136–140.
- [34] Alarida, K., Harown, J., Ahmaida, A., Marinelli, L., Venturini, C., Kodermaz, G., & Catassi, C. (2011). Coeliac disease in Libyan children: a screening study based on the rapid determination of anti-transglutaminase antibodies. *Digestive and Liver Disease*, 43(9), 688-691.
- [35] Ben Hariz M, Kallel-Sellami M, Kallel L, et al. (2007) Prevalence of CD in Tunisia: mass screening study in schoolchildren. *Eur J Gastroenterol Hepatol.*19:687–694.
- [36] Imanzadeh, F., Sayyari, A. A., Yaghoobi, M., Akbari, M. R., Shafagh, H., & Farsar, A. R. (2005). Celiac disease in children with diarrhea is more frequent than previously suspected. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 40(3), 309-311.
- [37] Ertekin, V., Selimoglu, M. A., Kardas, F., & Aktas, E. (2005). Prevalence of celiac disease in Turkish children. *Journal of clinical gastroenterology*, 39(8), 689-691.
- [38] Sood, A., Midha, V., Sood, N., Avasthi, G., & Sehgal, A. (2006). Prevalence of celiac disease among school children in Punjab, North India. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 21(10), 1622-1625.
- [39] Collin, P., Vilppula, A., Luostarinen, L., Holmes, G. K. T., & Kaukinen, K. (2018). Coeliac disease in later life must not be missed. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 47(5), 563-572.
- [40] Catassi, C., Kryszak, D., Bhatti, B., Sturgeon, C., Helzlsouer, K., Clipp, S. L., & Fasano, A. (2010). Natural history of celiac disease autoimmunity in a USA cohort followed since 1974. *Annals of medicine*, 42(7), 530-538.
- [41] Liu, E., Dong, F., Barón, A. E., Taki, I., Norris, J. M., Frohnert, B. I., & Rewers, M. (2017). High incidence of celiac disease in a long-term study of adolescents with susceptibility genotypes. *Gastroenterology*, 152(6), 1329-1336.
- [42] Aronsson, C. A., Lee, H. S., af Segerstad, E. M. H., Uusitalo, U., Yang, J., Koletzko, S., & TEDDY Study Group. (2019). Association of gluten intake during the first 5 years of life with incidence of celiac disease autoimmunity and celiac disease among children at increased risk. *Jama*, 322(6), 514-523.
- [43] Catassi, C., Gatti, S., & Fasano, A. (2014). The new epidemiology of celiac disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 59, S7-S9.
- [44] Lebwohl, B., & Rubio-Tapia, A. (2021). Epidemiology, presentation, and diagnosis of celiac disease. *Gastroenterology*, 160(1), 63-75.

- [45] Lionetti, E., & Catassi, C. (2014). Co-localization of gluten consumption and HLA-DQ2 and-DQ8 genotypes, a clue to the history of celiac disease. *Digestive and Liver Disease*, 46(12), 1057-1063.
- [46] King, J. A., Jeong, J., Underwood, F. E., Quan, J., Panaccione, N., Windsor, J. W., & Kaplan, G. G. (2020). Incidence of celiac disease is increasing over time: a systematic review and meta-analysis. *Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG*, 115(4), 507-525.
- [47] Ludvigsson, J. F., Rubio-Tapia, A., Van Dyke, C. T., Melton III, L. J., Zinsmeister, A. R., Lahr, B. D., & Murray, J. A. (2013). Increasing incidence of celiac disease in a North American population. *The American journal of gastroenterology*, 108(5), 818.
- [48] Cataldo, F., & Montalto, G. (2007). Celiac disease in the developing countries: a new and challenging public health problem. *World journal of gastroenterology: WJG*, 13(15), 2153.
- [49] Malekzadeh, R., Sachdev, A., & Ali, A. F. (2005). Coeliac disease in developing countries: middle East, India and North Africa. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 19(3), 351-358.
- [50] Lionetti, E., & Catassi, C. (2011). New clues in celiac disease epidemiology, pathogenesis, clinical manifestations, and treatment. *International reviews of immunology*, 30(4), 219-231.
- [51] Catassi, C., Doloretta Macis, M., Räscht, I. M., De Virgiliis, S., & Cucca, F. (2001). The distribution of DQ genes in the Saharawi population provides only a partial explanation for the high celiac disease prevalence. *Tissue Antigens*, 58(6), 402-406.
- [52] Catassi, C., Ratsch, I. M., Gandolfi, L., Pratesi, R., Fabiani, E., El Asmar, R., & Vizzoni, L. (1999). Why is coeliac disease endemic in the people of the Sahara?. *The Lancet*, 354(9179), 647-648.
- [53] Cataldo, F., & Montalto, G. (2007). Celiac disease in the developing countries: a new and challenging public health problem. *World journal of gastroenterology: WJG*, 13(15), 2153.
- [54] King, J. A., Jeong, J., Underwood, F. E., Quan, J., Panaccione, N., Windsor, J. W., & Kaplan, G. G. (2020). Incidence of celiac disease is increasing over time: a systematic review and meta-analysis. *Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG*, 115(4), 507-525.
- [55] Jansson-Knodell, C. L., Hujoel, I. A., West, C. P., Taneja, V., Prokop, L. J., Rubio-Tapia, A., & Murray, J. A. (2019). Sex difference in celiac disease in undiagnosed populations: a systematic review and meta-analysis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 17(10), 1954-1968.
- [56] Rubio-Tapia, A., Kyle, R. A., Kaplan, E. L., Johnson, D. R., Page, W., Erdtmann, F., & Murray, J. A. (2009). Increased prevalence and mortality in undiagnosed celiac disease. *Gastroenterology*, 137(1), 88-93.
- [57] Katz, K. D., Rashtak, S., Lahr, B. D., Melton III, L. J., Krause, P. K., Maggi, K., & Murray, J. A. (2011). Screening for celiac disease in a North American population: sequential serology and gastrointestinal symptoms. *The American journal of gastroenterology*, 106(7), 1333.
- [58] Lebwohl, B., Tennyson, C. A., Holub, J. L., Lieberman, D. A., Neugut, A. I., & Green, P. H. (2012). Sex and racial disparities in duodenal biopsy to evaluate for celiac disease. *Gastrointestinal endoscopy*, 76(4), 779-785.
- [59] Barker, J. M., & Liu, E. (2008). Celiac disease: pathophysiology, clinical manifestations, and associated autoimmune conditions. *Advances in pediatrics*, 55(1), 349-365.

- [60] Fasano, A. (2003). European and North American populations should be screened for coeliac disease. *Gut*, 52(2), 168-169.
- [61] Dubois, P. C., & Van Heel, D. A. (2008). Translational mini-review series on the immunogenetics of gut disease: immunogenetics of coeliac disease. *Clinical & Experimental Immunology*, 153(2), 162-173.
- [62] Hunt, K. A., Zhernakova, A., Turner, G., Heap, G. A., Franke, L., Bruinenberg, M., & Van Heel, D. A. (2008). Newly identified genetic risk variants for celiac disease related to the immune response. *Nature genetics*, 40(4), 395-402.
- [63] Van Heel, D. A., Franke, L., Hunt, K. A., Gwilliam, R., Zhernakova, A., Inouye, M., & Wijmenga, C. (2007). A genome-wide association study for celiac disease identifies risk variants in the region harboring IL2 and IL21. *Nature genetics*, 39(7), 827-829.
- [64] Trynka, G., Zhernakova, A., Romanos, J., Franke, L., Hunt, K. A., Turner, G., & Wijmenga, C. (2009). Coeliac disease-associated risk variants in TNFAIP3 and REL implicate altered NF- κ B signalling. *Gut*, 58(8), 1078-1083.
- [65] Karell, K., Louka, A. S., Moodie, S. J., Ascher, H., Clot, F., Greco, L., & European Genetics Cluster on Celiac Disease. (2003). HLA types in celiac disease patients not carrying the DQA1* 05-DQB1* 02 (DQ2) heterodimer: results from the European Genetics Cluster on Celiac Disease. *Human immunology*, 64(4), 469-477.
- [66] Fassano, A., & Catassi, C. (2012). Celiac disease. *N Engl J Med*, 367(25), 2419-26.
- [67] Meresse, B., Ripoche, J., Heyman, M., Cerf-Bensussan, N., 2009. Celiac disease: from oral tolerance to intestinal inflammation, autoimmunity and lymphomagenesis. *Mucosal Immunol.* 2, 8–23.
- [68] Hausch, F., Shan, L., Santiago, N.A., Gray, G.M., Khosla, C., 2002. Intestinal digestive resistance of immunodominant gliadin peptides. *Am. J. Physiol.-Gastrointest. Liver Physiol.*
- [69] Shan, L., Molberg, Ø., Parrot, I., Hausch, F., Filiz, F., Gray, G.M., Sollid, L.M., Khosla, C., 2002. Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Science* 297, 2275–2279.
- [70] Dessì, M., Noce, A., Vergovich, S., Noce, G., Di Daniele, N., 2013. Safety food in celiac disease patients: a systematic review. *Food Nutr. Sci.* 4, 55.
- [71] Green, P.H., Cellier, C., 2007. Celiac disease. *N. Engl. J. Med.* 357, 1731–1743.
- [72] Carroccio, A., Di Prima, L., Noto, D., Fayer, F., Ambrosiano, G., Villanacci, V., Lammers, K., Lafiandra, D., De Ambrogio, E., Di Fede, G., 2011. Searching for wheat plants with low toxicity in celiac disease: between direct toxicity and immunologic activation. *Dig. Liver Dis.* 43, 34–39.
- [73] Waga, J., 2004. Structure and allergenicity of wheat gluten proteins—a review. *Pol J Food Nutr Sci* 13, 4.
- [74] Wieser, H., 1996. Relation between gliadin structure and coeliac toxicity. *Acta Paediatr.* 85, 3–9.
- [75] Dieterich, W., Ehnis, T., Bauer, M., Donner, P., Volta, U., Riecken, E.O., Schuppan, D., 1997. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nat. Med.* 3, 797–801.

- [76] Roberts, S. E., Williams, J. G., Meddings, D., Davidson, R., & Goldacre, M. J. (2009). Perinatal risk factors and coeliac disease in children and young adults: a record linkage study. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 29(2), 222-231.
- [77] Van Heel, D. A., Franke, L., Hunt, K. A., Gwilliam, R., Zhernakova, A., Inouye, M., & Wijmenga, C. (2007). A genome-wide association study for celiac disease identifies risk variants in the region harboring IL2 and IL21. *Nature genetics*, 39(7), 827-829.
- [78] Mårild, K., Stephansson, O., Montgomery, S., Murray, J. A., & Ludvigsson, J. F. (2012). Pregnancy outcome and risk of celiac disease in offspring: a nationwide case-control study. *Gastroenterology*, 142(1), 39-45.
- [79] Sandberg-Bennich, S., Dahlquist, G., & Källén, B. (2002). Coeliac disease is associated with intrauterine growth and neonatal infections. *Acta paediatrica*, 91(1), 30-33.
- [80] Stene, L. C., Honeyman, M. C., Hoffenberg, E. J., Haas, J. E., Sokol, R. J., Emery, L., & Rewers, M. (2006). Rotavirus infection frequency and risk of celiac disease autoimmunity in early childhood: a longitudinal study. *Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG*, 101(10), 2333-2340.
- [81] Adlercreutz, E. H., Wingren, C. J., Vincente, R. P., Merlo, J., & Agardh, D. (2015). Perinatal risk factors increase the risk of being affected by both type 1 diabetes and coeliac disease. *Acta paediatrica*, 104(2), 178-184.
- [82] Ivarsson, A., Hernell, O., Nyström, L., & Persson, L. Å. (2003). Children born in the summer have increased risk for coeliac disease. *Journal of Epidemiology & Community Health*, 57(1), 36-39.
- [83] Lebwohl, B., Green, P. H., Murray, J. A., & Ludvigsson, J. F. (2013). Season of birth in a nationwide cohort of coeliac disease patients. *Archives of disease in childhood*, 98(1), 48-51.
- [84] Tanpowpong, P., Obuch, J. C., Jiang, H., McCarty, C. E., Katz, A. J., Leffler, D. A., & Camargo Jr, C. A. (2013). Multicenter study on season of birth and celiac disease: evidence for a new theoretical model of pathogenesis. *The Journal of pediatrics*, 162(3), 501-504.
- [85] Lewy, H., Meirson, H., & Laron, Z. (2009). Seasonality of birth month of children with celiac disease differs from that in the general population and between sexes and is linked to family history and environmental factors. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 48(2), 181-185.
- [86] Capriati, T., Francavilla, R., Castellaneta, S., Ferretti, F., & Diamanti, A. (2015). Impact of the birth's season on the development of celiac disease in Italy. *European journal of pediatrics*, 174(12), 1657-1663.
- [87] Tanpowpong, P., Obuch, J. C., Jiang, H., McCarty, C. E., Katz, A. J., Leffler, D. A., & Camargo Jr, C. A. (2013). Multicenter study on season of birth and celiac disease: evidence for a new theoretical model of pathogenesis. *The Journal of pediatrics*, 162(3), 501-504.
- [88] Aronsson, C. A., Liu, X., Norris, J. M., Uusitalo, U., Butterworth, M. D., Koletzko, S., & Agardh, D. (2021). 25 (OH) D Levels in Infancy Is Associated With Celiac Disease Autoimmunity in At-Risk Children: A Case–Control Study. *Frontiers in nutrition*, 8.
- [89] Lebwohl, B., Green, P. H., Murray, J. A., & Ludvigsson, J. F. (2013). Season of birth in a nationwide cohort of coeliac disease patients. *Archives of disease in childhood*, 98(1), 48-51.

- [90] Lebwohl, B., Green, P. H., Murray, J. A., & Ludvigsson, J. F. (2013). Season of birth in a nationwide cohort of coeliac disease patients. *Archives of disease in childhood*, 98(1), 48-51.
- [91] Ivarsson, A., Myléus, A., Norström, F., van der Pals, M., Rosén, A., Högberg, L., & Carlsson, A. (2013). Prévalence de la maladie cœliaque infantile et changements dans l'alimentation du nourrisson. *Pédiatrie*, 131 (3), e687-e694.
- [92] Ivarsson, A., Hernell, O., Stenlund, H., & Persson, L. Å. (2002). Breast-feeding protects against celiac disease. *The American journal of clinical nutrition*, 75(5), 914-921.
- [93] Aronsson, C. A., Lee, H. S., Liu, E., Uusitalo, U., Hummel, S., Yang, J., & TEDDY Study Group. (2015). Age at gluten introduction and risk of celiac disease. *Pediatrics*, 135(2), 239-245.
- [94] Myléus, A., Hernell, O., Gothefors, L., Hammarström, M. L., Persson, L. Å., Stenlund, H., & Ivarsson, A. (2012). Early infections are associated with increased risk for celiac disease: an incident case-referent study. *BMC pediatrics*, 12(1), 1-8.
- [95] Størdal, K., White, R. A., & Eggesbø, M. (2013). Early feeding and risk of celiac disease in a prospective birth cohort. *Pediatrics*, 132(5), e1202-e1209.
- [96] Welander, A., Tjernberg, A. R., Montgomery, S. M., Ludvigsson, J., & Ludvigsson, J. F. (2010). Infectious disease and risk of later celiac disease in childhood. *Pediatrics*, 125(3), e530-e536.
- [97] Ivarsson, A., Hernell, O., Stenlund, H., & Persson, L. Å. (2002). Breast-feeding protects against celiac disease. *The American journal of clinical nutrition*, 75(5), 914-921.
- [98] Norris, J. M., Barriga, K., Hoffenberg, E. J., Taki, I., Miao, D., Haas, J. E., & Rewers, M. (2005). Risk of celiac disease autoimmunity and timing of gluten introduction in the diet of infants at increased risk of disease. *Jama*, 293(19), 2343-2351.
- [99] Logan, K., Perkin, M. R., Marrs, T., Radulovic, S., Craven, J., Flohr, C., & Lack, G. (2020). Early gluten introduction and celiac disease in the EAT study: a prespecified analysis of the EAT randomized clinical trial. *JAMA pediatrics*, 174(11), 1041-1047.
- [100] Kemppainen, K. M., Lynch, K. F., Liu, E., Lönnrot, M., Simell, V., Briese, T., & TEDDY Study Group. (2017). Factors that increase risk of celiac disease autoimmunity after a gastrointestinal infection in early life. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 15(5), 694-702.
- [101] Mårild, K., Kahrs, C. R., Tapia, G., Stene, L. C., & Størdal, K. (2015). Infections and risk of celiac disease in childhood: a prospective nationwide cohort study. *Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG*, 110(10), 1475-1484.
- [102] Basaran, M. K., Dogan, C., Bal, M., Gulec, S. G., & Urganci, N. (2021). Does Having Rotavirus Infection in Early Childhood Increase the Risk of Celiac Disease?. *Journal of Pediatric Infectious Diseases*.
- [103] Lionetti, E., Castellaneta, S., Francavilla, R., Pulvirenti, A., Catassi, C., of Weaning, S. W. G., & Risk, C. D. (2017). Mode of delivery and risk of celiac disease: risk of celiac disease and age at gluten introduction cohort study. *The Journal of pediatrics*, 184, 81-86.
- [104] Sander, S. D., Hansen, A. V., Størdal, K., Andersen, A. M. N., Murray, J. A., & Husby, S. (2018). Mode of delivery is not associated with celiac disease. *Clinical epidemiology*, 10, 323.

- [105] Koletzko, S., Lee, H. S., Beyerlein, A., Aronsson, C. A., Hummel, M., Liu, E., & TEDDY Study Group. (2018). Caesarean section on the risk of celiac disease in the offspring: The Teddy Study. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 66(3), 417.
- [106] Andersen, V., Möller, S., Jensen, P. B., Møller, F. T., & Green, A. (2020). Caesarean delivery and risk of chronic inflammatory diseases (inflammatory bowel disease, rheumatoid arthritis, coeliac disease, and diabetes mellitus): a population based registry study of 2,699,479 births in Denmark during 1973–2016. *Clinical epidemiology*, 12, 287.
- [107] Bruce, A., Black, M., & Bhattacharya, S. (2014). Mode of delivery and risk of inflammatory bowel disease in the offspring: systematic review and meta-analysis of observational studies. *Inflammatory bowel diseases*, 20(7), 1217-1226.
- [108] Plaza-Izurieta, L., Fernandez-Jimenez, N., & Bilbao, J. R. (2015). Genetics of Celiac Disease. HLA and non-HLA genes. *Advances in the Understanding of Gluten related Pathology and the Evolution of Gluten-Free Foods*, 79.
- [109] Horton, R., Wilming, L., Rand, V., Lovering, R. C., Bruford, E. A., Khodiyar, V. K., & Beck, S. (2004). Gene map of the extended human MHC. *Nature Reviews Genetics*, 5(12), 889-899.
- [110] Sheldon, S., & Poulton, K. (2006). HLA typing and its influence on organ transplantation. *Transplantation Immunology*, 157-174.
- [111] Kenneth L. Rock, Eric Reits, and Jacques Neefjes. Present Yourself ! By MHC Class I and MHC Class II Molecules. (2016). *Trends in Immunology*, 37(11) :724–737.
- [112] Trowsdale, J., & Knight, J. C. (2013). Major histocompatibility complex genomics and human disease. *Annual review of genomics and human genetics*, 14, 301.
- [113] MacArthur, J., Bowler, E., Cerezo, M., Gil, L., Hall, P., Hastings, E., & Parkinson, H. (2017). The new NHGRI-EBI Catalog of published genome-wide association studies (GWAS Catalog). *Nucleic acids research*, 45(D1), D896-D901.
- [114] Younes, N., Younes, S., Alsharabasi, O., El Zowalaty, M. E., Mustafa, I., Jahromi, M., & Zayed, H. (2020). Immunogenetics of Celiac Disease: A focus on Arab countries. *Current molecular medicine*, 20(4), 275-285.
- [115] Trynka G, Wijmenga C, van Heel Da. *Trends Mol Med [Internet]* 11. Vol. 16. Elsevier Ltd; 2010. A genetic perspective on coeliac disease; pp. 537–50.
- [116] Abadie, V., Sollid, L. M., Barreiro, L. B., & Jabri, B. (2011). Integration of genetic and immunological insights into a model of celiac disease pathogenesis. *Annual review of immunology*, 29(1), 493-525.

- [117] Liu, E., Lee, H.-S., Aronsson, C.A., Hagopian, W.A., Koletzko, S., Rewers, M.J., Eisenbarth, G.S., Bingley, P.J., Bonifacio, E., Simell, V., 2014. Risk of pediatric celiac disease according to HLA haplotype and country. *N. Engl. J. Med.* 371, 42–49.
- [118] Megiorni, F., Pizzuti, A., 2012. HLA-DQA1 and HLA-DQB1 in Celiac disease predisposition: practical implications of the HLA molecular typing. *J. Biomed. Sci.* 19, 1–5.
- [119] Tian, N., Faller, L., Leffler, D.A., Kelly, C.P., Hansen, J., Bosch, J.A., Wei, G., Paster, B.J., Schuppan, D., Helmerhorst, E.J., 2017. Salivary gluten degradation and oral microbial profiles in healthy individuals and celiac disease patients. *Appl. Environ. Microbiol.* 83, e03330-16.
- [120] Medrano, L.M., Dema, B., López-Larios, A., Maluenda, C., Bodas, A., López-Palacios, N., Figueredo, M.Á., Fernández-Arquero, M., Núñez, C., 2012. HLA and celiac disease susceptibility: new genetic factors bring open questions about the HLA influence and gene-dosage effects. *PloS One* 7, e48403.
- [121] Cecilio, L.A., Bonatto, M.W., 2015. The prevalence of HLA DQ2 and DQ8 in patients with celiac disease, in family and in general population. *ABCD Arq. Bras. Cir. Dig. São Paulo* 28, 183–185.
- [122] Piccini, B., Vascotto, M., Serracca, L., Luddi, A., Margollicci, M.A., Balestri, P., Vindigni, C., Bassotti, G., Villanacci, V., 2012. HLA-DQ typing in the diagnostic algorithm of celiac disease. *Rev. Esp. Enferm. Dig.* 104, 248.
- [123] Rostami-Nejad, M., Romanos, J., Rostami, K., Ganji, A., Ehsani-Ardakani, M.J., Bakhshipour, A.-R., Zojaji, H., Mohebbi, S.R., Zali, M.-R., Wijmenga, C., 2014. Allele and haplotype frequencies for HLA-DQ in Iranian celiac disease patients. *World J. Gastroenterol. WJG* 20, 6302.
- [124] Martinez, J., Chalupowicz, D.G., Roush, R.K., Sheth, A., Barsigian, C., 1994. Transglutaminase-mediated processing of fibronectin by endothelial cell monolayers. *Biochemistry* 33, 2538–2545.
- [125] Björck, S., Brundin, C., Löhrinc, E., Lynch, K. F., & Agardh, D. (2010). Screening detects a high proportion of celiac disease in young HLA-genotyped children. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 50(1), 49-53.
- [126] Stanković, B., Radlović, N., Leković, Z., Ristić, D., Radlović, V., Nikčević, G., Kotur, N., Vučićević, K., Kostić, T., Pavlović, S., 2014. HLA genotyping in pediatric celiac disease patients. *Bosn. J. Basic Med. Sci.* 14, 171.
- [127] Mills, J. R., Snyder, M. R., Murray, J. A., & Gandhi, M. J. (2020). Celiac disease risk stratification based on HLA-DQ heterodimer (HLA-DQA1~ DQB1) typing in a large cohort of adults with suspected celiac disease. *Human Immunology*, 81(2-3), 59-64.
- [128] Martínez-Ojinaga, E., Molina, M., Polanco, I., Urcelay, E., Núñez, C. (2018). HLA-DQ distribution and risk assessment of celiac disease in a Spanish center. *Rev. Esp. Enfermedades Dig.* 110, 421–426.
- [129] Romanos, J., Van Diemen, C.C., Nolte, I.M., Trynka, G., Zhernakova, A., Fu, J., Bardella, M.T., Barisani, D., McManus, R., Van Heel, D.A., 2009. Analysis of HLA and non-HLA alleles can identify individuals at high risk for celiac disease. *Gastroenterology* 137, 834–840.
- [130] Farina, F., Picascia, S., Pisapia, L., Barba, P., Vitale, S., Franzese, A., Mozzillo, E., Gianfrani, C., Del Pozzo G, G. (2019). HLA-DQA1 and HLA-DQB1 alleles, conferring susceptibility to celiac disease

and type 1 diabetes, are more expressed than non-predisposing alleles and are coordinately regulated. *Cells* 8, 751.

- [131] De Silvestri, A., Capittini, C., Poddighe, D., Valsecchi, C., Marseglia, G., Tagliacarne, S.C., Scotti, V., Rebuffi, C., Pasi, A., Martinetti, M. (2018). HLA-DQ genetics in children with celiac disease: a meta-analysis suggesting a two-step genetic screening procedure starting with HLA-DQ β chains. *Pediatr. Res.* 83, 564–572.
- [132] Krini, M., Chouliaras, G., Kanariou, M., Varela, I., Spanou, K., Panayiotou, J., Roma, E., Constantinidou, N. (2012). HLA class II high-resolution genotyping in Greek children with celiac disease and impact on disease susceptibility. *Pediatr. Res.* 72, 625–630.
- [133] Abraham, G., Rohmer, A., Tye-Din, J.A., Inouye, M. (2015). Genomic prediction of celiac disease targeting HLA-positive individuals. *Genome Med.* 7, 1–11.
- [134] Piancatelli, D., Ben El Barhdadi, I., Oumhani, K., Sebastiani, P., Colanardi, A., Essaid, A. (2017). HLA typing and celiac disease in Moroccans. *Med. Sci.* 5, 2.
- [135] Al-Hussaini, A., Alharthi, H., Osman, A., Eltayeb-Elsheikh, N., Chentoufi, A. (2018). Genetic susceptibility for celiac disease is highly prevalent in the Saudi population. *Saudi J. Gastroenterol. Off. J. Saudi Gastroenterol. Assoc.* 24, 268.
- [136] Abdujabarov, Z. M., & Kamilova, A. T. (2016). Immunogenetic profile in children with celiac disease the uzbek population. *Eksperimental'naia i klinicheskaiia gastroenterologiya= Experimental & clinical gastroenterology*, (8), 9-12.
- [137] A. Bendelac, M.N. Rivera, S.H. Park, J.H. Roark. (1997). Mouse CD1-specific NK1 T cells: development, specificity, and function, *Annu. Rev. Immunol.* 15 535– 562.
- [138] H. de la Salle, S. Mariotti, C. Angenieux, M. Gilleron, L.F. Garcia-Alles, D. Malm. (2005). Assistance of microbial glycolipid antigen processing by CD1e, *Science* 310 1321–1324.
- [139] S.A. Porcelli, B.W. Segelke, M. Sugita, I.A. Wilson, M.B. Brenner. (1998). The CD1 family of lipid antigen-presenting molecules, *Immunol. Today* 19 362–368.
- [140] L.H. Martin, F. Calabi, C. Milstein. (1986). Isolation of CD1 genes: A family of major histocompatibility complex-related differentiation antigens, *PNAS* 83 9154–9158.
- [141] Z. Zeng, A.R. Castano, B.W. Segelke, E.A. Stura, P.A. Peterson, I.A. Wilson. (1997) Crystal structure of mouse CD1: an MHC-like fold with a large hydrophobic binding groove, *Science* 277 339–345.
- [142] M.I. Zimmer, H.P. Nguyen, B. Wang, H. Xu, A. Colmone, K. Felio, H.J. Choi, P. Zhou, M.L. Alegre, C.R. Wang. (2009). Polymorphisms in CD1d affect antigen presentation and the activation of CD1d-restricted T cells, *PNAS* 106 1909–1914.
- [143] P.M. Brailey, M. Lebrusant-Fernandez, P. Barral. (2020). NKT cells and the regulation of intestinal immunity: a two-way street, *FEBS J.*

- [144] P. Dellabona, M. Consonni, C. de Lalla, G. Casorati, Group 1 CD1-restricted T cells and the pathophysiological implications of self-lipid antigen recognition. (2015). *Tissue Antigens* 86, 393–405.
- [145] C. Marie Dowds, R.S. Blumberg, S. Zeissig. (2015). Control of intestinal homeostasis through crosstalk between natural killer T cells and the intestinal microbiota, *Clin. Immunol.* 159 128–133.
- [146] A. Uncini, F. Notturmo, M. Pace, C.M. Caporale. (2011). Polymorphism of CD1 and SH2D2A genes in inflammatory neuropathies, *J. Peripher. Nerv. Syst.* 16 (Suppl. 1) 48–51.
- [147] C.M. Caporale, F. Notturmo, M. Pace, A. Aureli, V. Di Tommaso, G. De Luca, D. Farina, A. Giovannini, A. Uncini. (2011). CD1A and CD1E gene polymorphisms are associated with susceptibility to multiple sclerosis, *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 24, 175–183.
- [148] L. Rodrigo, C. Hernández-Lahoz, D. Fuentes, N. Alvarez, A. López-Vázquez, S. González, Prevalence of celiac disease in multiple sclerosis, *BMC Neurol.* 11 (2011) 31.
- [149] Elliott, D. E. (2014). The pathophysiology of celiac disease. In *Celiac Disease*. Humana Press, New York, NY. (pp. 39-51)
- [150] Barker, J. M., & Liu, E. (2008). Celiac disease: pathophysiology, clinical manifestations, and associated autoimmune conditions. *Advances in pediatrics*, 55(1), 349-365.
- [151] Alhassan, E., Yadav, A., Kelly, C. P., & Mukherjee, R. (2019). Novel nondietary therapies for celiac disease. *Cellular and molecular gastroenterology and hepatology*, 8(3), 335-345.
- [152] Sollid, L. M. (2002). Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder. *Nature Reviews Immunology*, 2(9), 647-655.
- [153] Cicerone, C., Nenna, R., & Pontone, S. (2015). Th17, intestinal microbiota and the abnormal immune response in the pathogenesis of celiac disease. *Gastroenterology and hepatology from bed to bench*, 8(2), 117.
- [154] K. Murphy, C. Weaver. (2016) *Janeway's immunobiology*, Garland science.
- [155] Di Sabatino, A., Vanoli, A., Giuffrida, P., Luinetti, O., Solcia, E., & Corazza, G. R. (2012). The function of tissue transglutaminase in celiac disease. *Autoimmunity reviews*, 11(10), 746-753.
- [156] Dieterich, W., Ehnis, T., Bauer, M., Donner, P., Volta, U., Riecken, E. O., & Schuppan, D. (1997). Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nature medicine*, 3(7), 797-801.
- [157] Corrao, G., Corazza, G. R., Andreani, M. L., Torchio, P., Valentini, R. A., Galatola, G., & Di Orio, F. (1994). Serological screening of coeliac disease: choosing the optimal procedure according to various prevalence values. *Gut*, 35(6), 771-775.
- [158] MÄKI, M. (1997). Tissue transglutaminase as the autoantigen of coeliac disease. *Gut*, 41(4), 565-566.

- [159] Upchurch, H. F., Conway, E., Patterson Jr, M. K., & Maxwell, M. D. (1991). Localization of cellular transglutaminase on the extracellular matrix after wounding: characteristics of the matrix bound enzyme. *Journal of cellular physiology*, 149(3), 375-382.
- [160] Martinez, J., Chalupowicz, D. G., Roush, R. K., Sheth, A., & Barsigian, C. (1994). Transglutaminase-mediated processing of fibronectin by endothelial cell monolayers. *Biochemistry*, 33(9), 2538-2545.
- [161] M. Piacentini, C. Rodolfo, M.G. Farrace, F. Autuori. (2004). "Tissue" transglutaminase in animal development. *Int. J. Dev. Biol.* 44 655–662.
- [162] Dieterich, W., Esslinger, B., & Schuppan, D. (2003). Pathomechanisms in celiac disease. *International archives of allergy and immunology*, 132(2), 98-108.
- [163] Iismaa, S. E., Mearns, B. M., Lorand, L., & Graham, R. M. (2009). Transglutaminases and disease: lessons from genetically engineered mouse models and inherited disorders. *Physiological reviews*, 89(3), 991-1023.
- [164] Folk, J. E., & Chung, S. I. (1985). Transglutaminases. In *Methods in enzymology* (Vol. 113, pp. 358-375). Academic Press.
- [165] Reif, S., & Lerner, A. (2004). Tissue transglutaminase—the key player in celiac disease: a review. *Autoimmunity reviews*, 3(1), 40-45.
- [166] Dieterich, W., Laag, E., Schöpfer, H., Volta, U., Ferguson, A., Gillett, H., & Schuppan, D. (1998). Autoantibodies to tissue transglutaminase as predictors of celiac disease. *Gastroenterology*, 115(6), 1317-1321.
- [167] Sjöström, H., Lundin, K. E. A., Molberg, O., Körner, R., McAdam, S. N., Anthonsen, D., & Sollid, L. M. (1998). Identification of a gliadin T-cell epitope in coeliac disease: general importance of gliadin deamidation for intestinal T-cell recognition. *Scandinavian journal of immunology*, 48, 111-115.
- [168] Molberg, Ø., Mcadam, S. N., Körner, R., Quarsten, H., Kristiansen, C., Madsen, L., & Sollid, L. M. (1998). Tissue transglutaminase selectively modifies gliadin peptides that are recognized by gut-derived T cells in celiac disease. *Nature medicine*, 4(6), 713-717.
- [169] De Re, V., Magris, R., & Cannizzaro, R. (2017). New insights into the pathogenesis of celiac disease. *Frontiers in medicine*, 4, 137.
- [170] Martucci, S., & Corazza, G. R. (2002). Spreading and focusing of gluten epitopes in celiac disease. *Gastroenterology*, 122(7), 2072-2075.
- [171] Lundin, K. E., Scott, H., Hansen, T., Paulsen, G., Halstensen, T. S., Fausa, O., & Sollid, L. M. (1993). Gliadin-specific, HLA-DQ (alpha 1* 0501, beta 1* 0201) restricted T cells isolated from the small intestinal mucosa of celiac disease patients. *The Journal of experimental medicine*, 178(1), 187-196.
- [172] Molberg, Ø., Kett, K., Scott, H., Thorsby, E., Sollid, L. M., & Lundin, K. E. A. (1997). Gliadin specific, HLA DQ2-restricted T cells are commonly found in small intestinal biopsies from coeliac disease patients, but not from controls. *Scandinavian journal of immunology*, 46(3), 103-109.

- [173] Bodd, M., Ráki, M., Tollefsen, S., Fallang, L. E., Bergseng, E., Lundin, K. E. A., & Sollid, L. M. (2010). HLA-DQ2-restricted gluten-reactive T cells produce IL-21 but not IL-17 or IL-22. *Mucosal immunology*, 3(6), 594-601.
- [174] Nilsen, E. M., Lundin, K. E., Krajci, P., Scott, H., Sollid, L. M., & Brandtzaeg, P. (1995). Gluten specific, HLA-DQ restricted T cells from coeliac mucosa produce cytokines with Th1 or Th0 profile dominated by interferon gamma. *Gut*, 37(6), 766-776.
- [175] Brandtzaeg, P. (2009). Mucosal immunity: induction, dissemination, and effector functions. *Scandinavian journal of immunology*, 70(6), 505-515.
- [176] de Kauwe, A. L., Chen, Z., Anderson, R. P., Keech, C. L., Price, J. D., Wijburg, O., & McCluskey, J. (2009). Resistance to celiac disease in humanized HLA-DR3-DQ2-transgenic mice expressing specific anti-gliadin CD4+ T cells. *The Journal of Immunology*, 182(12), 7440-7450.
- [177] Du Pré, M. F., Kozijn, A. E., van Berkel, L. A., Ter Borg, M. N., Lindenbergh-Kortleve, D., Jensen, L. T., ... & Samsom, J. N. (2011). Tolerance to ingested deamidated gliadin in mice is maintained by splenic, type 1 regulatory T cells. *Gastroenterology*, 141(2), 610-620.
- [178] Nunes, I., Gleizes, P. E., Metz, C. N., & Rifkin, D. B. (1997). Latent transforming growth factor- β binding protein domains involved in activation and transglutaminase-dependent cross-linking of latent transforming growth factor- β . *The Journal of cell biology*, 136(5), 1151-1163.
- [179] Setty, M., Discepolo, V., Abadie, V., Kamhawi, S., Mayassi, T., Kent, A., & Jabri, B. (2015). Distinct and synergistic contributions of epithelial stress and adaptive immunity to functions of intraepithelial killer cells and active celiac disease. *Gastroenterology*, 149(3), 681-691.
- [180] Auricchio, R., Tosco, A., Piccolo, E., Galatola, M., Izzo, V., Maglio, M., & Greco, L. (2014). Potential celiac children: 9-year follow-up on a gluten-containing diet. *Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG*, 109(6), 913-921.
- [181] Han, A., Newell, E. W., Glanville, J., Fernandez-Becker, N., Khosla, C., Chien, Y. H., & Davis, M. M. (2013). Dietary gluten triggers concomitant activation of CD4+ and CD8+ $\alpha\beta$ T cells and $\gamma\delta$ T cells in celiac disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(32), 13073-13078.
- [182] Björck, S., Brundin, C., Lörin, E., Lynch, K. F., & Agardh, D. (2010). Screening detects a high proportion of celiac disease in young HLA-genotyped children. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 50(1), 49-53.
- [183] Roy, B., Neumann, R. S., Snir, O., Iversen, R., Sandve, G. K., Lundin, K. E., & Sollid, L. M. (2017). High-throughput single-cell analysis of B cell receptor usage among autoantigen-specific plasma cells in celiac disease. *The Journal of Immunology*, 199(2), 782-791.
- [184] Sollid, L. M., Molberg, Ø., McAdam, S., & Lundin, K. E. (1997). Autoantibodies in coeliac disease: tissue transglutaminase—guilt by association?. *Gut*, 41(6), 851-852.
- [185] du Pré, M. F., Blazevski, J., Dewan, A. E., Stammaes, J., Kanduri, C., Sandve, G. K., & Sollid, L. M. (2020). B cell tolerance and antibody production to the celiac disease autoantigen transglutaminase 2. *Journal of Experimental Medicine*, 217(2).

- [186] Fleckenstein, B., Qiao, S. W., Larsen, M. R., Jung, G., Roepstorff, P., & Sollid, L. M. (2004). Molecular characterization of covalent complexes between tissue transglutaminase and gliadin peptides. *Journal of Biological Chemistry*, 279(17), 17607-17616.
- [187] Crawford, A., MacLeod, M., Schumacher, T., Corlett, L., & Gray, D. (2006). Primary T cell expansion and differentiation in vivo requires antigen presentation by B cells. *The Journal of Immunology*, 176(6), 3498-3506.
- [188] Lionetti, P., Breese, E., Braegger, C. P., Murch, S. H., Taylor, J., & MacDonald, T. T. (1993). T-cell activation can induce either mucosal destruction or adaptation in cultured human fetal small intestine. *Gastroenterology*, 105(2), 373-381.
- [189] Di Sabatino, A., Pickard, K. M., Gordon, J. N., Salvati, V., Mazzarella, G., Beattie, R. M., & MacDonald, T. T. (2007). Evidence for the role of interferon- α production by dendritic cells in the Th1 response in celiac disease. *Gastroenterology*, 133(4), 1175-1187.
- [190] Nilsen, E. M., Jahnsen, F. L., Lundin, K. E., Johansen, F. E., Fausa, O., Sollid, L. M., & Brandtzaeg, P. (1998). Gluten induces an intestinal cytokine response strongly dominated by interferon gamma in patients with celiac disease. *Gastroenterology*, 115(3), 551-563.
- [191] Lahat, N., Shapiro, S., Karban, A., Gerstein, R., Kinary, A., & Lerner, A. (1999). Cytokine profile in coeliac disease. *Scandinavian journal of immunology*, 49(4), 441-446.
- [192] Santarasci, V., Cosmi, L., Maggi, L., Liotta, F., & Annunziato, F. (2013). IL-1 and T helper immune responses. *Frontiers in immunology*, 4, 182.
- [193] Louahed, J., Toda, M., Jen, J., Hamid, Q., Renaud, J. C., Levitt, R. C., & Nicolaidis, N. C. (2000). Interleukin-9 upregulates mucus expression in the airways. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, 22(6), 649-656.
- [194] Harris, K. M., Fasano, A., & Mann, D. L. (2010). Monocytes differentiated with IL-15 support Th17 and Th1 responses to wheat gliadin: implications for celiac disease. *Clinical immunology*, 135(3), 430-439.
- [195] Attarwala, H. Z., Suri, K., & Amiji, M. M. (2021). Oral RNA Interference Therapy for Celiac Disease using a Polymeric Microsphere Formulation.
- [196] Sanchez-Solares, J., Sanchez, L., Pablo-Torres, C., Diaz-Fernandez, C., Sørensen, P., Barber, D., & Gomez-Casado, C. (2021). Celiac disease causes epithelial disruption and regulatory T cell recruitment in the oral mucosa. *Frontiers in immunology*, 12, 623805.
- [197] Gagliardi, M., Clemente, N., Monzani, R., Fusaro, L., Ferrari, E., Saverio, V., & Corazzari, M. (2021). Gut-Ex-Vivo system as a model to study gluten response in celiac disease. *Cell death discovery*, 7(1), 1-10.
- [198] Mancuso, C., Re, F., Rivolta, I., Elli, L., Gnodi, E., Beaulieu, J. F., & Barisani, D. (2021). Dietary nanoparticles interact with gluten peptides and alter the intestinal homeostasis increasing the risk of celiac disease. *International journal of molecular sciences*, 22(11), 6102.
- [199] Bakker, O. B., Ramírez-Sánchez, A. D., Borek, Z. A., de Klein, N., Li, Y., Modderman, R., & Jonkers, I. H. (2021). Potential impact of celiac disease genetic risk factors on T cell receptor signaling in gluten-specific CD4⁺ T cells. *Scientific reports*, 11(1), 1-15.

- [200] Lejeune, T., Meyer, C., & Abadie, V. (2021). B lymphocytes contribute to celiac disease pathogenesis. *Gastroenterology*, 160(7), 2608-2610.
- [201] Meresse, B., Korneychuk, N., Malamut, G., & Cerf-Bensussan, N. (2015). Interleukin-15, a master piece in the immunological jigsaw of celiac disease. *Digestive Diseases*, 33(2), 122-130.
- [202] Allard-Chamard, H., Mishra, H. K., Nandi, M., Mayhue, M., Menendez, A., Ilangumaran, S., & Ramanathan, S. (2020). Interleukin-15 in autoimmunity. *Cytokine*, 136, 155258.
- [203] Pávková Goldbergová, M., Nemeč, P., Lipková, J., Jarkovsky, J., Gatterova, J., Ambrozková, D., & Pávek, N. (2014). Relation of IL-6, IL-13 and IL-15 gene polymorphisms to the rheumatoid factors, anti-CCP and other measures of rheumatoid arthritis activity. *International Journal of Immunogenetics*, 41(1), 34-40.
- [204] Escudero-Hernández, C., Plaza-Izurieta, L., Garrote, J. A., Bilbao, J. R., & Arranz, E. (2017). Association of the IL-15 and IL-15R α genes with celiac disease. *Cytokine*, 99, 73-79.
- [205] Abadie, V., & Jabri, B. (2014). IL-15: a central regulator of celiac disease immunopathology. *Immunological reviews*, 260(1), 221-234.
- [206] Cianci, R., Pagliari, D., Landolfi, R., Frosali, S., Colagiovanni, A., Cammarota, G., & Pandolfi, F. (2012). New insights on the role of T cells in the pathogenesis of celiac disease. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*, 26(2), 171-179.
- [207] Lahdenperä, A. I., Hölttä, V., Ruohtula, T., Salo, H. M., Orivuori, L., Westerholm-Ormio, M., & Vaarala, O. (2012). Up-regulation of small intestinal interleukin-17 immunity in untreated coeliac disease but not in potential coeliac disease or in type 1 diabetes. *Clinical & Experimental Immunology*, 167(2), 226-234.
- [208] Monteleone, I., Monteleone, G., Blanco, G. D. V., Vavassori, P., Cucchiara, S., MacDonald, T. T., & Pallone, F. (2004). Regulation of the T helper cell type 1 transcription factor T-bet in coeliac disease mucosa. *Gut*, 53(8), 1090-1095.
- [209] Neurath, M. F., Finotto, S., & Glimcher, L. H. (2002). The role of Th1/Th2 polarization in mucosal immunity. *Nature medicine*, 8(6), 567-573.
- [210] Salvati, V. M., MacDonald, T. T., Bajaj-Elliott, M., Borrelli, M., Staiano, A., Auricchio, S., & Monteleone, G. (2002). Interleukin 18 and associated markers of T helper cell type 1 activity in coeliac disease. *Gut*, 50(2), 186-190.
- [211] Fernández, S., Molina, I. J., Romero, P., González, R., Peña, J., Sánchez, F., & Santamaría, M. (2011). Characterization of gliadin-specific Th17 cells from the mucosa of celiac disease patients. *Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG*, 106(3), 528-538.
- [212] Monteleone, I., Sarra, M., Blanco, G. D. V., Paoluzi, O. A., Franzè, E., Fina, D., & Monteleone, G. (2010). Characterization of IL-17A-producing cells in celiac disease mucosa. *The journal of immunology*, 184(4), 2211-2218.
- [213] Sapone, A., Lammers, K. M., Mazzarella, G., Mikhailenko, I., Carteni, M., Casolaro, V., & Fasano, A. (2010). Differential mucosal IL-17 expression in two gliadin-induced disorders: gluten sensitivity and the autoimmune enteropathy celiac disease. *International archives of allergy and immunology*, 152(1), 75-80.

- [214] Wapenaar, M. C., van Belzen, M. J., Fransen, J. H., Sarasqueta, A. F., Houwen, R. H., Meijer, J. W., & Wijmenga, C. (2004). The interferon gamma gene in celiac disease: augmented expression correlates with tissue damage but no evidence for genetic susceptibility. *Journal of autoimmunity*, 23(2), 183-190.
- [215] Iacomino, G., Marano, A., Stillitano, I., Aufiero, V. R., Iaquinto, G., Schettino, M., & Mazzarella, G. (2016). Celiac disease: role of intestinal compartments in the mucosal immune response. *Molecular and cellular biochemistry*, 411(1), 341-349.
- [216] Hollon, J., Leonard Puppa, E., Greenwald, B., Goldberg, E., Guerrerio, A., & Fasano, A. (2015). Effect of gliadin on permeability of intestinal biopsy explants from celiac disease patients and patients with non-celiac gluten sensitivity. *Nutrients*, 7(3), 1565-1576.
- [217] Fasano, A. (2009). Surprises from celiac disease. *Scientific American*, 301(2), 54-61.
- [218] Thomas, K. E., Sapone, A., Fasano, A., & Vogel, S. N. (2006). Gliadin stimulation of murine macrophage inflammatory gene expression and intestinal permeability are MyD88-dependent: role of the innate immune response in Celiac disease. *The Journal of Immunology*, 176(4), 2512-2521.
- [219] Zufferey, C., Erhart, D., Saurer, L., & Mueller, C. (2009). Production of interferon- γ by activated T-cell receptor- $\alpha\beta$ CD8 $\alpha\beta$ intestinal intraepithelial lymphocytes is required and sufficient for disruption of the intestinal barrier integrity. *Immunology*, 128(3), 351-359.
- [220] Tripathi, A., Lammers, K. M., Goldblum, S., Shea-Donohue, T., Netzel-Arnett, S., Buzza, M. S., & Fasano, A. (2009). Identification of human zonulin, a physiological modulator of tight junctions, as prehaptoglobin-2. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(39), 16799-16804.
- [221] El Asmar, R., Panigrahi, P., Bamford, P., Berti, I., Not, T., Coppa, G. V., & Fasano, A. (2002). Host-dependent zonulin secretion causes the impairment of the small intestine barrier function after bacterial exposure. *Gastroenterology*, 123(5), 1607-1615.
- [222] Lammers, K. M., Lu, R., Brownley, J., Lu, B., Gerard, C., Thomas, K., & Fasano, A. (2008). Gliadin induces an increase in intestinal permeability and zonulin release by binding to the chemokine receptor CXCR3. *Gastroenterology*, 135(1), 194-204.
- [223] Kau, A. L., Ahern, P. P., Griffin, N. W., Goodman, A. L., & Gordon, J. I. (2011). Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. *Nature*, 474(7351), 327-336.
- [224] Peterson, J., Garges, S., Giovanni, M., McInnes, P., Wang, L., Schloss, J. A., & NIH HMP Working Group. (2009). The NIH human microbiome project. *Genome research*, 19(12), 2317-2323.
- [225] Tian, N., Faller, L., Leffler, D. A., Kelly, C. P., Hansen, J., Bosch, J. A., & Helmerhorst, E. J. (2017). Salivary gluten degradation and oral microbial profiles in healthy individuals and celiac disease patients. *Applied and environmental microbiology*, 83(6), e03330-16.
- [226] Caminero, A., Galipeau, H. J., McCarville, J. L., Johnston, C. W., Bernier, S. P., Russell, A. K., & Verdu, E. F. (2016). Duodenal bacteria from patients with celiac disease and healthy subjects distinctly affect gluten breakdown and immunogenicity. *Gastroenterology*, 151(4), 670-683.
- [227] Poddighe, D., & Kushugulova, A. (2021). Salivary microbiome in pediatric and adult celiac disease. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 11, 625162.

- [228] van Gils, T., Bouma, G., Bontkes, H. J., Mulder, C. J., & Brand, H. S. (2017). Self-reported oral health and xerostomia in adult patients with celiac disease versus a comparison group. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology*, 124(2), 152-156.
- [228] Dewhirst, F. E., Chen, T., Izard, J., Paster, B. J., Tanner, A. C., Yu, W. H., & Wade, W. G. (2010). The human oral microbiome. *Journal of bacteriology*, 192(19), 5002-5017.
- [229] Sacchetti, L., & Nardelli, C. (2020). Gut microbiome investigation in celiac disease: From methods to its pathogenetic role. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 58(3), 340-349.
- [230] Cheng, J., Kalliomäki, M., Heilig, H. G., Palva, A., Lähteenoja, H., de Vos, W. M., & Satokari, R. (2013). Duodenal microbiota composition and mucosal homeostasis in pediatric celiac disease. *BMC gastroenterology*, 13(1), 1-13.
- [231] Vieira, A. T., Teixeira, M. M., & Martins, F. S. (2013). The role of probiotics and prebiotics in inducing gut immunity. *Frontiers in immunology*, 4, 445.
- [232] Hansen, L., Roager, H. M., Søndertoft, N. B., Gøbel, R. J., Kristensen, M., Vallès-Colomer, M., & Pedersen, O. (2018). A low-gluten diet induces changes in the intestinal microbiome of healthy Danish adults. *Nature communications*, 9(1), 1-13.
- [233] De Re, V., Magris, R., & Cannizzaro, R. (2017). New insights into the pathogenesis of celiac disease. *Frontiers in medicine*, 4, 137.
- [234] Bodkhe, R., Shetty, S. A., Dhotre, D. P., Verma, A. K., Bhatia, K., Mishra, A., & Makharia, G. K. (2019). Comparison of small gut and whole gut microbiota of first-degree relatives with adult celiac disease patients and controls. *Frontiers in microbiology*, 164.
- [235] Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E., Le Paslier, D., Yamada, T., Mende, D. R., & MetaHit Consortium. (2011). Erratum: Enterotypes of the human gut microbiome (*Nature* (2011) 473 (174-180)). *Nature*, 474(7353), 666.
- [236] Flint, H. J., Scott, K. P., Louis, P., & Duncan, S. H. (2012). The role of the gut microbiota in nutrition and health. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 9(10), 577-589.
- [237] Sanz, Y. (2015). Microbiome and gluten. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 67(Suppl. 2), 27-42.
- [238] Collado, M. C., Donat, E., Ribes-Koninckx, C., Calabuig, M., & Sanz, Y. (2009). Specific duodenal and faecal bacterial groups associated with paediatric coeliac disease. *Journal of clinical pathology*, 62(3), 264-269.
- [239] Olivares, M., Neef, A., Castillejo, G., De Palma, G., Varea, V., Capilla, A., & Sanz, Y. (2015). The HLA-DQ2 genotype selects for early intestinal microbiota composition in infants at high risk of developing coeliac disease. *Gut*, 64(3), 406-417.
- [240] Rintala, A., Riikonen, I., Toivonen, A., Pietilä, S., Munukka, E., Pursiheimo, J. P., & Ilonen, J. (2018). Early fecal microbiota composition in children who later develop celiac disease and associated autoimmunity. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 53(4), 403-409.
- [241] Nistal, E., Caminero, A., Vivas, S., de Morales, J. M. R., de Miera, L. E. S., Rodríguez-Aparicio, L. B., & Casqueiro, J. (2012). Differences in faecal bacteria populations and faecal bacteria metabolism in healthy adults and celiac disease patients. *Biochimie*, 94(8), 1724-1729.

- [242] da Silva Neves, M. M. P., González-García, M. B., Nouws, H. P. A., Delerue-Matos, C., Santos-Silva, A., & Costa-García, A. (2010). Celiac disease diagnosis and gluten-free food analytical control. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 397(5), 1743-1753.
- [243] Bibbò, S., Abbondio, M., Sau, R., Tanca, A., Pira, G., Errigo, A., & Uzzau, S. (2020). Fecal microbiota signatures in celiac disease patients with poly-autoimmunity. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 349.
- [244] Di Cagno, R., De Angelis, M., De Pasquale, I., Ndagijimana, M., Vernocchi, P., Ricciuti, P., & Francavilla, R. (2011). Duodenal and faecal microbiota of celiac children: molecular, phenotype and metabolome characterization. *BMC microbiology*, 11(1), 1-21.
- [245] Lorenzo Pisarello, M. J., Vintiñi, E. O., González, S. N., Pagani, F., & Medina, M. S. (2015). Decrease in lactobacilli in the intestinal microbiota of celiac children with a gluten-free diet, and selection of potentially probiotic strains. *Canadian journal of microbiology*, 61(1), 32-37.
- [246] Lo, W., Sano, K., Lebwohl, B., Diamond, B., & Green, P. H. (2003). Changing presentation of adult celiac disease. *Digestive diseases and sciences*, 48(2), 395-398.
- [247] Dewar, D. H., & Ciclitira, P. J. (2005). Clinical features and diagnosis of celiac disease. *Gastroenterology*, 128(4), S19-S24.
- [248] Walker-Smith, J. A. G. S. (1990). Revised criteria for diagnosis of celiac disease. *Arch. Dis. Child.*, 65, 909-911.
- [249] Green, P. H., & Cellier, C. (2007). Celiac disease. *New england journal of medicine*, 357(17), 1731-1743.
- [250] Setty, M., Hormaza, L., & Guandalini, S. (2008). Celiac disease. *Molecular diagnosis & therapy*, 12(5), 289-298.
- [251] Choi, J. M., Lebwohl, B., Wang, J., Lee, S. K., Murray, J. A., Sauer, M. V., & Green, P. H. (2011). Increased prevalence of celiac disease in patients with unexplained infertility in the United States: a prospective study. *The Journal of reproductive medicine*, 56(5-6), 199.
- [252] Lebwohl, B., Roy, A., Alaedini, A., Green, P. H., & Ludvigsson, J. F. (2016). Risk of headache-related healthcare visits in patients with Celiac disease: A population-based observational study. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 56(5), 849-858.
- [253] Zingone, F., Swift, G. L., Card, T. R., Sanders, D. S., Ludvigsson, J. F., & Bai, J. C. (2015). Psychological morbidity of celiac disease: A review of the literature. *United European Gastroenterology Journal*, 3(2), 136-145.
- [254] Castillo, N. E., Vanga, R. R., Theethira, T. G., Rubio-Tapia, A., Murray, J. A., Villafuerte, J., & Leffler, D. A. (2015). Prevalence of abnormal liver function tests in celiac disease and the effect of a gluten-free diet in the US population. *Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG*, 110(8), 1216-1222.
- [255] Lebenthal, E., Shteyer, E., & Branski, D. (2008). The changing clinical presentation of celiac disease. In *Frontiers in celiac disease* (Vol. 12, pp. 18-22). Karger Publishers.

- [256] Hoffenberg, E. J., MacKenzie, T., Barriga, K. J., Eisenbarth, G. S., Bao, F., Haas, J. E., & Rewers, M. (2003). A prospective study of the incidence of childhood celiac disease. *The Journal of pediatrics*, 143(3), 308-314.
- [257] Fasano, A., Berti, I., Gerarduzzi, T., Not, T., Colletti, R. B., Drago, S., & Horvath, K. (2003). Prevalence of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: a large multicenter study. *Archives of internal medicine*, 163(3), 286-292.
- [258] Hill, I., Fasano, A., Schwartz, R., Counts, D., Glock, M., & Horvath, K. (2000). The prevalence of celiac disease in at-risk groups of children in the United States. *The Journal of pediatrics*, 136(1), 86-90.
- [259] Lurz, E., Scheidegger, U., Spalinger, J., Schöni, M., & Schibli, S. (2009). Clinical presentation of celiac disease and the diagnostic accuracy of serologic markers in children. *European journal of pediatrics*, 168(7), 839-845.
- [260] Cilleruelo, M. L., Roman-Riechmann, E., Sanchez-Valverde, F., Donat, E., Manuel-Ramos, J., Martín-Orte, E., & Ribes-Koninckx, C. (2014). Spanish national registry of celiac disease: incidence and clinical presentation. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 59(4), 522-526.
- [261] Trovato, C. M., Raucci, U., Valitutti, F., Montuori, M., Villa, M. P., Cucchiara, S., & Parisi, P. (2019). Neuropsychiatric manifestations in celiac disease. *Epilepsy & Behavior*, 99, 106393.
- [262] Tursi, A., Giorgetti, G., Brandimarte, G., Rubino, E., Lombardi, D., & Gasbarrini, G. (2001). Prevalence and clinical presentation of subclinical/silent celiac disease in adults: an analysis on a 12-year observation. *Hepato-gastroenterology*, 48(38), 462-464.
- [263] Ganji, A., Esmailzadeh, A., Aghayee, M. A., Goshayeshi, L., & Ghaffarzaghan, K. (2014). The clinical presentation of celiac disease: experiences from northeastern iran. *Middle East journal of digestive diseases*, 6(2), 93.
- [264] Rampertab, S. D., Pooran, N., Brar, P., Singh, P., & Green, P. H. (2006). Trends in the presentation of celiac disease. *The American journal of medicine*, 119(4), 355-e9.
- [265] Green, P. H., Krishnareddy, S., & Lebwohl, B. (2015). Clinical manifestations of celiac disease. *Digestive Diseases*, 33(2), 137-140.
- [266] Laurikka, P., Nurminen, S., Kivelä, L., & Kurppa, K. (2018). Extraintestinal manifestations of celiac disease: early detection for better long-term outcomes. *Nutrients*, 10(8), 1015.
- [267] Tan, IL, Withoff, S., Kolkman, JJ, Wijmenga, C., Weersma, RK et Visschedijk, MC (2021). Présentation clinique non classique au moment du diagnostic chez les patients masculins atteints de maladie cœliaque d'âge avancé. *Journal européen de médecine interne* , 83 , 28-33.
- [268] Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, Troncone R, Giersiepen K, Branski D, Catassi C, Lelgeman M, Maki M, Ribes-Koninckx C, Ventura A, Zimmer KP. (2012). European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 54(1): 136–160
- [269] Centre for Clinical Practice at NICE (UK). (2009). *Coeliac Disease: Recognition and Assessment of Coeliac Disease*.

- [270] Chorzelski TP, Beutner EH, Sulej J, Tchorzewska H, Jablonska S, Kumar V, Kapuscinska A (1984) IgA anti-endomysium antibody. A new immunological marker of dermatitis herpetiformis and coeliac disease. *Br J Dermatol* 111(4):395–402
- [271] Salmi TT, Collin P, Korponay-Szabo IR, Laurila K, Partanen J, Huhtala H, Kiraly R, Lorand L, Reunala T, Maki M, Kaukinen K. (2006). Endomysial antibody-negative coeliac disease: clinical characteristics and intestinal autoantibody deposits. *Gut* 55:1746–1753.
- [272] Feighery C (1999) Fortnightly review: coeliac disease. *Br Med J* 319(7204):236–239.
- [273] Schuppan D, Hahn EG. (2001). IgA anti-tissue transglutaminase: setting the stage for coeliac disease screening. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 13(6):635–637.
- [274] Nachman F, Sugai E, Vazquez H, Gonzalez A, Andrenacci P, Niveloni S, Mazure R, Smecuol E, Moreno ML, Hwang HJ, Sanchez MI, Maurino E, Bai JC. (2011). Serological tests for celiac disease as indicators of long-term compliance with the gluten-free diet. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 23(6):473–480.
- [275] Lamireau, T., & Olives, J. P. (2016). Maladie coeliaque. *Gastroentérologie pédiatrique*, 118.
- [276] Farthing, M., Salam, M. A., Lindberg, G., Dite, P., Khalif, I., Salazar-Lindo, E., & LeMair, A. (2013). Acute diarrhea in adults and children: a global perspective. *Journal of clinical gastroenterology*, 47(1), 12-20.
- [277] Saintot, M., Flabbee, J. A., Ziegler, O., Schmutz, J. L., & Barbaud, A. (2017). Manifestations digestives des intolérances au blé. *Revue Française d'Allergologie*, 57(4), 317-326.
- [278] Carbonnel F. (2002). Celiac disease in adults. *Encycl Med Chir. AKOS Practical Encyclopedia of Medicine* 4-0500
- [279] Mariaud de Serre NP, Verkarre V, Cellier C et al. Etiological diagnosis of villous atrophy. *Ann Pathol* 2001; 21: 319–333.
- [280] Marche, C. (1972). LES ATROPHIES VILLOSITAIRES. ASPECTS HISTOLOGIQUES, HISTOCHIMIQUES, ET ULTRASTRUCTURAUX.
- [281] Matuchansky, C., Bognel, C., Bognel, J. C., Rambaud, J. C., & Bernier, J. J. (1970). Incomplete villous atrophy of small intestine. Histological study by means of staged biopsies, measurement of mucosa. *Anatomo-clinical and biological correlations. Biologie et Gastro-enterologie*, 1, 27-42.
- [282] Cerar, A., Zidar, N., & Vodopivec, B. (2004). Colorectal carcinoma in endoscopic biopsies; additional histologic criteria for the diagnosis. *Pathology-Research and Practice*, 200(10), 657-662.
- [283] Volta, U., Mumolo, M. G., Caio, G., Boschetti, E., Latorre, R., Giancola, F., & De Giorgio, R. (2016). Autoimmune enteropathy: not all flat mucosa mean coeliac disease. *Gastroenterology and hepatology from bed to bench*, 9(2), 140.
- [284] Bao, F., Green, P. H., & Bhagat, G. (2012). An update on celiac disease histopathology and the road ahead. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 136(7), 735-745.
- [285] Marsh, M. N., Johnson, M. W., & Rostami, K. (2015). Mucosal histopathology in celiac disease: a rebuttal of Oberhuber's sub-division of Marsh III. *Gastroenterology and hepatology from bed to bench*, 8(2), 99.

- [286] Silano M, Pozo EP, Uberti F, Manferdelli S, Del Pinto T, Felli C, et al. Diversity of oat varieties in eliciting the early inflammatory events in celiac disease. *Eur J Nutr.* août 2014;53(5):1177-86.
- [287] Hahn, M., Hagel, A. F., Hirschmann, S., Bechthold, C., Konturek, P., Neurath, M., & Raithe, M. (2014). Modern diagnosis of celiac disease and relevant differential diagnoses in the case of cereal intolerance. *Allergo journal international*, 23(2), 67-77.
- [288] Villanacci, V. (2015). What is the best histopathological classification for celiac disease? Does it matter? A letter of comment to the review of Amado Salvador Pena; a new proposal. *Gastroenterology and Hepatology from Bed to Bench*, 8(4), 306.
- [289] Bao, F., Green, P. H., & Bhagat, G. (2012). An update on celiac disease histopathology and the road ahead. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 136(7), 735-745.
- [290] Collin, P., Kaukinen, K., Vogelsang, H., Korponay-Szabó, I., Sommer, R., Schreier, E., & Mäki, M. (2005). Antiendomysial and antihuman recombinant tissue transglutaminase antibodies in the diagnosis of coeliac disease: a biopsy-proven European multicentre study. *European journal of gastroenterology & hepatology*, 17(1), 85-91.
- [291] Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, Troncone R, Giersiepen K, Branski D, Catassi C, Lelgeman M, Maki M, Ribes-Koninckx C, Ventura A, Zimmer KP (2012) European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 54(1): 136–160
- [292] Vivas S, Ruiz de Morales JG, Riestra S et al (2009) Duodenal biopsy may be avoided when high transglutaminase antibody titers are present. *World J Gastroenterol* 15(38): 4775–4780
- [293] Fernandez-Banares F, Alsina M, Modolell I. (2012). Are positive serum-IgA-tissue transglutaminase antibodies enough to diagnose coeliac disease without a small bowel biopsy? Post-test probability of coeliac disease. *J Crohns Colitis* 6(8):861–866
- [294] Schuppan, D., & Zimmer, K. P. (2013). The diagnosis and treatment of celiac disease. *Deutsches Ärzteblatt International*, 110(49), 835.
- [295] Sollid, L. M., & Lundin, K. E. A. (2009). Diagnosis and treatment of celiac disease. *Mucosal Immunology*, 2(1), 3-7.
- [296] Hill, I. D., Dirks, M. H., Liptak, G. S., Colletti, R. B., Fasano, A., Guandalini, S., & Seidman, E. G. (2005). Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 40(1), 1-19.
- [297] Wei, G., Helmerhorst, E. J., Darwish, G., Blumenkranz, G., & Schuppan, D. (2020). Gluten degrading enzymes for treatment of celiac disease. *Nutrients*, 12(7), 2095.
- [298] Leffler, D. A., Kelly, C. P., Green, P. H., Fedorak, R. N., DiMarino, A., Perrow, W., & Murray, J. A. (2015). Larazotide acetate for persistent symptoms of celiac disease despite a gluten-free diet: a randomized controlled trial. *Gastroenterology*, 148(7), 1311-1319.
- [299] Lähdeaho, M. L., Kaukinen, K., Laurila, K., Vuotikka, P., Koivurova, O. P., Kärjä-Lahdensuu, T., & Mäki, M. (2014). Glutenase ALV003 attenuates gluten-induced mucosal injury in patients with celiac disease. *Gastroenterology*, 146(7), 1649-1658.

- [300] Gottlieb, K., Dawson, J., Hussain, F., & Murray, J. A. (2015). Development of drugs for celiac disease: review of endpoints for Phase 2 and 3 trials. *Gastroenterology report*, 3(2), 91-102.
- [301] Murray, J. A., Kelly, C. P., Green, P. H., Marcantonio, A., Wu, T. T., Mäki, M., & Yousef, K. (2017). No difference between latiglutenase and placebo in reducing villous atrophy or improving symptoms in patients with symptomatic celiac disease. *Gastroenterology*, 152(4), 787-798.
- [302] Malamut, G., & Cellier, C. (2011). Is refractory celiac disease more severe in old Europe?. *Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG*, 106(5), 929-932.
- [303] Dray, X., Joly, F., Lavergne-Slove, A., Treton, X., Bouhnik, Y., & Messing, B. (2006). A severe but reversible refractory sprue. *Gut*, 55(8), 1210-1211.
- [304] Al-Toma, A., Verbeek, W. H., & Mulder, C. J. (2007). Update on the management of refractory coeliac disease. *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases: JGLD*, 16(1), 57-63.
- [305] Lähdeaho, M. L., Lindfors, K., Airaksinen, L., Kaukinen, K., & Mäki, M. (2012). Recent advances in the development of new treatments for celiac disease. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 12(12), 1589-1600.
- [306] Drago, S., El Asmar, R., Di Pierro, M., Grazia Clemente, M., Sapone, A. T. A., Thakar, M., & Fasano, A. (2006). Gliadin, zonulin and gut permeability: Effects on celiac and non-celiac intestinal mucosa and intestinal cell lines. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 41(4), 408-419.
- [307] Paterson, B. M., Lammers, K. M., Arrieta, M. C., Fasano, A., & Meddings, J. B. (2007). The safety, tolerance, pharmacokinetic and pharmacodynamic effects of single doses of AT-1001 in coeliac disease subjects: a proof of concept study. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 26(5), 757-766.
- [308] Kelly, C. P., Green, P. H., Murray, J. A., DiMarino, A. J., Arsenescu, R. I., Colatrella, A. M., & Fedorak, R. N. (2009). M2048 Safety, tolerability and effects on intestinal permeability of larazotide acetate in celiac disease: results of a phase IIb 6-week gluten-challenge clinical trial. *Gastroenterology*, 5(136), A-474.
- [309] Matysiak-Budnik, T., Moura, I. C., Arcos-Fajardo, M., Lebreton, C., Ménard, S., Candalh, C., & Heyman, M. (2008). Secretory IgA mediates retrotranscytosis of intact gliadin peptides via the transferrin receptor in celiac disease. *The Journal of experimental medicine*, 205(1), 143-154.
- [310] Schumann, M., Richter, J. F., Wedell, I., Moos, V., Zimmermann-Kordmann, M., Schneider, T., & Schulzke, J. D. (2008). Mechanisms of epithelial translocation of the α 2-gliadin-33mer in coeliac sprue. *Gut*, 57(6), 747-754.
- [311] Gopalakrishnan, S., Durai, M., Kitchens, K., Tamiz, A. P., Somerville, R., Ginski, M., & Pandey, N. B. (2012). Larazotide acetate regulates epithelial tight junctions in vitro and in vivo. *Peptides*, 35(1), 86-94.
- [312] Rauhavirta, T., Oittinen, M., Kivistö, R., Männistö, P. T., Garcia-Horsman, J. A., Wang, Z., & Lindfors, K. (2013). Are transglutaminase 2 inhibitors able to reduce gliadin-induced toxicity related to celiac disease? A proof-of-concept study. *Journal of clinical immunology*, 33(1), 134-142.

- [313] Szondy, Z., Sarang, Z., Molnár, P., Németh, T., Piacentini, M., Mastroberardino, P. G., & Fésüs, L. (2003). Transglutaminase 2-/-mice reveal a phagocytosis-associated crosstalk between macrophages and apoptotic cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(13), 7812-7817.
- [314] Hils, M., Weber, J., & Buchhold, C. (2012). Selective blockers of tissue transglutaminase for celiac disease therapy. In 26th AO ECS General assembly and international celiac disease scientific conference. Better life for celiacs (pp. 6-9).
- [315] Özgenel, Ş. M., Temel, T., Teke, H. Ü., Yıldız, P., Korkmaz, H., & Özakoyol, A. (2019). HLA-DQ2/DQ8 frequency in adult patients with celiac disease, their first-degree relatives, and normal population in Turkey. *The Turkish Journal of Gastroenterology*, 30(4), 321.
- [316] Mills, J. R., Snyder, M. R., Murray, J. A., & Gandhi, M. J. (2020). Celiac disease risk stratification based on HLA-DQ heterodimer (HLA-DQA1~ DQB1) typing in a large cohort of adults with suspected celiac disease. *Human Immunology*, 81(2-3), 59-64.
- [317] Mansouri, M., Dadfar, M., Rostami-Nejad, M., Ekhlasi, G., Shahbazkhani, A., & Shahbazkhani, B. (2021). The frequency of HLA-DQ2/DQ8 haplotypes and celiac disease among the first-degree relatives of patients with celiac disease. *Gastroenterology and Hepatology From Bed to Bench*, 14(1), 36.
- [318] Alhabbal, A., & Abou Khamis, I. (2021). HLA-DQ Genotyping of Celiac Disease among Syrian patients. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, 4926-4936.
- [319] Maruntelu, I., Preda, C. M., Sandra, I., Istratescu, D., Elena Chifulescu, A., Manuc, M. & Constantinescu, I. (2022). HLA Genotyping in Romanian Adult Patients with Celiac Disease, their First-degree Relatives and Healthy Persons. *Journal of Gastrointestinal & Liver Diseases*, 31(2).
- [320] Smigoc Schweiger, D., Mendez, A., Kunilo Jamnik, S., Bratanic, N., Bratina, N., Battelino, T., & Vidan-Jeras, B. (2016). High-risk genotypes HLA-DR3-DQ2/DR3-DQ2 and DR3-DQ2/DR4-DQ8 in co-occurrence of type 1 diabetes and celiac disease. *Autoimmunity*, 49(4), 240-247.
- [321] Delgado, J. F., Amengual, M. J., Veraguas, A., Rodríguez, E., de Los Santos, M. M., & Gualarte, M. P. (2014). Paediatric celiac patients carrying the HLA-DR 7-DQ 2 and HLA-DR 3-DQ 2 haplotypes display small clinical differences. *Acta Paediatrica*, 103(6), e238-e242.
- [322] Aureli, A., Oumhani, K., Del Beato, T., El Aouad, R., & Piancatelli, D. (2016). CD1A, D and E gene polymorphisms in a North African population from Morocco. *Human Immunology*, 77(7), 566-570.
- [323] Kuijf, M. L., Geleijns, K., Ennaji, N., van Rijs, W., van Doorn, P. A., & Jacobs, B. C. (2008). Susceptibility to Guillain-Barré syndrome is not associated with CD1A and CD1E gene polymorphisms. *Journal of Neuroimmunology*, 205(1-2), 110-112.

- [324] Caporale, C. M., Papola, F., Fioroni, M. A., Aureli, A., Giovannini, A., Notturmo, F., & Uncini, A. (2006). Susceptibility to Guillain–Barré syndrome is associated to polymorphisms of CD1 genes. *Journal of neuroimmunology*, 177(1-2), 112-118.
- [325] Han, M., Hannick, L. I., DiBrino, M., & Robinson, M. A. (1999). Polymorphism of human CD1 genes. *Tissue antigens*, 54(2), 122-127.
- [326] Oteo, M., Parra, J. F., Mirones, I., Gimenez, L. I., Setien, F., & Martínez-Naves, E. (1999). Single strand conformational polymorphism analysis of human CD1 genes in different ethnic groups. *Tissue antigens*, 53(6), 545-550.
- [327] Megiorni, F., Mora, B., Bonamico, M., Nenna, R., Di Pierro, M., Catassi, C., & Mazzilli, M. C. (2008). A rapid and sensitive method to detect specific human lymphocyte antigen (HLA) class II alleles associated with celiac disease. *Clinical Chemical Laboratory Medicine*, 46(2), 193-196.
- [328] Margaritte-Jeannin, P., Babron, M. C., Bourgey, M., Louka, A. S., Clot, F., Percopo, S., & Clerget-Darpoux, F. (2004). HLA-DQ relative risks for coeliac disease in European populations: a study of the European Genetics Cluster on Coeliac Disease. *Tissue antigens*, 63(6), 562-567.
- [329] Imanishi, T. (1992). Allele and haplotype frequencies for HLA and complement loci in various ethnic groups. *HLA 1991*, 1, 1065-1220.
- [330] Excoffier, L., & Lischer, H. E. (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular ecology resources*, 10(3), 564-567.
- [331] Greco, L., Timpone, L., Abkari, A., Abu-Zekry, M., Attard, T., Bouguerrà, F., & Terzic, S. (2011). Burden of celiac disease in the Mediterranean area. *World journal of gastroenterology: WJG*, 17(45), 4971.
- [332] Mäki, M., Mustalahti, K., Kokkonen, J., Kulmala, P., Haapalahti, M., Karttunen, T., & Knip, M. (2003). Prevalence of celiac disease among children in Finland. *New England Journal of Medicine*, 348(25), 2517-2524.
- [333] Fasano, A., Berti, I., Gerarduzzi, T., Not, T., Colletti, R. B., Drago, S., & Horvath, K. (2003). Prevalence of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: a large multicenter study. *Archives of internal medicine*, 163(3), 286-292.
- [334] Wolters, V. M., & Wijmenga, C. (2008). Genetic background of celiac disease and its clinical implications. *Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG*, 103(1), 190-195.
- [335] Uncini, A., Notturmo, F., Pace, M., & Caporale, C. M. (2011). Polymorphism of CD1 and SH2D2A genes in inflammatory neuropathies. *Journal of the Peripheral Nervous System*, 16, 48-51.
- [336] Caporale, C. M., Notturmo, F., Pace, M., Aureli, A., Di Tommaso, V., De Luca, G., & Uncini, A. (2011). CD1A and CD1E gene polymorphisms are associated with susceptibility to multiple sclerosis. *International journal of immunopathology and pharmacology*, 24(1), 175-183.
- [337] I. Mirones, M. Oteo, J.F. Parra-Cuadrado, E. Martínez-Naves. (2000). Identification of two novel human CD1E alleles, *Tissue Antigens* 56 159–161.

- [338] Tamouza, R., Sghiri, R., Ramasawmy, R., Neonato, M. G., Mombo, L. E., Poirier, J. C., & Charron, D. (2002). Two novel CD1 E alleles identified in black African individuals. *Tissue antigens*, 59(5), 417-420.
- [339] A. Aureli, K. Oumhani, I. Ben El Barhdadi, T. Del Beato, A. Colanardi, P. Sebastiani, R. El Aouad, S. Aboulghras, D. Piancatelli. (2019). Evaluation of CD1A, D and E gene polymorphisms and celiac disease in Morocco, *HLA* 93 323.
- [340] Mombo, L. E., Ntoumi, F., Bisseye, C., Ramasawmy, R., Millet, P., & Tamouza, R. (2017). Homozygosity for the CD1E* 02 allele is associated with a resistance to *Plasmodium falciparum* malaria infection in Gabonese school children. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10(2), 204-207.
- [340] Garcia-Alles, L. F., Giacometti, G., Versluis, C., Maveyraud, L., de Paepe, D., Guiard, J., & de la Salle, H. (2011). Crystal structure of human CD1e reveals a groove suited for lipid-exchange processes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(32), 13230-13235.
- [341] Facciotti, F., Cavallari, M., Angénieux, C., Garcia-Alles, L. F., Signorino-Gelo, F., Angman, L., & De Libero, G. (2011). Fine tuning by human CD1e of lipid-specific immune responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(34), 14228-14233.
- [342] F. Valitutti, S. Cucchiara, A. Fasano, Celiac disease and the microbiome, *Nutrients*. 11 (2019) 2403.
- [343] Schippa, S., Iebba, V., Barbato, M., Di Nardo, G., Totino, V., Checchi, M. P., & Conte, M. P. (2010). A distinctive microbial signature in celiac pediatric patients. *BMC microbiology*, 10(1), 1-10.
- [344] Olivares, M., Neef, A., Castillejo, G., De Palma, G., Varea, V., Capilla, A., & Sanz, Y. (2015). The HLA-DQ2 genotype selects for early intestinal microbiota composition in infants at high risk of developing coeliac disease. *Gut*, 64(3), 406-417.
- [345] Brailey, P. M., Lebrusant-Fernandez, M., & Barral, P. (2020). NKT cells and the regulation of intestinal immunity: a two-way street. *The FEBS Journal*, 287(9), 1686-1699.
- [346] Whiting, P., Rutjes, A. W., Reitsma, J. B., Bossuyt, P. M., & Kleijnen, J. (2003). The development of QUADAS: a tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews. *BMC medical research methodology*, 3(1), 1-13.
- [347] Cerda-Contreras, E., Ramírez-Cervantes, K. L., Granados, J., Mena, L., Núñez-Álvarez, C., & Uscanga, L. (2018). Is celiac disease better identified through HLA-DQ8 than through HLA-DQ2 in Mexican subjects?. *Revista de Gastroenterología de México (English Edition)*, 83(4), 410-413.
- [348] Johnson, T. C., Diamond, B., Memeo, L., Negulescu, H., Hovhanissyan, Z., Verkarre, V., & Green, P. H. (2004). Relationship of HLA-DQ8 and severity of celiac disease: comparison of New York and Parisian cohorts. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 2(10), 888-894.
- [349] Yuan, J., Zhou, C., Gao, J., Li, J., Yu, F., Lu, J., & Chen, H. (2017). Prevalence of celiac disease autoimmunity among adolescents and young adults in China. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 15(10), 1572-1579.
- [350] Al-Toma, A., Goerres, M. S., Meijer, J. W., Peña, A. S., Crusius, J. B. A., & Mulder, C. J. (2006). Human leukocyte antigen-DQ2 homozygosity and the development of refractory celiac disease

- and enteropathy-associated T-cell lymphoma. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 4(3), 315-319.
- [351] Volta, U., Caio, G., Giancola, F., Rhoden, K. J., Ruggeri, E., Boschetti, E., & De Giorgio, R. (2016). Features and progression of potential celiac disease in adults. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 14(5), 686-693.
- [352] León, R. R., Pérez, L. C., de Santiago, E. R., Ariño, G. R., Martín, A. D. A., Jiménez, C. G. H., ... & Albillos, A. (2019). Genetic and flow cytometry analysis of seronegative celiac disease: a cohort study. *Scandinavian journal of gastroenterology*.
- [353] Anderson, R. P., Henry, M. J., Taylor, R., Duncan, E. L., Danoy, P., Costa, M. J., & Pasco, J. A. (2013). A novel serogenetic approach determines the community prevalence of celiac disease and informs improved diagnostic pathways. *BMC medicine*, 11(1), 1-13.
- [354] Senapati, S., Sood, A., Midha, V., Sood, N., Sharma, S., Kumar, L., & Thelma, B. K. (2016). Shared and unique common genetic determinants between pediatric and adult celiac disease. *BMC medical genomics*, 9(1), 1-8.
- [355] Amarapurkar, D. N., Somani, V. S., Shah, A. S., & Kankonkar, S. R. (2015). HLA-DQ genotyping in celiac disease in western India. *Trop. Gastroenterol*, 36, 174-178.
- [356] Brown, N. K., Guandalini, S., Semrad, C., & Kupfer, S. S. (2019). A clinician's guide to celiac disease HLA genetics. *Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG*, 114(10), 1587-1592.
- [357] Kaukinen, K., Partanen, J., Mäki, M., & Collin, P. (2002). HLA-DQ typing in the diagnosis of celiac disease. *The American journal of gastroenterology*, 97(3), 695-699.
- [358] Rostom, A., Murray, J. A., & Kagnoff, M. F. (2006). American Gastroenterological Association (AGA) Institute technical review on the diagnosis and management of celiac disease. *Gastroenterology*, 131(6), 1981-2002.
- [359] Rubio-Tapia, A., Hill, I. D., Kelly, C. P., Calderwood, A. H., & Murray, J. A. (2013). ACG clinical guidelines: diagnosis and management of celiac disease. *Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG*, 108(5), 656-676.
- [360] Milletich, P. L., Ahrens, A. P., Russell, J. T., Petrone, J. R., Berryman, M. A., Agardh, D., & Ludvigsson, J. (2022). Gut microbiome markers in subgroups of HLA class II genotyped infants signal future celiac disease in the general population: ABIS study. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 1015.
- [361] Schøsler, L., Christensen, L. A., & Hvas, C. L. (2016). Symptoms and findings in adult-onset celiac disease in a historical Danish patient cohort. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 51(3), 288-294.
- [362] Saukkonen, J., Kaukinen, K., Koivisto, A. M., Mäki, M., Laurila, K., Sievänen, H., & Kurppa, K. (2017). Clinical characteristics and the dietary response in celiac disease patients presenting with or without anemia. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 51(5), 412-416.

- [363] Rubio-Tapia, A., Ludvigsson, J. F., Brantner, T. L., Murray, J. A., & Everhart, J. E. (2012). The prevalence of celiac disease in the United States. *Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG*, 107(10), 1538-1544.
- [364] Bul, V., Sleesman, B., & Boulay, B. (2016). Celiac disease presenting as profound diarrhea and weight loss—a Celiac crisis. *The American journal of case reports*, 17, 559.
- [365] Gentile, N. M., Murray, J. A., & Pardi, D. S. (2012). Autoimmune enteropathy: a review and update of clinical management. *Current gastroenterology reports*, 14(5), 380-385.
- [366] Quirós, A. B., Sanz, E. A., Ordiz, D. B., & Adrados, J. G. (2009). From autoimmune enteropathy to the IPEX (immune dysfunction, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked) syndrome. *Allergologia et immunopathologia*, 37(4), 208-215.
- [367] Kamboj, A. K., & Oxentenko, A. S. (2017). Clinical and histologic mimickers of celiac disease. *Clinical and translational gastroenterology*, 8(8), e114.
- [368] Wang, M., Kong, W. J., Feng, Y., Lu, J. J., Hui, W. J., Liu, W. D., ... & Gao, F. (2022). Epidemiological, clinical, and histological presentation of celiac disease in Northwest China. *World Journal of Gastroenterology*, 28(12), 1272.
- [369] Capittini, C., De Silvestri, A., Rebuffi, C., Tinelli, C., & Poddighe, D. (2019). Relevance of HLA-DQB1* 02 allele in the genetic predisposition of children with celiac disease: additional cues from a meta-analysis. *Medicina*, 55(5), 190.
- [370] Martina, S., Fabiola, F., Federica, G., Chiara, B., Gioacchino, L., & Gian, L. D. A. (2018). Genetic susceptibility and celiac disease: what role do HLA haplotypes play?. *Acta Bio Medica: Atenei Parmensis*, 89(Suppl 9), 17.
- [371] Karell, K., Louka, A. S., Moodie, S. J., Ascher, H., Clot, F., Greco, L., & European Genetics Cluster on Celiac Disease. (2003). HLA types in celiac disease patients not carrying the DQA1* 05-DQB1* 02 (DQ2) heterodimer: results from the European Genetics Cluster on Celiac Disease. *Human immunology*, 64(4), 469-477.
- [372] Al-Hussaini, A., Alharthi, H., Osman, A., Eltayeb-Elsheikh, N., & Chentoufi, A. (2018). Genetic susceptibility for celiac disease is highly prevalent in the Saudi population. *Saudi journal of gastroenterology: official journal of the Saudi Gastroenterology Association*, 24(5), 268.
- [373] Vaquero, L., Caminero, A., Nuñez, A., Hernando, M., Iglesias, C., Casqueiro, J., & Vivas, S. (2014). Coeliac disease screening in first-degree relatives on the basis of biopsy and genetic risk. *European journal of gastroenterology & hepatology*, 26(3), 263-267.
- [374] Cecilio, L. A., & Bonatto, M. W. (2015). The prevalence of HLA DQ2 and DQ8 in patients with celiac disease, in family and in general population. *ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)*, 28, 183-185.
- [375] Ayesh, B. M., Zaqout, E. K., & Yassin, M. M. (2017). HLA-DQ2 and-DQ8 haplotypes frequency and diagnostic utility in celiac disease patients of Gaza strip, Palestine. *Autoimmunity Highlights*, 8(1), 1-6.

- [376] Ghawil, M., Miotti, V., Tonutti, E., Tenore, A., Hadeed, I., Sindici, C., & Abusrewil, S. (2012). HLA-DQ types of celiac disease in Libyan children with type 1 diabetes mellitus. *European journal of gastroenterology & hepatology*, 24(1), 59-63.
- [377] Piancatelli, D., Ben El Barhdadi, I., Oumhani, K., Sebastiani, P., Colanardi, A., & Essaid, A. (2017). HLA typing and celiac disease in Moroccans. *Medical Sciences*, 5(1), 2.
- [378] Karinen, H., Kärkkäinen, P., Pihlajamäki, J., Janatuinen, E., Heikkinen, M., Julkunen, R., & Laakso, M. (2006). Gene dose effect of the DQB1* 0201 allele contributes to severity of coeliac disease. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 41(2), 191-199.
- [379] Nenna, R., Mora, B., Megiorni, F., Mazzilli, M. C., Magliocca, F. M., Tiberti, C., & Bonamico, M. (2008). HLA-DQB1* 02 dose effect on RIA anti-tissue transglutaminase autoantibody levels and clinicopathological expressivity of celiac disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 47(3), 288-292.
- [380] Romanos, J., Van Diemen, C. C., Nolte, I. M., Trynka, G., Zhernakova, A., Fu, J., & Wijmenga, C. (2009). Analysis of HLA and non-HLA alleles can identify individuals at high risk for celiac disease. *Gastroenterology*, 137(3), 834-840.
- [381] Xiao, C. J., Cavalli-Sforza, L. L., Minch, E., & Du, R. F. (2000). Geographic distribution maps of human genes in China. *Yi Chuan xue bao= Acta Genetica Sinica*, 27(1), 1-6.
- [382] Xue, F., Wang, J., Hu, P., Ma, D., Liu, J., Li, G., & Hou, H. (2005). Identification of spatial genetic boundaries using a multifractal model in human population genetics. *Human biology*, 577-617.
- [383] Yuan, J., Gao, J., Li, X., Liu, F., Wijmenga, C., Chen, H., & Gilissen, L. J. (2013). The tip of the “celiac iceberg” in China: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*, 8(12), e81151.
- [384] Al-Hussaini, A., Eltayeb-Elsheikh, N., Alharthi, H., Osman, A., Alshahrani, M., Sandogji, I., & Bashir, M. S. (2019). HLA-DQ genotypes relative risks for celiac disease in Arabs: A case-control study. *Journal of digestive diseases*, 20(11), 602-608.
- [385] Pietzak, M. M., Schofield, T. C., McGinniss, M. J., & Nakamura, R. M. (2009). Stratifying risk for celiac disease in a large at-risk United States population by using HLA alleles. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 7(9), 966-971.
- [385] Castro-Antunes, M. M., Crovella, S., Brandão, L. A. C., Guimaraes, R. L., Motta, M. E. F. A., & Silva, G. A. P. D. (2011). Frequency distribution of HLA DQ2 and DQ8 in celiac patients and first-degree relatives in Recife, northeastern Brazil. *Clinics*, 66, 227-231.
- [386] Fernández-Cavada-Pollo, M. J., Alcalá-Peña, M. I., Vargas-Pérez, M. L., Vergara-Prieto, E., Vallcorba-Gómez-Del Valle, I., Melero-Ruiz, J., & González-Roiz, C. (2013). Celiac disease and HLA-DQ genotype: diagnosis of different genetic risk profiles related to the age in Badajoz, southwestern Spain. *Rev Esp Enferm Dig*, 105(8), 469-76.
- [387] Verma, A. K., Singh, A., Gatti, S., Lionetti, E., Galeazzi, T., Monachesi, C., & Makharia, G. K. (2018). Validation of a novel single-drop rapid human leukocyte antigen-DQ2/-DQ8 typing method to identify subjects susceptible to celiac disease. *JGH Open*, 2(6), 311-316.
- [388] Mohta, S., Rajput, M. S., Ahuja, V., & Makharia, G. K. (2021). Emergence of Celiac disease and Gluten-related disorders in Asia. *Journal of Neurogastroenterology and Motility*, 27(3), 337.

- [389] Mohta, S., Rajput, M. S., Ahuja, V., & Makharia, G. K. (2021). Emergence of Celiac disease and Gluten-related disorders in Asia. *Journal of Neurogastroenterology and Motility*, 27(3), 337.
- [390] Verma, A. K., Singh, A., Gatti, S., Lionetti, E., Galeazzi, T., Monachesi, C., & Makharia, G. K. (2018). Validation of a novel single-drop rapid human leukocyte antigen-DQ2/-DQ8 typing method to identify subjects susceptible to celiac disease. *JGH Open*, 2(6), 311-316.
- [391] Makharia, G. K., & Catassi, C. (2019). Celiac disease in Asia. *Gastroenterology Clinics*, 48(1), 101-113.
- [392] Poddighe, D., Rakhimzhanova, M., Marchenko, Y., & Catassi, C. (2019). Pediatric celiac disease in Central and East Asia: current knowledge and prevalence. *Medicina*, 55(1), 11.
- [393] Singh, P., Arora, A., Strand, T. A., Leffler, D. A., Catassi, C., Green, P. H., & Makharia, G. K. (2018). Global prevalence of celiac disease: systematic review and meta-analysis. *Clinical gastroenterology and hepatology*, 16(6), 823-836.
- [394] Sharp, S. A., Jones, S. E., Kimmitt, R. A., Weedon, M. N., Halpin, A. M., Wood, A. R., & Oram, R. A. (2020). A single nucleotide polymorphism genetic risk score to aid diagnosis of coeliac disease: a pilot study in clinical care. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 52(7), 1165-1173.
- [395] Murray, J. A., Frey, M. R., & Oliva-Hemker, M. (2018). Celiac disease. *Gastroenterology*, 154(8), 2005-2008.
- [396] M. Brigl, M.B. Brenner, CD1: antigen presentation and T cell function, *Annu. Rev. Immunol.* 22 (2004) 817–890.
- [397] D.C. Jones, C.M. Gelder, T. Ahmad, I.A. Campbell, M.C. Barnardo, K.I. Welsh, et al., CD1 genotyping of patients with Mycobacterium malmoense pulmonary disease, *Tissue Antigens* 58 (2001) 19–23.
- [398] Gianfrani, C., Vitale, S., & Troncone, R. (2022). New Therapeutic Strategies in Celiac Disease. In *Advances in Celiac Disease* (pp. 171-191). Springer, Cham.