REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE : SCIENCE
DEPARTEMENT : SNV
N° :……



DOMAINE : SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE
FILIERE : BIOLOGIE
OPTION : BIOTECHNOLOGIE VEGETALE ET METAGENOMIQUE

Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique

Par :

ALILI Radia et DJOUBER Hafida

Intitulé

Le blé transgénique sans gluten : nouvelle solution pour la maladie cœliaque

Soutenu devant le jury composé de :

Président :	**Dr. L.BENDERRADJI**	**Université de M'sila**
Rapporteur :	**Dr. S.FRIHA**	**Université de M'sila**
Examinateur :	**Dr. M.GHADBANE**	**Université de M'sila**

Année universitaire : 2016 /2017

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier tout premièrement ALLAH le tout puissant pour la volonté, la santé et la patience, qu'il nous a donné durant toutes ces longues années.

Ainsi, nous tenons également à exprimer nos vifs remerciements à notre encadreur Mm FRIHA S pour avoir d'abord proposée ce thème, pour suivi continuel tout le long de la réalisation de ce mémoire et qui n'a pas cessée de nous donner ses conseils.

Nous tenons également à exprimer nos profonde gratitude au docteur Laid BENDERRADJI pour avoir accepté d'apprécies le travail et de présider le jury.

Par la même occasion, nos remerciements vont aux docteur Moloud GHADBANE qu'est bien voulu honorer le jury par leur présence et pour avoir accepté de juger ce travail.

Nous tenons à remercier vivement toutes personnes qui nous ont aidé à élaborer et réaliser ce mémoire,

ainsi à tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin accomplir ce travail.

Nos remerciements vont aussi à tous les enseignants et le chef de département de biologie aussi tout la famille du département.

Également, un remerciement à tout nos collègues de promotion 2017 pour les bons moments qui nous avons passé ensemble.

De Tout personne qui comprend la notion de la souffrance pour l'obtention de la vérité

Dédicace

On dédie ce travail

À nos familles

Nos amis

ET

Nos camarades

Liste des abréviations

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité (HLA)

CPA : Cellule Présentatrice d'Antigène

DCL : Dicer Like Protein.

FDA : Food and Drug Administration

F /G : Filles sur Garçon

FPM : faible poids moléculaire

HC-Pro : helper component proteinase

HLA : Human leucocyte antigen

HPM : haut poids moléculaire

IgG : Immunoglobuline G

IL : Interleukine

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PA : polyamide

PTGC : Post transciptionnal gene silencing

SG-FPM : Sous-unité de Gluténine de Faible Poids Moléculaire

SG-HPM : Sous-unité de Gluténine de Haut Poids Moléculaire

TCA : Acide Trichloroacétique

TCR : T Cell Receptor

TEMED : N, N, N', N'-Tetramethylethylnediamine

TGF : Transforming growth factor

TGS : transcriptionnal gène silencing

TNF : Tumor Necrosis Factor

UCC : Union des Coopératives des Céréales

Liste des figures

Figure 1. Maladie cœliaque : a. Endoscopie digestive haute, b. coupes histologiques de l'intestin grêle……..…….03

La figure 2. Schématise ces processus physiopathologiques…….....07

Figure 3. Coupe d'un grain de blé……..……..10

Figure 4. Différents organes du grain de blé……...…….14

Figure 5. Carte de la totalité des loci connu des gluténines et des gliadine (chez le Blé tendre et le blé dur) sur le chromosome A du groupe1. (Distances en centimorgans)……20

Figure 6. Carte de la totalité des loci connu des gluténines et des gliadine (chez Le blé tendre et le blé dur) sur le chromosome B du groupe1. (Distances en Centimorgans) ……...……21

Figure 7. Les différentes stratégies de la transgénèse……..23

Figure 8. Schéma montrant comment les brins d'ADN antisens interfèrent avec la transcription de protéine……..….24

Figure 9. Mécanismes d'action des oligonucléotides antisens…….…34

Figure 10. Oligonucléotides utilisés dans la stratégie antisens……...…….35

Figure 11. La Région enquêtée (Wilaya de m'sila)……...…….49

Graphique 1. Répartition annuelle des malades cœliaques……...……..55

Graphique 2. La répartition des malades par tranche d'âge selon l'âge au diagnostic……...56

Graphique 3. Répartition des patients de notre série selon le sex-ratio……..57

Graphique 4. Les formes familiales retrouvées dans notre étude…… ……58

Graphique 5. Répartition des malades selon les principaux signes cliniques……...…..61

Graphique 6. La réalisation de la biopsie……...……61

Liste des tableaux

Tableau 1. Classification botanique des blés dur et tendre…….09

Tableau 2. Composition chimique du grain du blé……..……11

Tableau 3. La cotation de la qualité chez le blé selon la composition en sous unités gluténines……..……18

Tableau 4. Répartition des maladies coliques par sexe dans les 15 régions de M'sila étudiées……..56

Tableau 5. Principaux signes cliniques présentés par les patients de notre série……60

Tableau 6. Exemples de produits sans gluten commercialisés en Algérie……..……66

Tableau 7. Alimentation des malades cœliaques algériens…….……67

Sommaire

Introduction générale…….……01

Chapitre Ⅰ : Présentation de la maladie cœliaque

1.Qu'est-ce que la maladie cœliaque…….……....03

2.Facteurs d'apparition……..04

2.1.Facteurs environnementaux……..…..04

2.1.1.Le gluten……..……04

2.1.2.Autres facteurs……..…….……..04

2.2.Facteurs génétique…….……..…05

2.2.1.De la région HLA……05

2.2.2.En dehors la région……..……05

2.3.Pysiopathologie de la maladie…….……06

Chapitre II : Présentation sur le blé

1.Généralité sur le blé ……..…08

1.1. Origine et historique du blé dur et du blé tendre …….……..08

1.2.botanique et description morphologique …….…….…..09

1.2.1.classification botanique ……...09

1.2.2.description morphologique ……09

1.3.Importance économique du blé ……..……....11

2.Grain de blé ……..…..12

2.1. Composition des différents organes ……..…12

2.2. Les différentes fractions protéiques …….....….14

2.2.1.protéines cytoplasmiques ou métaboliquement active ……...….14

2.2.2. protéines de réserve …….……..15

3.Relation entre diversité de protéines de réserves et la qualité……..….17

Chapitre III : Le blé transgénique sans gluten

1.Génome du blé et synthèse des protéines de réserve……...…..19

1.1.Génome du blé……..……...…19

1.2.Détermination génétique des protéines de réserve……..……..…..19

1.3.Le contrôle génétique de la synthèse des gliadine et des gluténines……...……..…..21

1.4.La nomenclature allélique de protéines de réserves……...….21

2.Définition de la transgénèse……..…….23

3.Applications de la transgénèse……..….23

3.1.Induire un nouveau caractère……...…..24

3.2.Inactiver un caractère……..……24
3.2.1.ADN antisens…….…..24
3.2.2.ARN antisens……...…29
3.2.2.1.Les mécanismes d'action des oligonucléotides antisens……..…….30
1.Mécanisme impliquant la ribonucléase……..30
2.Mécanisme ne faisant pas appel à une coupure de l'ARN messager par la ribonucléase..31
3.Inhibition de l'épissage des ARN pré-messager…….……33
3.2.2.2.Les paramètres contrôlant l'efficacité des oligonucléotides antisens……....35
4. Les travaux publiés sur le blé transgénique exempt de gluten…….…….38
5.Les travaux publiés sur la stratégie anti sens…….43
6. Le débat éthique sur le blé GM sans gluten ……..……...…46

Etude épidémiologique

1.L'objectif de l'étude……49
2.Lieu de l'enquête……....49
3.Type d'étude et population étudiée…….……50
4.Critères d'inclusion…….……50
5.Fiche d'exploitation……50
6.Analyse statistique…….54

Résultats

1.Données épidémiologiques……....55
1.1.Fréquence et répartition annuelle…….……...…55
1.2.L'age……....55
1.3.Le sexe……..……..56
2.Données cliniques……..57
2.1.Antécédents…….……..……..57
2.1.1.L'age à l'introduction du gluten……57
2.1.2.L'allaitement maternel……..……...…….58
2.1.3.Formes familiales……..……...…….58
2.2.Age de début de la symptomatologie clinique……..……..……59
2.3.Manifestations cliniques…….……...……..59
2.3.1.Signes extradigestifs……..…..…….59
2.4.Etude histologique……..……....61
3.Suivi et évolution……..…….62
3.1.Evolution favorable…….....……...…62

3.2.Evolution défavorable malgré la poursuite du RSG rapportée par les parent……..…..62

Discussion

1.Discussion des données épidémiologiques……..…….63
1.1.L'age…….……..….63
1.2.Le sexe…….……...64
2.Discussion des données cliniques……..……64
2.1.Antécédents……...……..…64
2.1.1.Age d'introduction du gluten……..…..64
2.1.2.Allaittement maternel……...……..…..65
2.1.3.Formes familiales …….……...……65
3.Résultat de l'enquête sur l'alimentation des maladies cœliaques……...……66
3.1.Exemple de produits sans gluten commercialisés en Algérie…….....……66
3.2.Aliments souhaités et l'on difficiles à fabriquer…….....…….66
3.3.Problèmes rencontrés……..……67
3.4.La série de problèmes rencontrés quotidiennement par la maladie cœliaques à concerner essentiellement…….…….……68
Conclusion……...…….69
Références bibliographiques
Résumé

Introduction

Introduction

La maladie cœliaque est une entéropathie auto-immune induite par l'ingestion de gluten chez des sujets génétiquement prédisposés (SCHMITZ & GARNIER-LENGLINE, 2008). Elle se traduit par une atrophie de la muqueuse du grêle proximal, régressive après exclusion alimentaire du gluten de blé et des prolamines équivalentes des autres céréales réputées toxiques telles que le seigle et l'orge (CLOT *et al.*,2001).

La maladie cœliaque est considérée actuellement comme l'une des maladies gastro-intestinales les plus fréquentes. Elle est très répandue dans les pays européens avec une prévalence qui serait située entre 0,1 et 3,3% et semble aussi élevée en Afrique du nord avec 1,4%0 (TALAL *et al.*,1997 ; CLOT *et al.,* 2001 ; DENERY-PAPINI *et al.,* 2001). Chez des enfants du Sahara Occidental, CATASSI *et al.*,1999 rapportent des prévalences plus élevées avec 5 à 6%0 de cas d'une moyenne d'âge de 7,4 ans. Cette affection reste rare en Amérique du nord et en Inde, exceptionnelle en Afrique noire et ignorée en Chine (HADJI 2000). En Algérie, une insuffisance de l'information est notée.

Il est connu que le traitement de la maladie cœliaque est diététique et repose sur l'exclusion du gluten contenu dans certaines céréales essentiellement le blé, le seigle et l'orge. Par ailleurs, les céréales occupent une place importante dans l'alimentation mondiale et les pays situés au sud du bassin méditerranéen, dont l'Algérie, font partie de ceux qualifiés de type céréalier à blé (FAO, 2009). Ainsi, le gluten présent dans de nombreuses préparations alimentaires algériennes, rend le suivi du Régime Sans Gluten (RSG), difficile et peut favoriser la marginalisation de ces malades de la société. En Algérie, les cœliaques souffrent d'un manque dans la disponibilité et la diversité d'aliments de consommation courante exempt de gluten. Les aliments diététiques commercialisés sont pour la plupart importés et coûtent déjà dans leurs pays d'origine 10 à 15 fois plus chers que ceux habituellement consommés. Quelques produits locaux sont lancés sur le marché mais cela reste insuffisant.

De façon globale, les besoins spécifiques des malades cœliaques sont partiellement ou parfois faiblement couverts par les produits qui circulent dans le marché algérien.

Les gènes sont à la base de la vie de la cellule, et par là même de celle de l'organisme pluricellulaire. Les cellules de différents organes expriment ainsi des gènes distincts, qui leur permettent d'exercer leurs fonctions. Dans l'organisme en développement, l'expression de

gènes spécifiques par les cellules leur permet ainsi de s'engager dans une voie de développement donnée, puis de se différencier.

Les chercheurs ont développé une stratégie- *antisens*- regarder ce qui se passe lorsqu'un gène « fonctionne mal », Ces stratégies ont des applications potentielles dans :

1) le développement de nouveaux agents thérapeutiques qui modulent sélectivement l'expression de gènes endogènes anormalement activés, comme les oncogènes, ou de gènes exogènes viraux ou parasitaires ;

2) l'étude de la fonction d'un gène donné et du rôle d'une séquence spécifique dans le contrôle de l'expression d'un gène ;

3) le développement de nucléases artificielles, spécifiques de séquence, qui pourraient couper en des sites précis de longs fragments d'ADN avec, comme application, la cartographie de gènes sur des chromosomes et l'inactivation de gènes indésirables.

L'objectif primordial de notre travail vise à donner une solution définitive pour cette maladie par la création de nouvelles variétés de blé sans gluten qui permet l'éradication de la maladie cœliaque après avoir sensibiliser la population aux risques sérieux de l'ingestion d'un produit considéré en principe comme un aliment de base dans notre nutrition sans prendre précautions à ses inconvénients néfastes sur la santé dues au gluten qui représente la protéine de réserve la plus importante. Sans oublier que cet aliment à déjà subit au cours de ces dernières années une amélioration génétique dans le sens d'augmenter sa teneur en gluten en réponse au domaine de la boulangerie ; chose qui aggrave de plus en plus sa toxicité.

Le présent mémoire est structuré en quarte parties : une première partie consiste à présenter une synthèse bibliographique sur la maladie cœliaque. La deuxième partie est consacrée à une étude botanique des variétés de blé dur et de blé tendre, et les propriétés des protéines de réserve. La troisième partie traite les différentes techniques de la stratège antisens. Enfin, dans la quatrième partie nous présenteront l'ensemble des données et des résultats obtenus lors d'une étude épidémiologie réalisée sur cette maladie au niveau de la wilaya de M'sila.

Présentation de la maladie cœliaque

1. Qu'est-ce que la maladie cœliaque ?

La maladie cœliaque est définie selon la Société Européenne de Pédiatrie, Gastroentérologie, Hépatologie, et Nutrition, comme une entéropathie auto-immune secondaire à l'ingestion de gluten, chez des sujets prédisposés génétiquement (HLA-DQ2 ou DQ8) (Husby S et al., 2012).

La maladie cœliaque est une entéropathie auto-immune induite par l'ingestion de gluten chez des sujets génétiquement prédisposés (MÄKI and COLLIN, 1999 ; MATUCHANSKY *et al.* 1999 ; SCHMITZ et GARNIER-LENGLINE 2008).
Elle est caractérisée par une inflammation chronique du grêle aboutissant à une atrophie villositaire, ce qui entravera les fonctions de digestion et d'absorption intestinales. (Scherer JR, 2008), Elle se traduit par une atrophie de la muqueuse du grêle proximal (Figures 1. a et b), régressive après exclusion alimentaire du gluten de blé et des prolamines équivalentes des autres céréales réputées toxiques : seigle et orge (CLOT *et al.*,2001).

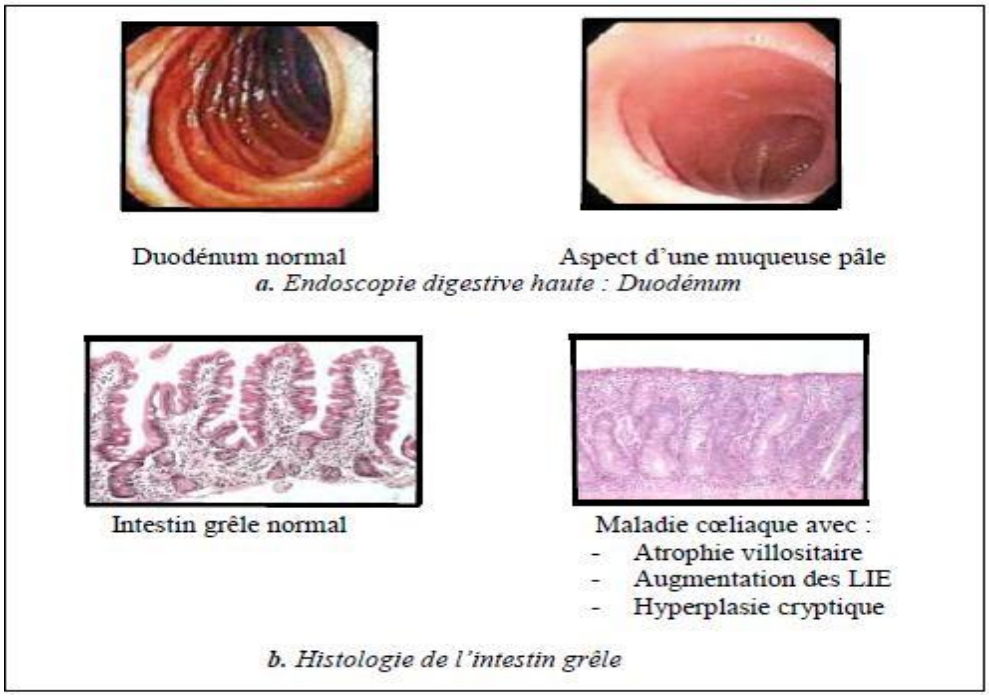


Figure 1. Maladie cœliaque : ***a.*** Endoscopie digestive haute, ***b.*** coupes histologiques de l'intestin grêle (CELLIER *et al* 2000 ; 2006)

2. Facteurs d'apparition de la maladie

La maladie cœliaque est une pathologie multifactorielle. Sa survenue dépend obligatoirement de l'exposition orale au gluten, mais aussi de facteurs complémentaires comme la prédisposition génétique, de facteurs infectieux mal connus ou de l'introduction trop précoce du gluten dans l'alimentation chez l'enfant.

2.1. Facteurs environnementaux

2.1.1. Le gluten

La constitution des grains de blé est faite d'un sucre, l'amidon, et d'un mélange complexe de protéines. Le gluten est la masse de protéines restant après l'extraction de l'amidon du blé et de l'ensemble des graminées. Il est présent dans la partie non hydrosoluble des farines de blé, d'orge et de seigle, céréales de la famille des Triticale.

Ce mélange de protéines est classe en deux familles : la gliadine et la glutéine, de solubilité différente dans l'alcool. Les gliadines sont des protéines monomériques classées en α, β, γ, ω gliadines selon leur mobilité en électrophorèse à bas pH et leur séquence en acides aminés.

Les gluteines sont des polymères qui peuvent être sépares en sous-unités de poids moléculaires variables après réduction de ponts disulfures.

La fraction du gluten soluble dans l'alcool constitue les prolamines, composants toxiques dans la maladie cœliaque et présentes en quantités importantes dans :

- le blé, ou les prolamines sont des alpha-gliadines ;
- l'orge, ou les prolamines sont des hordenines ;
- le seigle, ou les prolamines sont des sécalines ;
- le triticale, hybride synthétique de blé et de seigle ;
- l'avoine, ou les prolamines sont des avenines Green P et Jabri B, 2003).

2.1.2. Autres facteurs environnementaux

En Suede, une intéressante étude faite par Ascher, a démontré que la recommandation du gouvernement concernant l'augmentation des quantités de gluten lors de la divers ification de l'alimentation, dans les années 1985-1987, a entrainé une véritable épidémie de maladies cœliaques chez les enfants de moins de 2 ans. La fréquence est passée de 1/1000 à 1/300. Elle est directement liée à la quantité de gluten introduite à un moment donne dans l'enfance. (Ivarsson A et al, 2000).

Les sujets intolérants au gluten ont été, en moyenne, allaites deux mois de moins que les sujets non intolérants. L'allaitement maternel aurait donc un effet protecteur. L'association de

gluten pendant l'allaitement maternel réduirait le risque de maladie cœliaque. Dans les familles ou il existe déjà un enfant atteint d'intolérance au gluten, il est recommandé à la mère d'allaiter le suivant.

Les infections intestinales favoriseraient l'apparition de la maladie. Certains virus comme le rota virus ou l'adénovirus entraineraient une fragilité de la muqueuse intestinale, qui favoriserait l'entrée des peptides immunogènes, donc la rupture des mécanismes de tolérance immunitaire dans l'intestin.

L'hypothèse précédente est renforcée par l'apparition de la maladie chez les sujets ayant un traitement par interféron α, et par la présence de cette cytokine dans l'intestin de malades cœliaques non traites. Elle serait produite lors d'infections virales et entrainerait l'intolérance orale au gluten. (Cerf-Bensussan N et Jabri B, 2001).

2.2. Facteurs génétiques

2.2.1. De la région HLA

La maladie est étroitement liée au complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) encore appelé HLA pour Human Leucocyte Antigène. Des études de concordance entre jumeaux et la constatation d'agrégation familiale ont permis de suspecter le phénomène de pré disposition génétique. La fréquence de la maladie cœliaque chez les parents de premier degré de sujets atteints est de 10% et le taux de concordance chez les jumeaux monozygotes est de 70% à 90% contre 10% à 30% chez les jumeaux dizygotes. (Polenko I et al, 1981).

Cette concordance imparfaite pour les antigènes HLA montre l'intervention d'autres facteurs génétiques encore mal connus.

La maladie cœliaque est particulièrement liée aux antigènes HLA de classe II qui sont codes par les gènes de la région HLA-D du chromosome 6, comprenant trois sous-régions : HLA-DP, HLA-DQ et HLA-DR. Ces antigènes sont des hétéromères composes de deux chaines polymorphes α et β, liées par liaisons non covalentes, codes par les trois sous-régions HLA-D. 95% des malades cœliaques ont deux allèles HLA-DQ2 : les allèles DQ A1*0501 et DQ B1*0201. Parmi les non-porteurs du gène DQ2, de nombreuses études ont montré une association avec l'hétéromère DQ8. (Rambaud J-C et Modigliani R, 1988)

2.2.2. En dehors de la région HLA

Hormis le complexe HLA, il existe un exemple prometteur dans l'apparition de la maladie. Il s'agit du gène CTLA-4, codant pour la protéine 4 associée au lymphocyte T cytotoxique, porte sur le chromosome 2. La protéine 4 est impliquée dans la régulation et l'activation des lymphocytes T.

Le polymorphisme des gènes codant pour l'interleukine 10 (IL 10), le TNF-α et le TGF-β intervient aussi dans la maladie. Les interleukines IL-10, aux propriétés antiinflammatoires, seraient moins produites chez un patient atteint de la maladie cœliaque que chez un individu sain. Ce facteur pourrait augmenter la gravite de la maladie. (Cerf-Bensussan N et Jabri B, 2001).

2.3. Physiopathologie de la maladie

Les phénomènes responsables des lésions intestinales sont principalement dus à la rencontre entre un antigène alimentaire, le gluten et les prolamines apparentées, et un individu génétiquement prédispose.

Lors de la digestion, la gliadine passe la barrière épithéliale. Cet antigène est reconnu par les anticorps anti-endomysium. Ces derniers sont aussi dirigés contre une protéine de la matrice extra-cellulaire qui est la transglutaminase tissulaire. Celle-ci est une enzymeubiquitaire libérée par les macrophages et les entérocytes.

Dans la *lamina propria*, la gliadine forme donc un complexe avec la transglutaminase qui de amide certains résidus glutamine de la gliadine. L'activation cellulaire T, première lésion immunopathologique, siègerait dans le chorion et non pas dans l'épithélium. Les complexes transglutaminase-gliadine de amidée sont captes par les macrophages et les cellules dendritiques porteurs de l'HLA-DQ2 ou HLA-DQ8.

Le complexe transglutaminase-gliadine d'amidee-antigènes de classe II du HLA est ensuite présente aux lymphocytes T CD4+ spécifiques du chorion, qui vont être actives. Les lymphocytes T CD4+ vont activer le récepteur cellulaire T (RCT) α/β et induire une réponse encytokines de type Th2 avec sécrétion d'interleukines. Cette réponse entraine la production d'anticorps anti-gliadine et anti-transglutaminase par stimulation des lymphocytes B et des plasmocytes.

Des cytokines pro-inflammatoires telles que TNF-α et interférons sont produites par les lymphocytes CD4+. Elles peuvent activer des lymphocytes intra-épithéliaux cytotoxiques CD8+ et recruter des cellules inflammatoires comme les polynucléaires neutrophiles, les macrophages ou les monocytes. Les lésions enterocytaires en sont la conséquence. Les macrophages vont synthétiser des métalloprotéines qui vont déstructurer la matrice extracellulaire. Les fibroblastes permettent l'augmentation de l'expression enterocytaire des antigènes HLA-DR par amplification de la production de transglutaminases. L'architecture de la muqueuse enterocytaire est modifiée, il s'en suit l'atrophie villositaire et l'hypertrophie des cryptes. (Rambaud J-C et Modigliani R, 1988).

D'après la physiopathologie ainsi décrite, les caractéristiques d'une maladie auto-immune sont réunies : la gliadine qui est l'antigène stimulant, le complexe HLA-DQ de classe II, et l'auto-antigène qui est la transglutaminase.

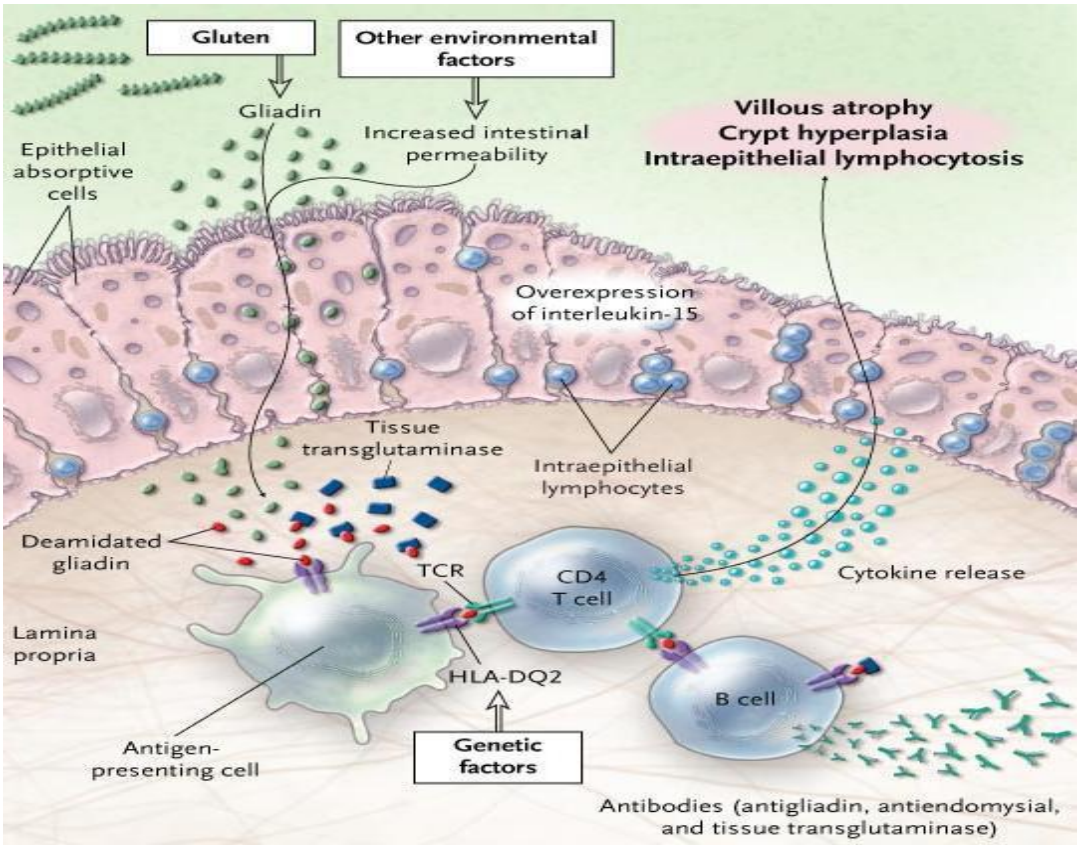


Figure 2. Schématise ces processus physiopathologiques (Peter H.R et Green M.D, 2007).

Présentation sur le blé

1. Généralités sur le blé

Les céréales constituent 45% des apports énergétiques dans l'alimentation Humaine et leur utilisation organisée est à l'origine des civilisations. Il existe trois Groupes de céréales majeures qui correspondent à 75% de la consommation Céréalière mondiale. Un premier grand groupe de céréales est formé par le blé, l'orge, le seigle et l'avoine. Il émerge dans le triangle fertile, berceau des Civilisations occidentales qui ont donc leur point de départ au Moyen Orient et au Proche Orient. Un deuxième grand groupe est formé par le maïs et un troisième grand groupe est ordonné autour du riz. Avec une production annuelle mondiale d'environ 600 millions de tonnes, le blé est la céréale la plus cultivée dans le monde et la plus consommée par l'homme (Ricroch et al., 2011).

Une des particularités du blé réside dans la forte teneur en amidon (70%) et en gluten (15%) de ses grains. De tous les types de blés, deux ont une importance économique majeure :

- Le blé dur (*Triticum durum*) est surtout cultivé dans les régions sèches et chaudes au sud de l'Europe et en Afrique du Nord. Riche en gluten, il est employé pour les semoules et pâtes alimentaires
- Le blé tendre (*T.aestivum*), le plus cultivé, est produit dans les zones plus tempérées comme le nord de l'Europe et du continent américain pour la confection de la farine panifiable (Sabbagh, 2006).

1.1. Origine et historique du blé dur et du blé tendre

Durant le développement de la civilisation indo-européenne, le blé est de venu la principale céréale des peuples occidentaux sous climat tempéré (Henry et DeBuyser, 2001). Le blé est l'une des principales ressources alimentaires de l'humanité.

Sa culture précède l'histoire et caractérise l'agriculture néolithique, née en Europe il y a 8000 ans. La plus ancienne culture semble être le blé dur dans le croissant fertile de la Mésopotamie (Feillet, 2000).

Le blé tendre est apparu entre 5000 et 6000 ans avant Jésus-Christ dans le croissant fertile puis s'est dispersé à partir de la Grèce en Europe (Doussinault et al.,1992). C'est à partir de cette zone que les blés ont été diffusés vers L'Afrique, l'Asie et l'Europe. La route la plus ancienne de diffusion des céréales versles pays du Maghreb fut à partir de la péninsule italienne et de la Sicile (Boulal et al.,2007).

En Algérie, Léon Du cellier (1878-1937) en particulier, parcourant le blé, fit au Début du siècle le recensement d'une flore mal connue. Il découvrit et analysa les nombreuses variétés qui peuplaient les champs cultivés, recueillit les échantillons les Plus caractérisés, les plus

productifs, les plus résistants à la sécheresse ou à quelques Maladies. Le blé tendre était inconnu en Afrique du Nord avant l'arrivée des français (Lery, 1982). Les blés ont d'abord évolué en dehors de l'intervention humaine, puis Sous la pression de sélection qu'ont exercée les premiers agriculteurs (Henry et de Buyser, 2001).

D'après Sears (1954) in Auriau et al. (1992), Belaid (1996), Feillet (2000) etHenry et De Buyser (2001), les deux espèces des céréales les plus cultivées sont :

-le blé dur (*Triticumdutirum)* : AABB (2 n = 4 x = 28) Tétraploïde ;

- le blé tendre (*Triticumaestivum*) : AABB DD (2 n = 6 x = 42) Hexaploïde.

La filiation génétique des blés est complexe et incomplètement élucidée. Le croisement naturel *Triticummonococcum* (génome A) X *Aegilops* (bicornis, speltoides, longissima ou searsii) (génome B) a permis l'apparition d'un blé dursauvage de type AABB (*Triticumturgidum* ssp. *dicoccoïdes*), qui a ensuite progressivement évolué vers *Triticumturgidum*ssp. *Dicoccum*, puis vers *Triticumdurum* [blé dur cultivé]. Les blés tendres cultivés (AABBDD) seraient issus d'un croisement, également naturel, entre *Triticumturgidum* ssp. *dicoccum*(AABB) et *Aegilops squarrosa*(DD) (Feillet, 2000; Henry et De Buyser, 2001).

1.2. Classification botanique et description morphologique

1.2.1. Classification botanique

Le blé est une plante herbacée, monocotylédone appartenant au groupe des céréales à paille classée de la manière suivante voir (Tableau3).

Tableau 1. Classification botanique des blés dur et tendre (Anonyme, 2011).

Règne	**Taxonomie**
Embranchement	Spermaphytes
S/Embranchement	Angiospermes
Classe	Monocotylédones
Ordre	Poales
Famille	Poaceae
Genre	*Triticum*
Espèce	*Triticum durum* Desf (blé dur)

1.2.2. Description morphologique

Il s'agit d'une graminée de hauteur moyenne dont la structure morphologique générale est la suivante :

- La tige est généralement cylindrique, dressée creuse et cloisonnée par des nœuds pleins et renflés : ce genre de tige a reçu le nom de chaume (Auriauetal., 1992).Vers la base, chaque nœud au contact du sol porte un faisceau de racines adventives et souvent une tige verticale non ramifiée. C'est ainsi qu'un seul grain peut donner naissance à plusieurs tiges. Le phénomène favorisé par les roulages de printemps a reçu le nom de tallage. Les feuilles qui prennent naissance au niveau des nœuds sont disposées en deux rangées opposées autour de la tige. C'est une plante annuelle, semée à l'automne (blé d'hiver) ou au printemps (blé de printemps).

- L'épi est composé de petits épis ou épillets. Chaque épillet est enveloppé de deux bractées protectrices appelées glumes. Il est composé de trois, quatre, cinq fleurs avec une fleur terminale stérile (Bozzini, 1988). Chaque fleur est elle-même entourée de deux petites bractées protectrices ou glumelles.

- La fleur est verdâtre et dépourvue de corolle : il n'y a pas de pétales colorés. Le calice est formé de deux minuscules écailles ou glumellules jouant le rôle des épales (Bozzini, 1988).

-Le grain de blé est un fruit sec et indéhiscent, appelé caryopse, constitué d'une graine et de téguments et formé principalement de trois régions (Feillet2000 ;Clerget, 2011)

- L'albumen qui représente 80-85 % du grain, constitué de l'albumen amylacé (au sein duquel subsistent des cellules remplis de granules d'amidon dispersés au milieu d'une matrice protéique et dont les parois cellulosiques sont peu visibles) et de la couche à aleurone.

- Les enveloppes de la graine et du fruit sont formées principalement de six tissus différents épiderme du nucelle, tégument séminal ou testa (enveloppe de la graine), cellules tubulaires, cellules croisées, mésocarpe et épicarpe.

- Le germe représente 3% du grain, composé d'un embryon, qui est formé d'une coléoptile, de la gemmule, de la radicule, du coléorhize et de la coiffe. Le grain est principalement constitué d'amidon (70%), de protéines (10-15%).Selon les variétés et les conditions de culture, et de pentosanes (8 à 10 %), les autres constituants.

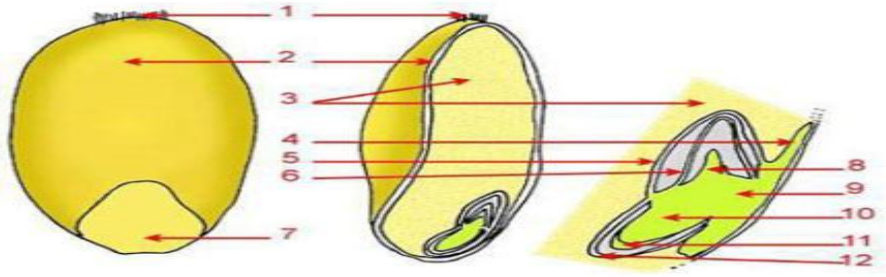


Figure 3. Coupe d'un grain de blé (Felliet, 2000).

1 : poils (stigmates) - 2 : téguments (écorce). Le caryopse est un fruit car l'écorce est le résultat de la fusion des téguments de la graine et de la paroi de l'ovaire. - 3 : albumen.- 4 : cotylédon unique. - 5 : épicotyle (capuchon recouvrant la gemmule).- 6 : première feuille. - 7 : scutelum. - 8 : gemmule. - 9 : tigelle. - 10 : radicule. - 11 : coiffe. - 12 : coléorhize (capuchon recouvrant la radicule).

Pondéralement mineurs (quelques % seulement) sont les lipides, la cellulose, les sucres libres, les minéraux et les vitamines (Tableau 2). Ces constituants se Répartissent de manière inégale au sein des différentes fractions histologiques du Grain.

Tableau 2. Composition chimique du grain du blé (Felliet, 2000).

Nature de composants	Teneur (% ms)
Protéines	10-15
Amidon	67-71
Pentosanes	8-10
Cellulose	2-4
Sucres libres	2-3
Lipides	2-3
Matières minérales	1.5-2.5

1.3. Importance économique du blé

Le blé est l'une des premières céréales cultivées et consommées dans le monde Avec une production annuelle d'environ 600 millions de tonnes (Ricroch et al. 2011).

Les échanges qui se multiplient entre les régions du monde font de cette céréale l'un Des principaux acteurs de l'économie mondiale (Laberche, 2004).

La production du blé Est surtout localisée dans le bassin méditerranéen d'une part (Europe du Sud, Moyen Orient, Afrique du Nord), et en Amérique du Nord d'autre part (Canada central et Nord des USA), où est produit le quart du blé dur mondial (Clerget, 2011).

En Algérie, les produits céréaliers occupent une place stratégique dans le Système alimentaire et dans l'économie nationale du fait qu'ils occupent plus de 90% Des terres cultivées. La consommation des produits céréaliers se situe à un niveau d'environ 2 05kg/hab/an (Chehat, 2007).

Les céréales et leurs dérivés constituent L'épine dorsale du système alimentaire algérien, et elles fournissent plus de 60% de l'apport calorique et 75 à 80% de l'apport protéique de la ration alimentaire (Djermoun, 2009).

La production céréalière en Algérie est fortement dépendante des conditions climatiques. Cela se traduit d'une année à l'autre par des variations Importantes de la superficie agricole utile, de la production et du rendement. Ainsi, le Manque de précipitations, mais aussi la mauvaise répartition des pluies pendant l'année expliquent en grande partie la forte variation de la production céréalière (Djermoun, 2009).

2. Grain de blé

2.1. Composition des différents organes

Dans toutes les espèces céréalières, le grain est essentiellement glucidique avec 60 à 75 % de glucides digestibles (amidon principalement) (Feillet, 2000).

Le blé apparaît ainsi comme un aliment essentiellement énergétique : 330 à 385 kcal/l00 g. Le taux de fibre diététique est variable (2 à plus de 30 %). Il dépend notamment de la taille du grain, les grains de faibles dimensions (petits mils) ayant une plus grande proportion d'enveloppes. La teneur en protéines va de 6 à 18 % dans les cas extrêmes mais se situe le plus souvent entre 8 et 13 %, l'acide aminé limitant est la lysine. Les lipides sont relativement peu abondants mais ils sont extrêmement intéressants par la forte proportion des acides gras polyinsaturés. Les céréales sont peu minéralisées : la teneur en phosphore est élevée, celle du calcium est faible, et ne suffit pas à neutraliser tout l'acide phytique. L'acide phytique insolubilise également Mg, Zn, Fe (Favier, 1989).

Les couches externes sont caractérisées essentiellement par leur teneur non négligeable en protéines (7%), lipides (2%), minéraux et vitamines du groupe B (à l'exception de la vitamine B12 absente du règne végétal). La teneur en fibres est très élevée ; ces fibres sont principalement des glucides pariétaux ou glucides indigestibles : cellulose, hémicelluloses, lignine. Rappelons que la fraction fibre joue un rôle physiologique important en permettant la progression normale du bol alimentaire dans le tube digestif et en favorisant certains métabolismes (cholestérol, triglycérides). Mais elle joue aussi un autre rôle très important en diminuant la digestibilité des autres constituants de la ration, notamment les protéines. Le test a de certaines céréales est riche en polyphénols (tanins) ce qui accroît leur résistance à certains stress. Mais les tanins diminuent la digestibilité des protéines et du fer en se liant à eux pour former des complexes indigestibles. Par ailleurs, en colorant les farines et semoules, les tanins les rendent moins acceptables par les consommateurs.

La couche d'aleurone est une couche histologique localisée à la périphérie du grain de blé entre l'albumen amylacé et les enveloppes. Elle est, avec l'embryon, l'unique tissu vivant

du grain mature et permet son développement au cours de la germination. Elle assure à la fois un rôle nourricier via le stockage de métabolites et la synthèse d'enzymes d'hydrolyse des réserves, et un rôle de protection grâce à sa structure pariétale résistante. La couche à aleurone est un tissu complexe qui renferme des concentrations importantes de molécules d'intérêt nutritionnel (Antoine *et al*, 2004).

Ainsi, dans le cas du blé, bien que constituant seulement 6 % du poids du grain, elle contient à elle seule 16 à 20 % des protéines du grain entier, 31 % des lipides, 58 % des minéraux, 32 % de la thiamine (vitamine B1), 37 à 82 % des autres vitamines du groupe B (B2, B6, PP, acide pantothénique). En raison de sa concentration élevée en nutriments nobles, la couche d'aleurone est parfois appelée «couche merveilleuse». Mais il faut savoir qu'elle contient aussi une quantité notable d'acide phytique (insolubilisant des protéines et des minéraux tels que Ca, Mg, Fe, Zn) et des fibres qui diminuent la digestibilité des constituants de la ration.

Le germe est riche en minéraux, protéines, lipides et vitamines. Selon les céréales, il contient à lui seul une grande partie, parfois la plus grande partie, des lipides et de la vitamine E liposoluble. Le scutellum est très riche en thiamine.

L'albumen est la partie du grain la plus importante en poids et en volume : 60 à 90%, il contient principalement de l'amidon qui est un glucide de réserve utilisé par les végétaux supérieurs pour stocker de l'énergie sous forme de sucre lent ou complexe. Son organisation complexe en structures cristallines et amorphes conduit à un grain dense permettant le stockage de millions d'unités glucose dans un volume extrêmement réduit. Au sein des cellules de l'albumen délimitées par les parois cellulaires, l'amidon forme des grains individuels enchâssés dans une matrice protéique . Ces différents constituants sont retrouvés dans tous les aliments à base de blé : pain, pâtes, semoules, biscuits, etc. Ses teneurs en protéines, lipides, minéraux et vitamines sont plus faibles que celles du germe et des enveloppes. De plus, la qualité nutritionnelle de ses protéines est inférieure à celle des protéines des parties périphériques du grain.

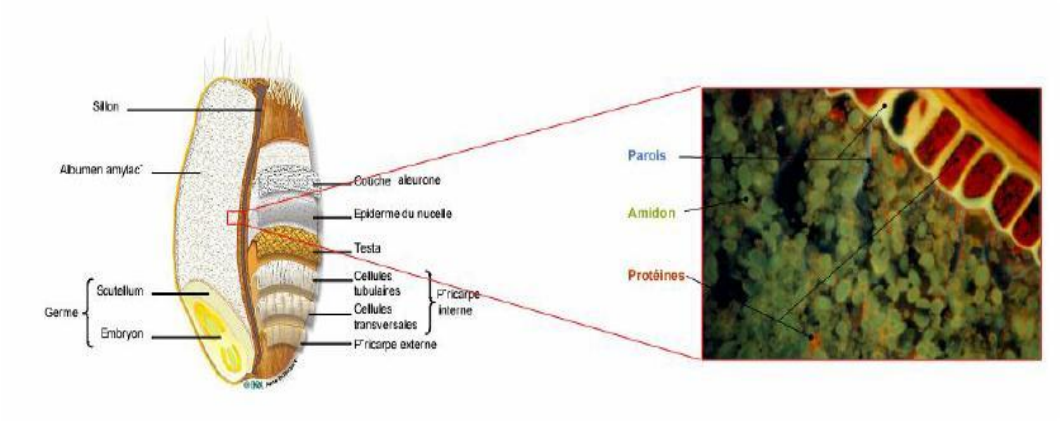


Figure 4. Différents organes du grain de blé (Felliet, 2000).

2.2. Les différentes fractions protéiques du grain

Qu'est – ce que le gluten ?

Le gluten qui est un mélange de protéines combiné avec de l'amidon dans l'endosperme des céréales se compose de gliadine, de gluténines, d'acides gras et de glucides. Les gluténines et les gliadines ont la capacité unique de former un réseau visco-élastique lors de l'hydratation et jouent un rôle très important sur les caractéristiques rhéologiques de la pâte qui décrivent son comportement lorsqu'elle est soumise à une contrainte de déformation, sa ténacité, son élasticité, sa viscosité, etc.

-Osborne en 1907, avait proposé le premier fractionnement des protéines des céréales selon leur solubilité. Elles sont divisées en quatre classes, albumines (solubles dans l'eau), globulines (solubles dans une solution à 10 % de NaCl), prolamines (solubles dans l'éthanol de 70 à 90 %) et gluténines (insolubles dans toutes ces solutions). Bien que ce fractionnement soit encore largement utilisé, il est maintenant reconnu que les quatre classes ne sont pas tout à fait pures et qu'il y a des contaminations d'une classe à l'autre.

Cependant sur la base de résultats biochimiques obtenus, une classification selon la fonction biologique de ces protéines est d'un point de vue scientifique plus acceptable, elles pourraient alors être divisées en deux classes :

2.2.1. Protéines cytoplasmiques ou métaboliquement actives

Elles constituent 12 à 20 % des protéines totales, ce sont les albumines et les globulines, regroupant aussi les enzymes, les protéines membranaires, les protéines de régulation non enzymatiques, les protéines présentes dans les organites cellulaires, etc. (Belitz et Grosh, 1987).

Les albumines sont solubles dans l'eau et les globulines dans le sel (Singh et Skerritt, 2001). Parmi les albumines et globulines prédominantes, les inhibiteurs d'alpha amylase

(Shewry*et al.*, 1984), les serpines et les purothionines (Østergaard*et al.*, 2000). Ces protéines peuvent jouer un double rôle : d'un côté comme des réserves nutritives pour l'embryon pendant la germination et de l'autre côté comme des inhibiteurs contre les attaques des insectes et des pathogènes fongiques avant la germination. Les puroindolines (de la famille des purothionones) sont impliquées dans des différences de dureté de grain (Morris, 2002). Généralement, on considère que les albumines-globulines ne jouent pas un rôle majeur dans la qualité technologique de la farine, bien qu'il ait été démontré que le rapport albumines / globulines soit corrélé avec à des caractéristiques de panification.

2.2.2. Protéines de réserve

Ce sont les prolamines ; protéines riches en proline et glutamine et qui ne sont présentes que dans l'albumen (Moss, 1962). Les gliadines constituent de 30 à 40% des protéines totales de la farine. Leur masse va de 25 à 80 kDa et elles peuvent être séparées en quatre sous-groupes électro phorétiques α, β, γ, et ω- gliadines, chacun contenant de nombreuses protéines proches en composition et structure (Anderson et Greene, 1997). Les polymères de gluténines se composent de sous-unités de faible poids moléculaire (SG-FPM) d'environ de 25 à 45 kDa liées aux sous-unités des gluténines de haut poids (SG-HPM) de 70 à 90 kDa par des liaisons disulfures inter-chaines. Les SG-FPM- possèdent également des β-gliadines (Muller *et al.*, 1998) pouvant également être polymérisées avec les gluténines. Les rôles des différents composants de gluten dans la fonctionnalité de la pâte sont complexes (Gupta *et al.*,1992 ; MacRitchie *et al.*, 1991 ; Khatkar *et al.*, 2002). Bien que les SG-HPM ne représentent qu'environ 30% des gluténines et moins de 1.8% de la farine totale, elles jouent un rôle déterminant dans la valeur d'utilisation du blé. La diversité allélique des sous unités des gluténines (codés par 6 loci complexes) se caractérise par des combinaisons de sous unités parfois très différentes. De plus, certaines de ces sous unités se distinguent par le nombre de liaisons intermoléculaires qu'elles peuvent établir dans la formation du réseau polymérisé aboutissant au gluten. La mesure des tailles de polymères, rendue possible par « Analysis of Flow Field Flow Fractionation Muli Angular Laser Scanning AFFFF MALS », révèle que la fraction des gluténines va de 600 000Da à plus de 17x106 Da (Lemelin *et al.*, 2007).

La formation des ponts disulfures commence rapidement après la synthèse des protéines dans le lumen du réticulum endoplasmique comme partie intégrale de repliement de protéines (protéines de structure) et ceci peut être assisté par l'enzyme disulfide isomérase (Shewry, 1999). Il est très probable que les ponts disulfures intra chaines se forment plus rapidement que les ponts interchaines ; mais les sous-unités de gluténine ; une fois synthétisées ; ne peuvent pas combiner tous leurs résidus de cystéine pour former des ponts disulfures

intrachaines. Quelques-uns restent comme des thiols libres ou forment des ponts disulfures interchaines (Kasarda ; 1989). Les groupements thiols libres deviennent oxydés durant la déshydratation du grain qui se coïncide avec la formation des polymères de haut poids moléculaire (Ghazi *et al* ; 2003).

Effectivement, les gluténines et les albumines sont associés à un taux significatif de substances non protéiques telle que les lipides, il y aurait donc des contaminations d'une classe protéique à une autre, la fraction la plus pure étant les gliadines (incherdouh, 1999).
éléctrophorétique (Khan et Buschuk, 1979 ; Payne et Corfield, 1979 ; Jackson et al., 1983 in Khelifi, 1992).

• Les prolamines polymériques

- Les sous–unités gluténines de haut poids moléculaire : SG-HPM (80000 et 130000 dalton).
- Les sous-unités gluténines de faible poids moléculaire : SG-FPM (40000 et 50000 dalton).

• Les prolamines monomériques

- Les α -gliadines PM de 32000 à 36000daltons.
-Les β - gliadines PM de 37000 à 38000 daltons.
- Les γ -gliadines PM de 38000 à 44000 daltons.
- Les ώ - gliadines PM de 69000 à 78000 daltons.

Sur la base de leur mobilité éléctrophorétique, les gluténines ont été divisées en 4 groupes : le groupe A correspondant aux SG-HPM, les groupes B et C (Payne et Cofield, 1979) correspond aux SG-HPM et le groupe D découvert en électrophorèse bidimensionnelle par Jackson et al. (1983) correspondant aux SG-FPM. Pourraient constituer la fraction la plus fonctionnelle.

Dans le blé dur, la relation positive trouvée entre la présence de la α- gliadines (locus *Glu-B1*) et la force du gluten, elle-même reliée à la fermeté des pâtes cuites, s'explique par une liaison entre cette protéine et les SG-FPM placées sous le contrôle des gènes localisés sur le locus voisin *Glu-B3*.La α- gliadines 45 est un marqueur génétique des protéines fonctionnelles. Fonctionnels, de sorte que la détermination de la teneur totale en polymères protéiques n'aurait d'intérêt que si elle était complétée par une mesure de la distribution par taille contribueraient pas à la force de la pâte (Feuillet, 2000).

2.3. Classifications des protéines du blé

Depuis les travaux d'Osborne 1907, les protéines du blé sont classiquement réparties en quatre classes en fonction de leur solubilité : les albumines solubles dans l'eau, les globulines solubles dans les solutions salines, les prolamines solubles dans l'éthanol aqueux et les glutélines insolubles dans les solvants précédents.

2.4. Propriétés spécifiques des protéines de réserve

Il est admis que les gliadines sont responsables de la composante visqueuse du comportement rhéologique des pâtes et les gluténines de leurs composantes élastiques :

• Gliadines

Très extensibles quand elles sont hydratées, les gliadines, qui posséderaient des propriétés plastifiantes, confèrent à la pâte son extensibilité, sa viscosité et sa plasticité, la teneur en protéines est, en effet, corrélée à ce caractère. En raison de leur comportement hydrophobe particulier, les gliadines pourraient constituer la fraction la plus fonctionnelle.

Dans le blé dur, la relation positive trouvée entre la présence de la α- gliadines (locus *Glu-B1*) et la force du gluten, elle-même reliée à la fermeté des pâtes cuites, s'explique par une liaison entre cette protéine et les SG-FPM placées sous le contrôle des gènes localisés sur le locus voisin *Glu-B3*.La α- gliadines 45 est un marqueur génétique des protéines fonctionnelles.

• Gluténines

La ténacité et l'élasticité de la pâte s'expliquent par les propriétés très particulières des gluténines. Les agrégats de très haut poids moléculaire seraient les plus fonctionnels, de sorte que la détermination de la teneur totale en polymères protéiques n'aurait d'intérêt que si elle était complétée par une mesure de la distribution par taille de ces polymères. Au-dessous d'un certain niveau d'agrégation, ces polymères ne contribueraient pas à la force de la pâte (Feuillet, 2000).

3. Relation entre diversité de protéines de réserves et la qualité

Depuis longtemps, on sait que les différences variétales de la qualité sont dues en majeure partie au gluten. Les propriétés de ténacité, d'élasticité et d'extensibilité de la pâte généralement différentes d'une variété à l'autre, résultent des caractéristiques des nombreuses protéines constitutives du gluten (Branlard, 1999).

Beaucoup de travaux ont montré l'influence des protéines du gluten sur la qualité (Payne et al., 1984 Payne et al., 1987 ; Morris, 1998 ; Gueguen et al.,1999 ; Xu et al.,2001). La composition allélique des sous-unités gluténines HPM de plusieurs milliers de variétés et cultivars de blé tendre, d'origines très diverses, ainsi que celle de près de cinq cents blés durs ont été déterminées et un catalogue a été constitué. Sur la base de ces résultats et aussi grâce aux travaux conduits au Plant Breeding Institute par Paynesur la génétique de ces sous unités, l'utilisation en sélection a été entreprise en France dès 1983. (Branlard, 1999). La qualité technologique du blé dur est appréciée par lavaleur semoulière et la valeur postière (Feuillet, 2000).

De nombreux chromosomes semblent impliqués dans l'expression de la qualité d'utilisation du grain. Ainsi (Morris et al., 1966) à l'aide de lignées substituées de *Cheyenne* dans *Chineese Spring*ont pu conférer aux chromosomes 1B, 4B, 7B, 1A un rôle majeur dans l'expression de la qualité boulangère. Et enfin, il s'est avéré que les sous unités gluténines HPM qui semblent favorables à l'expression d'une bonne qualité d'utilisation. Par exemple, selon Branlard. (1989), les sous unités HPM suivantes : 2* (chr, 1A), 7+9 (chr.1B), 5+10 (chr.1D) contribuent positivement à la force et à la ténacité des pâtes, tandis que les sous unités 1 (chr.1A), 13+16 et 17+18 (chr.1B) contribuent positivement à l'extensibilité des pâtes.

Différents auteurs proposent une cotation de qualité à l'aide de la composition d'un génotype en sous unités gluténines en attribuant à chaque sous unité une note, et le tableau suivant résume leurs travaux.

Tableau 3. La cotation de la qualité chez le blé selon la composition en sous unités gluténines. (Selon Branlard, résultat non publié). Indice gluténines = Coef 1A+ Coef 1B+Coef 1 (Morris et al., 1966).

Chromosome	A1	Chromosome	B1	Chromosome	D1
Sous-unité GLU	Coef	Sous-unité GLU	Coef	Sous-unité GLU	Coef
2*	30	13-16	40	5-10	30
1	15	7-9	20	2-12	7
Nul	0	17-18	18	2-11	7
		8-7	15	3-12	6
		7	8	4-12	5
		21	5		
		6-8	2		
		20	2		

Le blé transgénique sans gluten

1. Génome du blé et synthèse des protéines de réserve

1.1. Génome du blé

Le génome du blé contient 16 milliards de bases. Si l'on accepte d'assimiler les bases du code génétique à des lettres et le génome à un livre, le génome du blé formerait une bibliothèque d'environ 5000 livres de 1000 pages chacun.

Un gène peut exister sous différentes formes et coder des protéines différentes : on parle d'allèles. L'emplacement d'un gène sur un chromosome est un locus. Il arrive que plusieurs gènes soient très proches les uns des autres et soient, de ce fait, transmis ensemble de génération en génération : ils forment un bloc de gènes au sein desquels des recombinaisons de gènes sont très rares ; on parle de blocs, ou de groupe alléliques (Feuillet, 2000).

Dans les années 80, les travaux de Payne et ses collaborateurs ont largement contribués à la connaissance biochimique et génétique des SG-HPM. De plus l'existence de lignées aneuploïdes d'une variété d'origine chinoise : Chinese Spring ont permis à Orth et Bushuk (1974) et Bushuk (1974) et Bietz et al. (1975) de localiser les gènes des SG-HPM de ce cultivar. Les loci des gènes codant pour les gliadines et les gluténines sont indiqués dans les figures 5 et 6.

1.2. Déterminisme génétique des protéines de réserve

L'analyse génétique de ces protéines est aujourd'hui bien avancée. Ainsi, sur les vingt et une paires de chromosomes du génome du blé tendre, six d'entre elles sont responsables de la synthèse des gliadines et trois de celles des gluténines. Chez le blé tendre *(T. aestivum)*, ces protéines sont codées par des gènes situés sur douze principaux loci complexes (car pouvant être formés de plusieurs gènes très liés).

Parmi ceux-ci citons ceux qui sont responsables de la synthèse des SG-HPM (*Glu-A1, Glu-B1, Glu-D1*), des SG-FPM *(Glu-A3, Glu-B3, Glu-D3)*, des α-gliadines *(Gli- A1,Gli-B1-Gli-D1)* et des α-, ß-, γ-gliadines *(Gli-A2,Gli-B2 et Gli-D2).* À ces douze loci viennent s'ajouter d'autres gènes liés *(Gli-5, Gli-6)* ou relativement éloignés *(Gli- 3)* sur les chromosomes du groupe 6, le nombre de loci est nettement moins important que dans le cas du groupe 1. Cependant Félix a identifié deux nouveaux loci (*Gli-A7* et *Gli-B7*) à environ 5cM respectivement des loci*Gli-A2* et *Gli-B2*. (Branlard, 1999).

À chacun des loci des gliadines, se trouve un ensemble de gènes étroitement liés, pouvant être identiques ou différents (jusqu'à 12 gènes différents ont été dénombrés), conduisant à autant de protéines transmises en bloc alléliques. Le nombre de blocs alléliques observés à ce jour par électrophorèse monodimensionnelle des gliadines est au total, pour les six loci *(Gli-1 et Gli-2)*, voisin de 130 (Metakovsky, communication personnelle). La diversité alléliques des SG-HPM est moindre (environ 40 allèles répertoriés). Les sous-unités FPM des gluténines sont difficilement séparées, en totalité, par électrophorèse monodimensionnelle, de sorte que la quinzaine d'allèles connus est très largement sous-estimée. (Branlard, 1999).

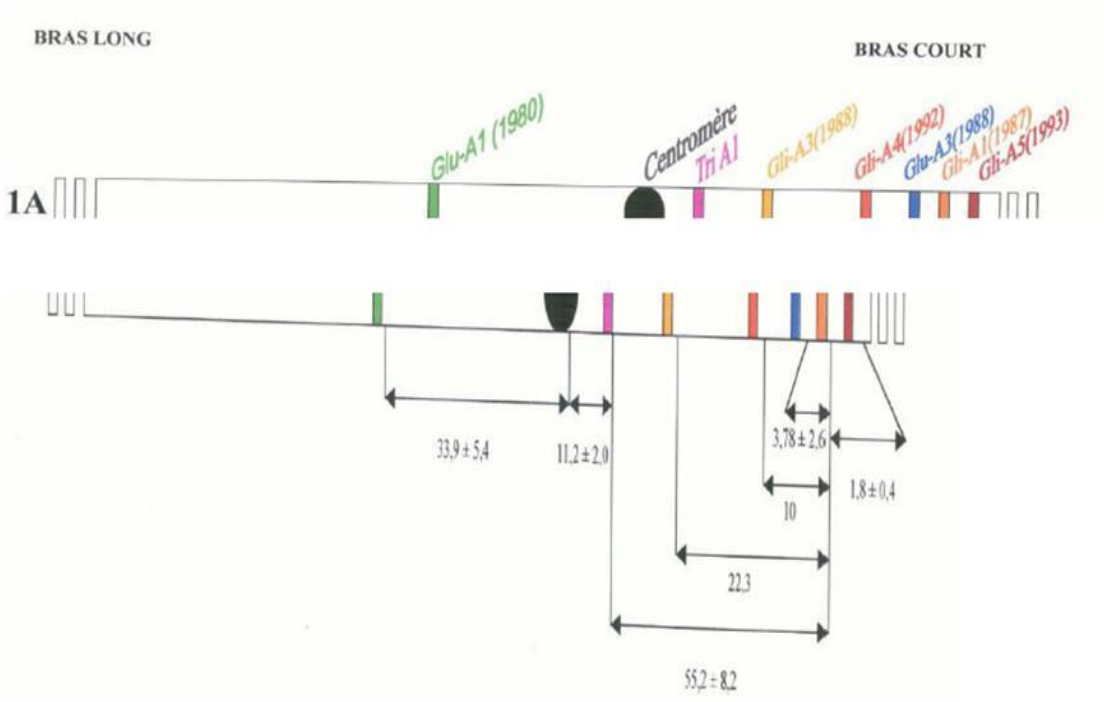


Figure 5. Carte de la totalité des loci connu des gluténines et des gliadine (chez le Blé tendre et le blé dur) sur le chromosome A du groupe1. (Distances en centimorgans)(Branlard, 1999).

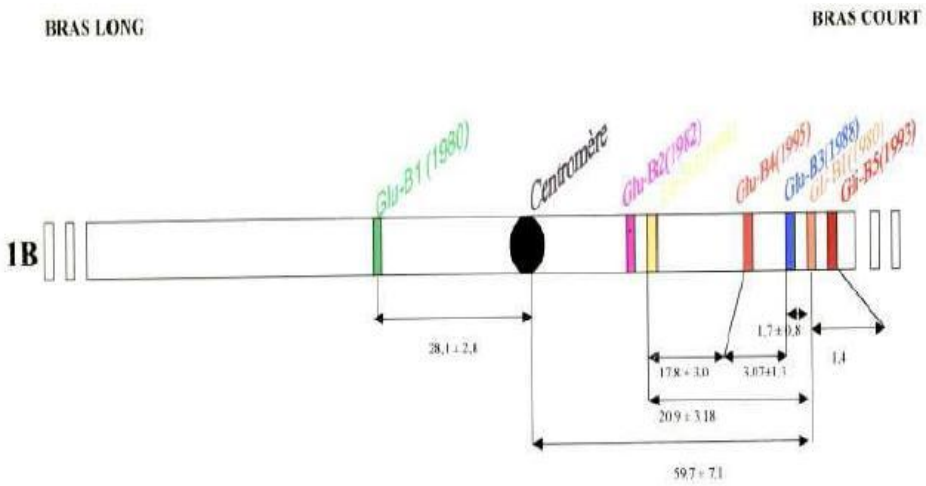


Figure 6. Carte de la totalité des loci connu des gluténines et des gliadine (chez Le blé tendre et le blé dur) sur le chromosome B du groupe1. (Distances en Centimorgans)(Branlard, 1999).

1.3. Le contrôle génétique de la synthèse des gliadines et des gluténines

Chaque locus Glu-A1, Glu-B1, et GluD1, codant pour les SG-HPM, comprend deux gènes *x* et *y* ; le poids moléculaire des sous –unités codées par les premiers est supérieur à celui des sous –unités codées par les seconds. Les variétés de blé tendre possèdent les six gènes codant pour les SG-HPM, mais trois, quatre ou cinq sous unités gluténines seulement. Les différences observées entre le nombre de gènes et le nombre de sous unités s'explique par la présence de gènes silencieux : le gène A1-*y* chez tous les blés, les gènes B1-*y* et /ou A1-*x* chez certains. Le polymorphisme de ces derniers a été particulièrement étudié, en raison des relations mises en évidence entre la présence de certaines sous unités de haut poids moléculaire et la qualité d'utilisation des blés (Feuillet, 2000).

1.4. La nomenclature allélique des protéines de réserves

Le système de numérotation a été développé par Payne (1983) pour identifier les SG-HPM, aussi la provenance de la localisation des chromosomes des gènes est le système utilisable maintenant. D'origine, l'assignement pour l'accès aux numéros était relié à la mobilité sur le gel de SDS-PAGE, chaque numéro est associé à sa mobilité. Comme on a identifié de nouvelles sous unités, il y a eu des difficultés de trouver l'ordre logique, et comme il y avait quelques sous unités comme la 21, avec sa mobilité et un numéro le plus élevé que celui de la sous unité originale. Quand l'identification est numérique, tout le génome est automatiquement inclus et identifie d'où les sous unités proviennent et qu'elles indiquent le type x ou le type y. (Gianibelli et al. 2001).

1.4.1. La nomenclature des gliadines

Pour la lecture des gliadines, une approche s'est développée par Bushuk et Sapirstein (1991 in Sadouki, 2005) qui ont délimité les quatre zones (α, β, δ, γ et – gliadines) en prenant trois bandes arbitraires (40.4, 53.2 et 68.6KDa) de la variété de référence (Neepawa). Deux procédures de nomenclature des gliadines sont utilisées, l'une est basée sur la mobilité relative (Bushuk et Zillman, 1978 in Gianibelli et al. 2001), l'autre est génétique, dans laquelle deux types de désignation allélliques sont recommandées.

Dans le premier type, chaque composante de gliadine est identifiée par le chromosome sur lequel son gène de codage est situé. Dans le second type un groupe De composantes de gliadines génétiquement liées est indiqué par un bloc allélique en utilisant plusieurs lettres, c'est la désignation actuellement utilisées (Wrigley, 1996).

1.4.2. La nomenclature des gluténines

Il y a au moins deux nomenclatures différentes qui sont utilisées pour les sous unités gluténines de haut poids moléculaire par les chercheurs (Sadouki, 2005). Dans le premier système de nomenclature, les sous unités de gluténines de HPM sont numérotées en fonction de leurs mobilités du plus lent au plus rapide après séparation par SDS-PAGE, en leur attribuant des numéros croissants (1, 2, 3, etc.) (Payne et al., 1980). Mais la découverte de nouvelles sous unités de mobilités intermédiaires entre celles déjà décrites, il y a difficulté de suivre l'ordre logique. Ainsi, il y a quelques sous unités comme la 21, avec une mobilité inférieure et un nombre de nomenclature élevé (Gianibelli et al., 2001).La numérotation de ces nouvelles sous unités HPM identifié se fait par des numéros suivis d'astérisque (par exemple β*,γ*,β1*…) ou par des chiffres décimaux (sous unités 2, 2 par exemple).

Le deuxième système se base sur la génétique ou la classification des allèles portés sur les trois loci, c'est un système qui se repose sur la nomenclature des allèles correspondant aux sous unités de gluténines séparées par SDS-PAGE et non pas des chiffres (par exemple les sous unités 1 et 2* sont codées par des allèles Glu-A1a et Glu–A1b respectivement (Gianibelli et al., 2001).

La nomenclature des SG-FPM a été basée sur l'analyse génétique et sur l'endroit chromosomique des gènes codants .Elle a été décrite pour le blé tendre (*Triticum aestivum*) par Gupta et Berger (1990), (in Gianibelli et al., 2001). Récemment, Nieto-Taladriz et al. (1997) ont décrit la variation allélique des SG-FPM de la région B chez le blé dur mais qui

reste toujours insuffisante du fait qu'elle ne couvre pas l'ensemble de polymorphisme génétique de ces protéines.

2. Définition de la transgénèse

En génétique, la transgénèse se définit par le transfert de gènes vers un organisme différent ou vers une autre partie du même organisme. Les gènes constituent la base du patrimoine génétique, leur transfert permet aux chercheurs de mieux étudier leur fonction. Le transfert de l'organisme donneur à l'organisme receveur se réalise à travers un vecteur, par exemple des plasmides (petites boucles d'ADN). La transgénèse permet d'obtenir de nouvelles variétés animales et végétales communément appelées organismes génétiquement modifiés (OGM).

3. Applications de la transgénèse

La transgénèse permet d'apporter des solutions à des problèmes très variés. Ils touchent aussi bien l'agronomie, l'amélioration des qualités alimentaires, la santé, l'industrie ou l'environnement.

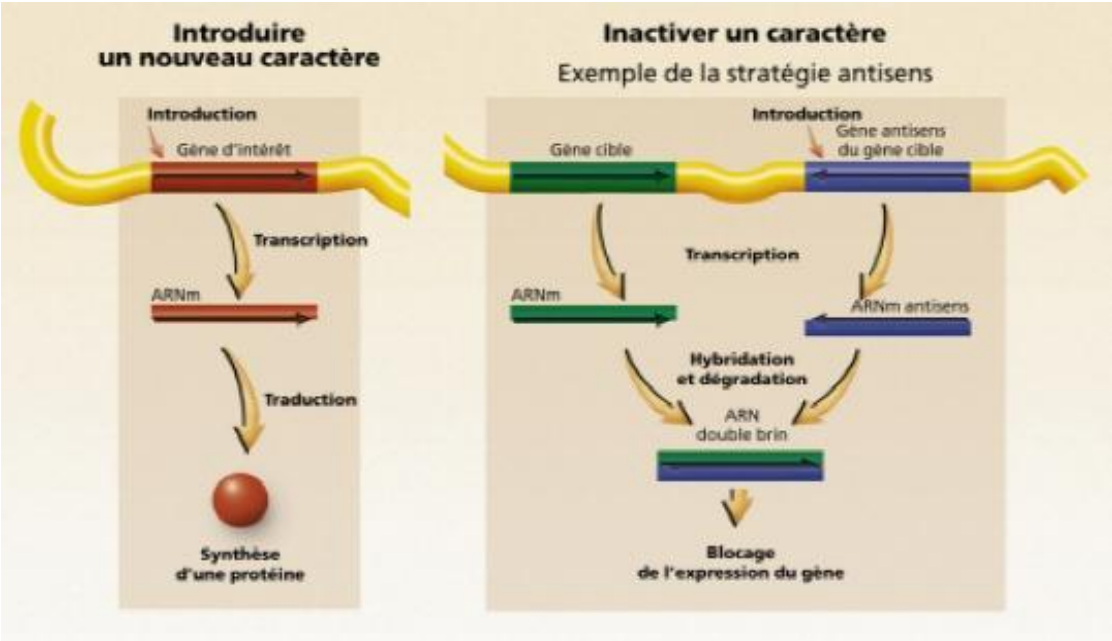


Figure 7. Les différentes stratégies de la transgénèse (Hammond et al., 2001).

3.1. Introduire un nouveau caractère

C'est un cas où le transfert de gènes s'accompagne d'un transfert de caractère. Une copie du gène d'intérêt est introduite dans la plante. Son expression, par l'intermédiaire d'un ARN messager, entraîne la production d'une protéine, responsable du nouveau caractère.

Les exemples dans ce domaine sont nombreux : introduction d'un gène de résistance à des insectes, à des pathogènes, à des herbicides, modification de la composition des graines, production de molécules d'intérêt industriel ou pharmaceutique.

Dans la stratégie « sens », les oligonucléotides simples ou double-brin agissent comme ligand compétitif de protéines qui se fixent sur des séquences d'ADN ou d'ARN. Un excès de compétiteur nucléique permet de piéger les protéines ciblées, qui interviennent dans l'expression génétique, comme les facteurs de transcription ou les enzymes de réplication (Hammond et al., 2001)

3.2. Inactiver un caractère

Dans ce cas, il n'y a plus à proprement parler de transfert de gènes, on agit sur l'expression d'un gène déjà présent dans la plante.

La stratégie antisens est la voie la plus couramment utilisée.

3.2.1. ADN antisens

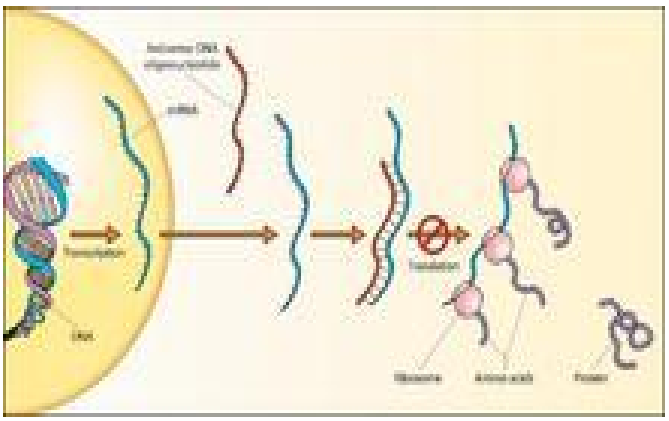


Figure 8. Schéma montrant comment les brins d'ADN antisens interfèrent avec la transcription de protéine **(Jorg Renkawitz et al., 2014)**

A. Le blocage de l'expression d'un gène cible.

Une copie « inversée » de ce gène est introduite, d'où le nom de la technique. Les ARN messagers (ARNm) produits par la copie originelle du gène et par celle introduite sont complémentaires.

Ils s'hybrident donc et forment une molécule d'ARN double brin. Cette molécule aberrante est dégradée. Ainsi l'expression du gène est bloquée et le caractère ne s'exprime plus. Cette technique a permis d'obtenir des espèces végétales à teneur en lignine réduite, des tomates et des melons à maturation retardée, ou des pommes de terre contenant moins d'amidon.

L'extinction de gène est un processus épigénétique empêchant la production d'une protéine à partir d'un gène. Il s'agit d'un ancien mécanisme eucaryote de régulation qui est donc retrouvé dans un grand nombre de cellules animales ou végétales.

Ces processus interviennent à deux niveaux : soit le processus affecte le gène, et en empêche la transcription, on parle alors d'extinction transcriptionnelle (TGS, *transcriptionnal gene silencing*) ; soit il affecte l'ARN messager et en empêche la traduction. Ce dernier processus est appelé PTGS, *post transcriptionnal gene silencing* (Vinnet O, 2001), chez les organismes végétaux ; ARNi, interférence par ARN chez les animaux (Hannon GJ, 2002) ; *quelling* chez le champignon *Neurospora crassa* (Cogoni C et al., 1996). On parle d'inactivation génique dans les deux cas.

Ces deux types d'extinction de gènes sont utilisés dans le but de réguler des gènes endogènes. Ils peuvent également être utilisés dans la protection contre les transposons ou les virus.

A.1-Histoire

C'est à la vague de transgénèse ayant suivi la découverte de la transformation des plantes par *Agrobacterium tumefaciens*, dans les années 1980, que l'on doit la première identification de l'extinction de gène. En effet, parmi les plantes ayant intégré le gène étranger, une certaine proportion d'individu n'expriment pas le gène étranger. En 1990, deux études simultanées sur la surexpression de la chalcone synthase chez les pétunias montrent que les ARN messagers du transgène et du gène de l'enzyme sont sous-exprimées dans certaines parties de la fleur (les moins colorées). Il parle alors de co-suppression. Rapidement, plusieurs études ont permis de montrer l'universalité de ce phénomène chez les plantes, mais encore dans tous les organismes eucaryotes. Finalement, deux grands types d'inactivation génique ont été révélés et étudiés : TGS et PTGS.

-Au niveau transcriptionnel (TGS)

Il s'agit d'une modification des histones induisant la conformation de l'ADN en conditions normales. Ce phénomène s'explique par l'existence d'homologies de séquences entre les régions promotrices du gène et du transgène concernés. Une méthylation des cytosines (bases C de l'ADN) a alors lieu, et ces régions hyperméthylées seraient alors reconnues par des protéines induisant la condensation de la chromatine (Vauchert H et al., 2001) : l'information génétique ne pourra donc pas être transcrite.

-Au niveau post-transcriptionnel (PTGS)

Dans le cas présent, le gène ou transgène cible a déjà été transcrit, et les ARN messagers nécessaires à la traduction sont déjà présents dans le cytoplasme cellulaire à une concentration plus ou moins élevée.

A.2-Mécanismes de fonctionnement

-Initiation

La phase d'initiation du PTGS peut elle-même être divisée en trois étapes bien distinctes :

- reconnaissance de l'ARN « indésirable »
- dégradation de cet ARN
- ciblage des ARN homologues

Dans un premier temps, une molécule est essentielle pour la mise en place du PTGS, il s'agit d'une molécule d'ARN double brin (ARNdb). Cet ARNdb peut provenir d'un virus (intermédiaire de réplication du génome viral (Rui Lu et al., 2003)), l'insertion d'un transgène en répétition inverse, ce qui occasionnera la transcription de brins d'ARN sens et anti-sens pouvant former un duplex (Baulcombe D et al, 2001), ou encore simplement par conformation de la structure secondaire d'un ARN simple brin en tige-boucle, représentant virtuellement une molécule d'ARN double brin.

Cette molécule sera dégradée spécifiquement par une RNase III, que l'on nomme Dicer. Elle est originellement retrouvée chez la drosophile, il a depuis été montré qu'on retrouve des homologues de Dicer chez tous les eucaryotes (ils sont appelés DCL, *Dicer Like Protein.*

Cette protéine possède un domaine hélicase, deux domaines RNase III, un domaine de liaison à l'ARNdb et enfin un domaine conservé appelé PAZ (Berstein E et al., 2001).

Enfin, le ciblage d'ARNdb homologues à l'ARN indésirable nécessite l'intervention d'un complexe protéique particulier, appelé RISC, *RNA induced silencing complex*. Après dégradation de l'ARNm par la DCL, une molécule de la famille des Argonautes, appelée AGO, récupère les brins clivés mais ne se lie qu'à un seul brin, et s'associe enfin à d'autres protéines (dont DCL) pour former le complexe RISC. Ce complexe accomplit alors deux fonctions : ciblage de l'ARNdb, grâce au petit ARN interférent conservé par AGO qui sert de "guide" au complexe, et dégradation par la DCL (Ding S et al., 2007).

-Propagation

La propagation du PTGS est essentielle quelle que soit la fonction qu'il remplit pour l'organisme. L'étude de la propagation du PTGS a principalement été faite chez les plantes (système biologique le plus facile à étudier), mais il a également été démontré (Bosher J et Labouesse M, 2000) chez des nématodes qu'il existait un phénomène similaire.

Les molécules clés pour que le mécanisme se mette en place sont les petits ARN interférents (pARNi). Il a été montré que, chez le tabac, une protéine particulière SAM-S écarte littéralement les plasmodesmes, permettant la transmission de proche en proche de ces petits ARN interférents (pARNi), et permettant donc la propagation du phénomène.

-Maintenance

Une fois initié, amplifié et propagé dans l'organisme, le PTGS reste généralement établi et ne disparaît pas au cours du temps. Cette maintenance du PTGS reste l'un des aspects les plus complexes à étudier.

Toutefois, un phénomène d'amplification des brins petits ARN interférents (pARNi) peut avoir lieu lors de l'activation du PTGS. En effet, une ARN polymérase, RdR6, est capable de synthétiser des ARNdb à partir des clivats initiaux, celle-ci agissant alors comme un véritable PCR. Le phénomène pourrait alors perdurer.

De plus, l'intégration d'une partie du génome viral dans celui de la plante, dans le cas d'une infection, pourrait agir comme une mémoire immunitaire, constituant l'immunité

acquise de la plante. Celle-ci serait alors plus apte à se défendre lors d'une prochaine infection.

-Rôle

On retrouve deux fonctions particulières pour le PTGS : une fonction endogène et exogène.

-Protection

On peut considérer le PTGS comme acteur d'un véritable système immunitaire de l'organisme, notamment dans le cas des plantes. Il s'agit en effet du principal mécanisme de défense de la plante lors de l'infection par un virus. On peut parler d'une immunité acquise de par la mémoire que conserve la cellule de l'infection.

-Développement

Il est également établi que le PTGS joue un rôle essentiel dans le développement de l'organisme. Plusieurs expériences inhibant le PTGS chez des plantes saines ont montré des aberrations de développement, et plus particulièrement un nanisme prononcé de la plante par rapport à ses homologues. Il existe chez la plante des gènes régulateurs, produisant des ARNmi : ce sont des ARN antisens qui, en s'appariant à un ARNm, constituent une molécule d'ARNdb. Celle-ci pourra alors être dégradée selon les mécanismes décrits précédemment. Ces gènes permettent une régulation de la croissance de la plante, et participent donc à son bon développement.

-Suppression du PTGS

Il existe un grand nombre de protéines virales capables d'altérer le bon fonctionnement du PTGS à ses différentes étapes. Une des protéines clés de la compréhension de la suppression est l'HC-Pro (*helper component proteinase*), qu'expriment les potyvirus. L'HC-Pro altère le métabolisme des ARNsi, et interfère ainsi avec la sous-unité AGO du complexe RISC. Celle-ci n'est plus capable de se lier avec l'ARNsi, et ainsi donc permettre la maintenance du phénomène (Torrès-Barcelo et al., 2010).

Cette même protéine interfère également avec la voie endogène de PTGS : les ARNmi, constructeurs de la molécule d'ARNdb avec l'ARNm du gène ciblé, peut lui aussi être affecté.

En outre, certaines voies hormonales (comme celle de l'éthylène) peuvent également être affectées par cette protéine, ce qui est responsable d'une partie des symptômes phénotypiques retrouvés chez les plantes infectées (Endres M et al., 2010).

B.Deux autres techniques permettent également d'inactiver un caractère. L'une repose sur l'introduction dans la plante d'un gène codant pour un ribozyme. Ce sont des molécules d'ARN enzymatiques. Ces molécules d'ARN synthétisées possèdent une séquence complémentaire de l'ARN messager du gène cible à inactiver, le ribozyme s'hybride à cet ARN messager et coupe spécifiquement l'ARN. Dans ce cas également, le caractère ne s'exprime pas.

De courtes séquences ribonucléiques, les ribozymes, forment des structures tridimensionnelles particulières et induisent des réactions catalytiques conduisant à la coupure spécifique de l'ARN cible (Endres M et al., 2010). Les ribozymes, comme les ARN antisens peuvent être délivrés *in situ*, par introduction de constructions d'ADN portant le gène codant pour l'antisens ou le ribozyme qui est alors transcrit dans la cellule (Torrès-Barcelo et al., 2010).

C.la Co-suppression (ou gene-silencing)

Consiste à surexprimer le gène. Il s'agit cette fois d'introduire plusieurs copies du gène présent dans la plante. Des mécanismes naturels de régulation se mettent en jeu dans la cellule, et dégradent les ARN messagers produits en grande quantité. Cette technique est très sensible à son environnement. En fonction des conditions du milieu, la régulation ne sera pas la même (Jorg Renkawitz et al., 2014).

3.2.2 ARN antisens

Un **oligonucléotide anti-sens** est un fragment d'ARN, généralement synthétisé en laboratoire, qui peut se lier spécifiquement à un ARN messager naturel : la séquence nucléotidique (sa formule chimique) de l'oligonucléotide anti-sens est complémentaire de celle de l'ARN messager qu'il cible. Il peut ainsi modifier l'ARN messager (saut ou incorporation d'exon(s) en intervenant à l'étape de sa maturation (l'épissage) (Hélène C, 1990)

De nouvelles approches thérapeutiques visent à moduler sélectivement l'expression des gènes. Dans la stratégie antisens, les oligonucléotides, synthétiques ou produits in-situ par des constructions d'ADN, sont utilisés pour reconnaître spécifiquement un ARN messager. Le but

est d'inhiber la synthèse de la protéine correspondante, soit en induisant le clivage de l'ARNm par la RNase H, soit en bloquant physiquement l'ARNm ou en modifiant son métabolisme (Hélène C, 1991).

3.2.2.1. Les mécanismes d'action des oligonucléotides antisens

1. Mécanisme impliquant la ribonucléase

Depuis la démonstration du rôle de la ribonucléase H (RNase H) dans le mécanisme d'action d'oligodésoxynucléotides antisens injectés dans les ovocytes de xénope (Cazenave C et al., 1987),de nombreuses expériences dans des milieux acellulaires ont mon tré que la présence de cette enzyme et essentielle pour assurer l'efficacité d'oligonucléotides antisens dirigés contre la partie codante d'un ARN messager (Monia BP et al., 1993). La RNase H reconnaît les hybrides AD / ARN et hydrolyse seulement les liaisons phosphodiesters de la partie ARN.

Cette activité enzymatique est présente dans toutes les cellules puisqu'elle est nécessaire pour éliminer les amorces ARN utiliées lors de la réplication de l'ADN. Des cellules en division rapide contiennet un taux élevé de RNase H. Il existe en fait plusieurs enzymes dans les cellules eucaryotes (Cazenave et al., 1993). Les transcriptases inverses possèdent également une activité RNase H associée.

L'activité enzymatique de la RNaseH est très sensible à la nature chimique des modifications apportées à des oligonucléotides antisens. Seuls les désoxyribonucléotides naturels, et leurs analogues comportant des phosphorothioates ou des phosphorodithioates, sont capables d'induire une coupure de l'ARN choisi pour cible. Les oligoribonucléotides, les oligonucléotides comportant des modifications en position 2' du sucre (par exemple 2'-fluoro ou 2 '-0-alkyl) , les oligonucléotides synthétisés avec les anomères à des nucléotides, les oligométhylphosphonates, les analogues possédant un enchaînement polyamide (PNA) … (Nielsen PE et al., 1993) ne possèdent pas la propriété d'induire l'activité enzymatique de la RNase H sur un ARN , même si, dans certains cas, l ' hybride oligonucléotide-AR et encore capable de fixer la protéine.

Dans certains systèmes acellulaires, il est possible d'identifier les fragments de l'ARN messager résultant de la coupure par la RNa e H et de démontrer que l'oligonucléotide était bien fixé sur la séquence choisie pour cible. Ce type d'expérience permet également de mettre en évidence la présence éventuelle de sites secondaires de coupure, dus à la fixation de

l'oligonucléotide au niveau de séquences qui ne sont pas parfaitement complémentaires. Le site de reconnaissance des RNases H eucaryotes est de l'ordre de cinq paires de bases. Des hybrides oligonucléotides-ARN peuvent donc servir de substrats à ces enzymes, même s'il existe des mésappariements. C'est, en particulier, ce qui est observé si J'on utilise des oligonucléotides de taille trop importante. Dans les cellules en culture, il est extrêmement difficile d'apporter la preuve que la RNase H est impliquée dans le mécanisme d'action d'un oligonucléotide antisens car, en général, les fragments d'ARN messager ont rapidement dégradés par des ribonucléases cellulaires. Il est donc seulement possible de démontrer la disparition de L'ARN messager, mais cette disparition peut avoir d'autres origines que l'action de la RNase H.

Le rôle central joué par la RNase H dans le mécanisme d'action des oligonucléotides a été démontré dans plusieurs systèmes cellulaires en utilisant des oligonucléotides<<chimères>> dont seule la partie centrale permet l ' induction de la coupure par la RNase H (phosphodiesters ou phosphorothioates) , les parties latérales(5' et 3 ') de l'oligonucléotide étant synù1étisées avec des enchaînements résistants aux nucléases et n'induisant pas de coupure de l 'ARN par la RNase H (par exemple, méthylphosphonates, 2'-0-alkylou 2'-fluoro-oligonucléotides) (Monia BP et al., 1993).

La << fenêtre >> induisant l'activité RNase H doit avoir une longueur minimum de cinq nucléotides dans le cas de l 'ARN-messager du gène Ha-ras. L'effet biologique attendu est alors observé dans des cellules en culture. U n oligonucléotide qui ne possède pas de << fenêtre >> capable d'induire l'action de la RNase H n'a aucun effet. La spécificité vis-à-vis d'une mutation de l'ARN messager est conservée avec les oligonucléotides.

2. Mécanismes ne faisant pas appel à une coupure de l'ARN messager par la ribonucléase

A. Inhibition par blocage physique de l'ARN messager

Il ne faudrait pas conclure des résultats décrits ci-dessus que le mécanisme impliquant la RNase H est le seul qui permette d'expliquer les effets biologiques des oligonucléotides antisens dans des cellules ou dans des extraits acellulaires. Par exemple, en se fixant sur l'extrémité 5', non codante, de l'ARN messager de la B-globine, des oligonucléotides en série a (synthétisés avec les anamères a des nucléotides au lieu des anomères p naturels) sont

capables d'inhiber la synthèse de la protéine (Bertrand JR et al., 1989) . Cependant, ils n'ont aucun effet lorsqu'ils se fixent sur la région codante de l'ARN messager.

Ces résultats suggèrent que la fixation d'un oligonucléotide entre la coiffe (CAP) et le codon d'initiation AUG, ou dans une région recouvrant ce codon d'initiation, empêche l'assemblage correct de la machinerie de traduction (protéines spécifiques de la coiffe, fixation de la sous-unité 40S du ribosome, glissement de cette sous-unité le long de la région 5' non codante, fixation de la sous-unité 60S . . .)

Des oligomères, synthétisés avec un enchaînement polyamide (P A) et les bases naturelles des acides nucléiques, sont capables de bloquer la synthèse protéique, même lorsqu'ils sont fixés sur la partie codante du message (Hanvey JC et al., 1992) . Cependant, les exemples décrits à ce jour font appel à des P A qui forment localement une triple hélice (complexes impliquant deux P A par ARN). Une telle triple hélice pourrait constituer un obstacle suffisant pour que la machinerie de traduction soit bloquée dans sa progression, comme c'est le cas avec des oligonucléotides capables de former une triple hélice sur un ADN simple brin (pinces) et de bloquer la réplication de cet ADN (Giovannangeli C et al., 1993) .

Il est important de noter que des protéines cellulaires, en se fixant sur l 'hybride oligomère-ARN, peuvent jouer un rôle important dans le mécanisme d'action d'oligonucléotides qui n' induisent pas de coupure par la RNase H . La RNase H, elle-même, pourrait jouer un tel rôle pense fixant sur l'hybride, même si elle est ensuite incapable d'exercer son activité enzymatique. Il est vrai semblable qu'un tel mécanisme est important dans l'inhibition de la transcription inverse d'un ARN viral par un oligomère antisens incapable d'induire la coupure par la RNase H , ou en présence d'une transcriptase inverse dépourvue d'activité RNase H. La transcriptase inverse peut, en effet, se fixer sur l'hybride ARN-oligomère et le complexe ternaire, ainsi formé, arrêter l'élongation par une autre molécule de polymérase (Bordier B et al., 1992).

B. **Modification du métabolisme des ARN messagers**

Les structures secondaires (et tertiaires) des ARN messagers jouent un rôle important dans leur métabolisme, en empêchant leur dégradation par des ribonucléases cellulaires.

Si la fixation d'un oligonucléotide modifie ces structures et rend certaines régions de l'ARN messager accessibles aux ribonucléases, le temps de vie et la concentration stationnaire du message seront diminués (Chaing MY et al., 1991). Ce mécanisme est difficile à distinguer

d'un mécanisme impliquant la RNase H puisqu'une coupure au sein d'un ARN messager se traduit, la plupart du temps, par une hydrolyse rapide des fragments.

La déstructuration de l 'ARN messager pourrait représenter une étape importante dans le mécanisme d'action des ARN antisens produits in situ par des constructions génétiques, en plus de l'effet éventuel des ribonucléases spécifiques de structures d'ARN en double hélice.

3. Inhibition de l'épissage des ARN pré-messagers

En fixant au niveau de jonction exon-intron, un oligonucléotide peut empêcher le fonctionnement normal de la machinerie d'épissage (Kulka M et al., 1989).

D'autres sites fonctionnels importants pour l'épissage, qui sont situés à l'intérieur des introns (par exemple, le site de formation de la structure en lasso), peuvent également être la cible d'oligonucléotides antisens (Dominiski Z et al., 1993) . La fixation sur l'un des ARN nucléaires qui participe à la contitution du complexe nucléa-protéique assurant l'épiage peut entraîner une inhibition non spécifique de l'épissage.

Dans tous les cas évoqués aux paragraphes précédents, si l'oligonucléotide peut induire la coupure de I'ARN par la RNase H, ce mécanisme superpose au mécanisme de blocage physique du processus de traduction ou d'épissage.

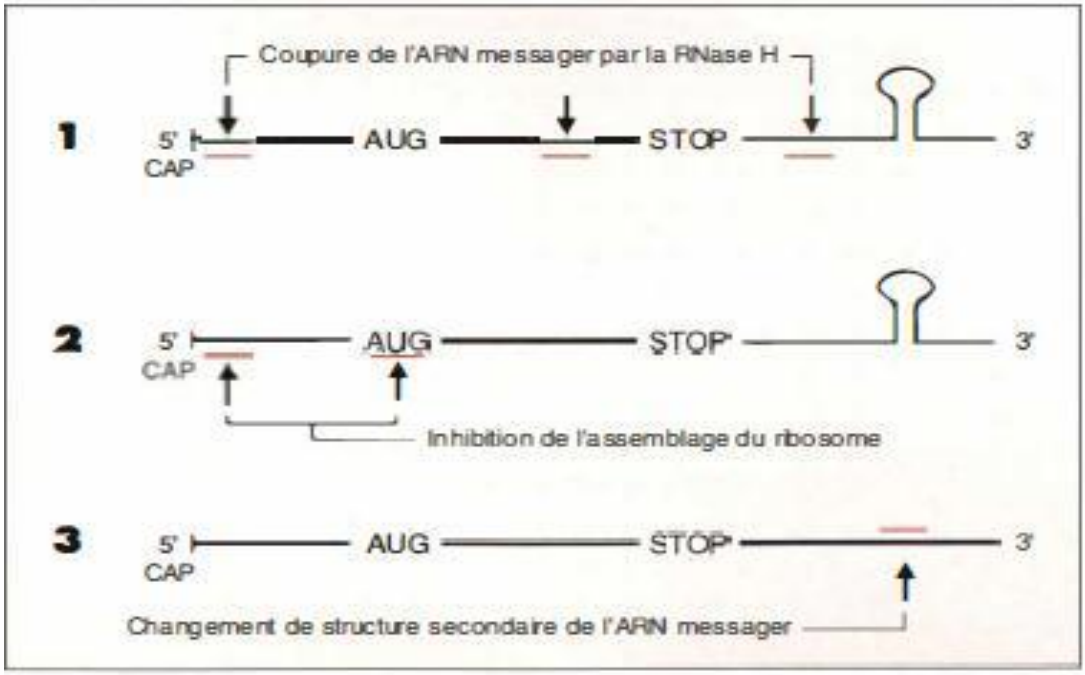


Figure 1. ***Mécanismes d'action des oligonucléotides antisens.*** *(1) Mécanisme impliquant la RNase H : la RNase H reconnaît les hybrides ADN/ARN et hydrolyse seulement les liaisons phosphodiesters de la partie ARN. Seuls les désoxyribonucléotides naturels, et leurs analogues comportant des phosphorothioates ou des phosphorodithioates, sont capables d'induire une coupure de l'ARN choisi pour cible. (2) Inhibition par blocage physique de l'ARNm : la fixation d'un oligonucléotide entre la coiffe (CAP) et le codon d'initiation AUG, ou dans une région recouvrant ce codon d'initiation, empêche l'assemblage correct de la machinerie de traduction. (3) Changement de la structure secondaire de l'ARNm : si la fixation d'un oligonucléotide modifie ces structures et rend certaines régions de l'ARN messager accessibles aux ribonucléases, le temps de vie et la concentration stationnaire du message seront diminués.*

Figure 9. Mécanismes d'action des oligonucléotides antisens (Dominiski Z et al., 1993)

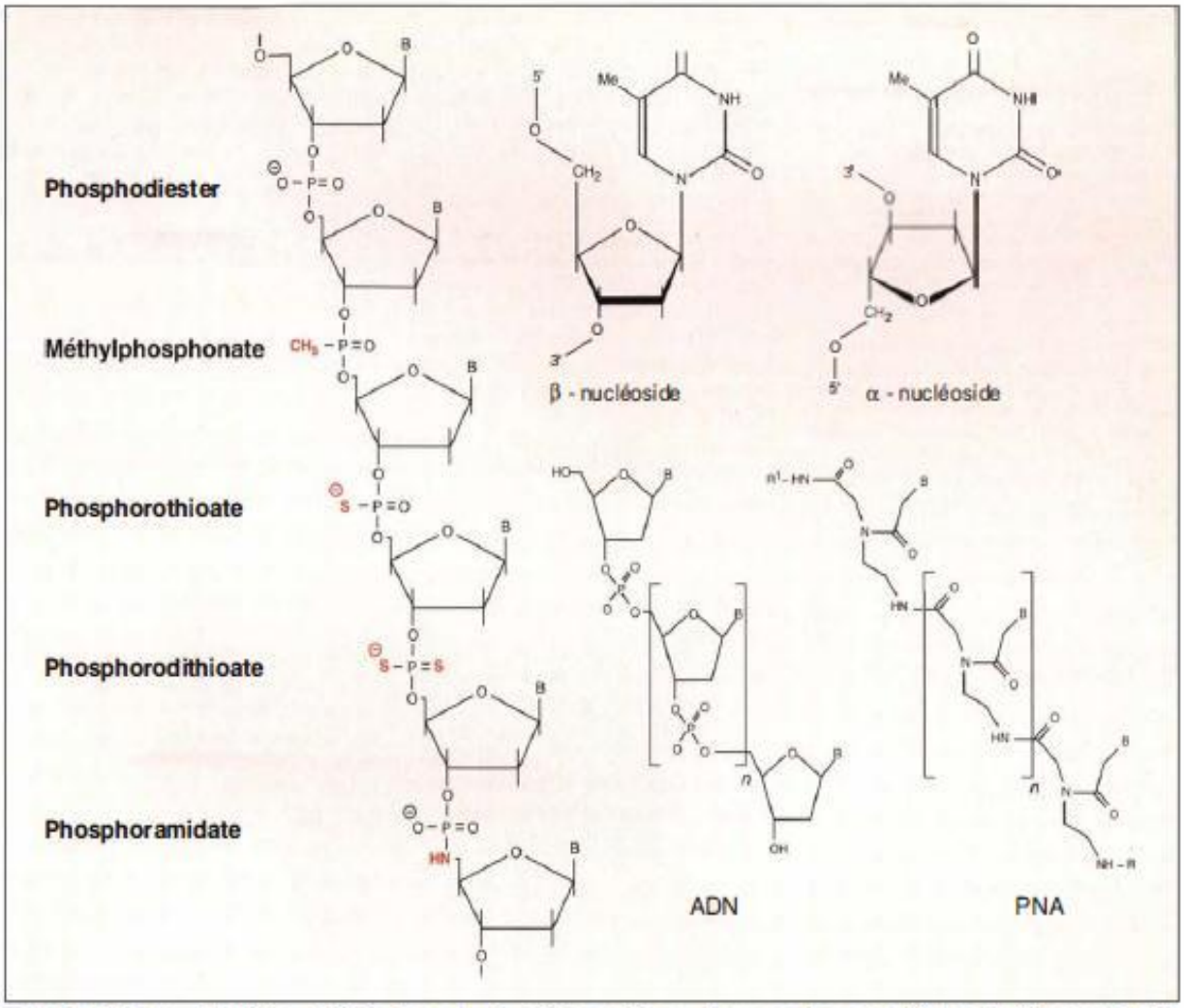


Figure 3. ***Oligonucléotides utilisés dans la stratégie antisens.*** *Pour protéger complètement l'oligonucléotide contre les endonucléases, il est nécessaire de modifier l'enchaînement phosphodiester. Les phosphorothioates sont actuellement les plus utilisés car leur synthèse est facile. La substitution du sucre en position 2' (2'-O-alkyl, 2'-fluoro...) confère également une résistance vis-à-vis des nucléases. Il en est de même des oligométhylphosphonates qui possèdent un squelette non chargé, des oligo-α-désoxynucléotides dans lesquels l'anomère β naturel des nucléotides est remplacé par l'anomère α, des PNA dans lesquels le squelette phosphodiester est remplacé par un enchaînement polyamide.*

Figure 10. Oligonucléotides utilisés dans la stratégie antisens **(Dominiski Z et al., 1993)**

3.2.2.2. Les paramètres contrôlant l'efficacité des oligonucléotides antisens

De nombreux paramètres ont une influence sur l'activité antisens des oligonucléotides.

Les principaux ont brièvement mentionnés.

-La stabilité de l'oligonucléotide antisens vis-à-vis des nucléases

Il 'agit évidemment d'un paramètre très important. Les oligonucléotides naturels sont rapidement dégradés dans les milieux de culture cellulaire, dans le plasma et dans les cellules.

Les nucléases les plus actives étant des 3'-exonucléases, une modification de l'extrémité 3' des oligonucléotides est suffisante pour allonger considérablement leur temps de vie.

Pour protéger complètement l'oligonucléotide contre les endonucléases, il est nécessaire de modifier l'enchaînement phosphodiester. Les phosphorothioates sont actuellement les plus utilisés car leur synthèse est facile. Ils sont stables vis-à-vis de nucléases et ils induisent la coupure de I'ARN cible par la RNase H. Ils ne sont cependant pas dépourvus d'effets secondaires en raison de leur fixation sur d'autres constituants cellulaires que les ARN messagers.

La substitution du sucre en position2' (2'-0-alkyl, 2'-fluoro ...) confère également une résistance vis-à-vis des nucléases.

-La stabilité de l'hybride formé avec l'ARN messager

L'hybride doit être suffisamment stable pour inhiber la traduction, même lorsque la RNase H intervient dans le mécanisme d'action. Mais il ne doit pas être trop stable, si non la sélectivité d'action sur un seul ARN messager peut être perdue car l'oligonucléotide peut alors se fixer sur des séquences présentant des mésappariements, avec une stabilité suffisante pour inhiber la traduction.

-La structure secondaire (et tertiaire) de la région de l'ARN messager choisie pour cible
L'oligonucléotide peut ne pas se fixer si la déstructuration de l'ARN requiert une énergie trop importante pour exposer la séquence complémentaire. Même si l'hybride possède une énergie suffisante pour déplacer l'équilibre, le système peut être cinétiquement figé.

Plusieurs expérience ont montré que la région de l'ARN messager située au voisinage du codon d'initiation A G était accesible à des oligonucléotides antisens ; mais ce n'est pas une règle générale (Lima WF et al., 1992)

-La structure secondaire (par exemple, épingle à cheveu) et l'auto association de l'oligonucléotide

L'association de l'oligonucléotide avec sa cible ne pourra se dérouler favorablement que si l'hybride possède une énergie supérieure à celle de la structure propre de l'oligonucléotide.

A nouveau des problèmes cinétiques peuvent empêcher la formation de l'hybride, même si l'équilibre thermodynamique lui est favorable.

-Le nombre de copies de l'ARN messager

Si l'oligonucléotide n'exerce pas son action de façon catalytique, la concentration requise pour inhiber la traduction sera d'autant plus élevée que le nombre de copies de l'ARN messager sera plus élevé. Les problèmes de spécificité peuvent devenir importants si un autre ARN messager possède une séquence voisine de celle choisie pour cible et se trouve présent à une concentration élevée.

-Le temps de vie de l'ARN messager et de la protéine correspondante

Si la protéine dont on veut inhiber la biosynthèse possède un longtemps de vie, l'effet biologique attendu peut être fortement retardé par rapport à l'inhibition de la traduction de l'ARN messager ou à sa coupure par la RNase H. Si l'ARN messager est transcrit de façon très efficace, l'effet de l'oligonucléotide peut ne se manifester que de façon transitoire, en particulier si l'oligonucléotide est dégradé rapidement.

-La fixation de protéines, in situ, sur l'hybride formé par l'oligonucléotide avec sa cible ARN

Ce problème a été peu ou pas abordé dans les expériences décrites à ce jour, à l'exception de la fixation de la RNase H. Cette protéine stabilise les complexes formés. Elle est susceptible de se fixer sur certains hybrides oligonucléotides-ARN même si l'activité enzymatique n'est pas induite par la fixation. Elle pourrait alors jouer un rôle important dans le mécanisme d'inhibition «physique >> décrit ci-dessus. D'autres protéines cellulaires pourraient jouer un rôle similaire.

-La fixation de la ribonucléase H et la cinétique de coupure de l'ARN

Quand l'hybride est un substrat pour cette enzyme (oligodésoxynucléotides avec un enchaînement phosphodiester, ou phophorothioates, ou phosphorodiù1ioates), la RNase H (les RNases H, puisqu'il en existe plusieurs dans les cellules eucaryotes) possède une certaine spécificité vis-à-vis de la séquence de l'hybride.

Pour deux hybrides de stabilité comparable, les cinétiques de coupure peuvent être très différentes.

-Le changement de structure secondaire et tertiaire de l'ARN messager dû à la fixation de l'oligonucléotide

Ce changement peut entraîner une dégradation accélérée par les ribonucléases cellulaires et, donc, une réduction du temps de vie de l'ARN messager in situ (Chiang MY et al., 1991).

-La cinétique et l'efficacité de pénétration de l'oligonucléotide dans les cellules

Ces paramètres dépendent du type cellulaire et de la nature chimique de l'oligonucléotide. Certaines protéines membranaires fixent les oligonucléotides (Ecker D et al., 1992) .mais il n 'a pas été démontré qu'elles étaient impliquées dans la pénétration cellulaire. La majorité - sinon la totalité– des oligonucléotides pénèue par endocytose dans les cellules humaines en culture. Les protéines membranaires mention nées ci-dessus pourraient être impliquées dans l'un des mécanismes d'entrée.

4. Les travaux publiés sur le blé transgénique exempt de gluten

Dans un 1er Article intitulé par Les chercheurs modifient génétiquement le blé pour le rendre presque exempt de gluten et publié sur le journal Actes de l'Académie nationale des sciences

Une équipe internationale de chercheurs a réussi à modifier génétiquement les graines de blé pour empêcher la production de gluten dans les plantes subséquentes. L'effort s'est concentré, sur la désactivation de l'enzyme responsable de l'activation des gènes responsables du développement de la protéine du gluten.

L'équipe de recherche fait partie d'un effort de nombreux groupes pour résoudre le problème de la maladie cœliaque, qui est un trouble auto-immune déclenché par le gluten. Le traitement actuel pour les patients atteints du trouble est de leur conseiller d'éviter les aliments contenant du gluten. Le problème avec cette approche, bien sûr, est qu'il conduit à un régime difficile à maintenir, sévèrement restreint. Des recherches récentes ont été centrées autour d'essayer d'isoler certains types de grains qui ne produisent pas de gluten et de passer à eux. Cet effort a rencontré des problèmes, car jusqu'à présent, aucun n'a été trouvé qui soit sécuritaire pour les patients cœliaques . Une autre approche a été d'essayer de développer une substance qui pourrait être ajoutée à l'alimentation pour aider à la digestion du gluten. Mais de tels efforts sur ce front ont également échoué.

Pour modifier les échantillons de graines de blé, les chercheurs ont mis l'accent sur l'enzyme DEMETER qui est responsable de l'activation d'un groupe de gènes qui entraînent la production de gluten. En utilisant plusieurs techniques de génie génétique.

Le présent rapport décrit un effort pour développer une thérapie diététique naturelle pour ce trouble par la suppression transcriptionnelle des ménages de DEMETER de blé (DME) utilisant des interférences d'ARN. Le DME code une glycosylase d'ADN de 5-méthylcytosine responsable de la dérépression transcriptionnelle des gliadines et des glutenines de faible poids moléculaire par déméthylation active de leurs promoteurs dans l'endosperme du blé. Des recherches antérieures ont démontré que ces protéines étaient la principale source d'épitopes immunogènes.

Dans cette recherche, les gènes DME d'orge et de blé ont été clonés et localisés sur les chromosomes syngénés. La diversité des nucléotides chez les ménages DME a été étudiée et utilisée pour leur profil de transcription virtuel. La conservation fonctionnelle de l'enzyme DME a été confirmée en comparant le motif et la structure du domaine à l'intérieur et à travers le règne végétal. Enfin, l'influence épigénétique du DME silencieux sur l'accumulation de gliadines a été étudiée en utilisant 20 transformants exprimant l'ARN en épingle à cheveux dans leur endosperme. Ces transformants ont montré une suppression de 85,6% dans l'abondance de transcription DME et une réduction de 76,4% de la quantité de prolamines immunogènes.

Dans un 2eme Article intitulée Reduced-Gliadin Wheat Bread: An Alternative to the Gluten-Free Diet for Consumers Suffering Gluten-Related Pathologies et publée sur le journal Plos one.

Le blé est une composante majeure de la plupart des régimes mondiaux en raison de sa qualité nutritionnelle et la capacité de sa farine à produire variété d'aliments savoureux et satisfaisants. Ceci est une conséquence des propriétés viscoélastiques uniques de la pâte de blé, qui permettent piégeage de CO2 pendant la fermentation, permettant la préparation de pains allumés et d'autres produits cuits. Ce blé les produits apportent une contribution substantielle à l'apport alimentaire l'énergie et les protéines, et fournissent des fibres alimentaires, des minéraux, des vitamines, et photochimiques.

Quatre lignes transgéniques à gliadine réduite de Triticum aestivum cv. Bobwhite 208 ('BW208') et trois lignes transgeniques de gliadine réduite du T. aestivum cv. Bobwhite 2003 ('BW2003'), et leurs respectifs des lignes de type sauvage.

Les lignées de gliadine réduite ont montré une forte réduction de l'immunotoxicité par rapport à leurs types sauvages respectifs, avec le BW208 les lignes à faible teneur en gliadine affichant une teneur en gluten inférieure à celle de leursBW2003 homologues. La quantité de gluten était fortement diminuée dans les pains de pain par rapport à la farine échantillons, en particulier dans les lignes à faible teneur en gliadine. Les lignes avec L'appauvrissement le plus important du gluten dans les pains était la ligne D793 (97% de réduction) et la ligne E82 (96% de réduction).

Les auteurs de la recherche ont constaté que, pendant la fermentation du levain,certaines bactéries lactiques produisaient une enzyme capable de dégrader une protéine, la gliadine (prolamine du blé). Cette dernière semble impliquée dans l'intolérance au gluten caractéristique de la maladie cœliaque et peut endommager l'intestin grêle. En améliorant le procédé, il serait donc possible de proposer des pains à base de levain qui permettraient de réduire, voire supprimer le problème d'intolérance au gluten.

Les consommateurs potentiels préféreraient le pain à gliadine réduit plutôt que le pain au riz.

Un autre avantage du pain à gliadine réduit est que cela peuvent être réalisés à l'aide de recettes simples et standard, contrairement à recettes complexes actuellement utilisées pour la fabrication du riz ou produits sans gluten de maïs, qui sont nécessaires pour donner ces produits une cuisson acceptable et une qualité organoleptique (Fernando P et al., 2014).

Dans un 3eme Article intitulée parSuppression of gliadins results in altered protein body morphology in wheatet publée sur le journal Experimental botany.

Les protéines de gluten de blé, les gliadines et les glutenines revêtent une grande importance dans la détermination de la biomécanique unique propriété du blé. Des études ont donc été menées pour déterminer leurs voies et mécanismes de synthèse, pliage et dépôt dans les corps protéiques. Dans le présent travail, un ensemble de lignes de blé transgénique a été à étudié avec des niveaux fortement supprimés de γ-gliadines et / ou de tous les groupes de gliadines, en utilisant de la lumière et de la fluorescence microscopie combinée à l'immunodétection en utilisant des anticorps spécifiques pour les γ-gliadines et les sous-unités de glutenine HMW, ces lignes représentent un matériau unique pour étudier la formation et la fusion des corps protéinés dans le développement de graines deblé. Des quantités plus élevées de sous-unités HMW étaient présentes dans la plupart des lignes transgéniques, mais seules les lignes avec la suppression de toutes les gliadines ont montré des différences dans la formation et la fusion

des corps protéiques. Large arrondie des corps de protéines ont été trouvés dans les lignes de type sauvage et les lignées transgéniques avec des niveaux réduits de γ-gliadines, tandis que les lignes avec tous les gliadines régulés à la baisse avaient des corps protéiques de forme irrégulière et une formation irrégulière. La taille et le nombre d'inclusions, qui ont été rapportés pour contenir des triticines, était également plus élevé dans les corps protéiques

Les lignes avec tous les gliadines sont réglementées. Des changements dans la composition de la protéine et la morphologie du PB ont été signalés dans les lignées transgéniques avec toutes les gliadines régulées à la baisse n'ont pas entraîné de changements marqués dans la teneur totale en protéines ou instabilité des différentes fractions (Javier G et al., 2011).

Dans un 4eme Article intitulée parLe blé sans gluten ? La recherche vise à créer de nouveaux grains au milieu d'une augmentation de la maladie coeliaque et publée sur le journal Experimental botany.

Les agriculteurs du Kansas financent un projet de recherche génétique visant à développer des céréales exemptes de gluten, car un nombre croissant d'Américains sont diagnostiqués avec une affection auto-immune qui les empêche de digérer de manière sûre le blé, l'orge et le seigle.

La Commission du blé du Kansas a consacré 200 000 $ pour les deux premières années du projet, qui vise à cataloguer les séquences d'ADN du blé qui peuvent déclencher des réactions chez les personnes atteintes de maladie cœliaque. La recherche est menée par Engrain, une société basée au Kansas spécialisée dans l'amélioration des produits de boulangerie.
" *Si vous savez que vous produisez une culture qui n'est pas bien tolérée par les gens, alors c'est la bonne chose à faire* ".
Selon la Fondation nationale pour la conscience coeliaque, environ un pour cent, ou un sur 133 Américains, ont une maladie cœliaque - un trouble autoimmune qui endommage l'intestin grêle et entrave l'absorption des nutriments des aliments. La maladie coeliaque est génétique, et il n'y a pas de traitement autre qu'un régime sans gluten qui est exempt de toute nourriture contenant du blé, du seigle ou de l'orge.
Les ventes de pain sans gluten, de pâtes, de craquelins et d'autres produits aux États-Unis ont atteint 973 millions de dollars en 2014, en hausse par rapport à 810 millions de dollars l'année précédente, selon la firme de recherche Consumer Facts.
La recherche a déjà identifié environ 20 fragments de protéines dans le blé qui causent des réactions cœliaques, mais le nouveau projet espère les identifier tous et, finalement, engendrer

une variété de blé sans danger pour la consommation chez les personnes atteintes de cœliaques.

Selon le Whole Grains Council , la plupart des céréales - par exemple, le sarrasin, le maïs, le millet, le riz, le riz sauvage, le sorgho et le quinoa - n'ont pas de gluten. L'avoine n'a pas de gluten naturellement, mais reçoit fréquemment des traces résiduelles lorsqu'elles sont traitées sur des équipements utilisés pour le blé, l'orge et le seigle.

Un rapport de 2013 de l'Institute for Responsible Technology (IRT) a indiqué que l'introduction d'organismes génétiquement modifiés (OGM) à l'approvisionnement alimentaire américain au milieu des années 1990 aurait pu être un "déclencheur environnemental possible" pour l'augmentation soudaine du nombre de Cas cœliaux. L'IRT a cité des données du Département de l'agriculture des États-Unis, ainsi que des documents de l'Agence de protection de l'environnement des États-Unis, des revues de revues médicales et des recherches internationales.

Une entreprise italienne teste le blé qui est purgé du gluten par un processus de fermentation spécial et mène des études en direct sur les patients cœliaques (Chris M, 2015)

Dans un 5eme Article intitulée par Characterization of a hypo allergenic wheat line lacking ω -5 gliadinet publée sur le journal Allergology International.

Il n'existe aucun traitement curatif pour l'anaphylaxie induite par un exercice dépendant du blé (WDEIA). ω-5 Gliadin est l'un des allergènes dominants affectant les patients WDEIA. L'utilisation de ω-5 gliadin free la farine de blé dans le régime régulier est considérée comme l'une des approches prophylactiques contre l'élimination des symptômes allergiques et une sensibilisation à la ω-5 gliadine. La recherche pour trouve du pain hypoallergénique blé (ou blé tendre) qui manquait des gènes codant pour la ω-5 gliadine et pour l'évaluer in vitro allergénicité. et évaluer la capacité de sensibilisation d'un des hypoallergéniques sélectionnés des lignes de blé en utilisant un modèle animal possible d'allergie au blé.

Les lignes de suppression du blé pané sont éxaminés par Western Blot pour déterminer le blé commun lignes manquant du locus de ω-5 gliadine. Les lignes de suppression utilisées ont une déficience partielle du chromosome 1B. Pour évaluer la capacité de sensibilisation du gluten à partir de la ligne de suppression choisie, les cobayes ont été nourris avec le gluten de la ligne de suppression sélectionnée ou du gluten commercialement disponible, et le score allergique a été évalué après avoir contesté les mêmes préparations de gluten.

la ligne de suppression 1BS-18 avait la moindre carence du chromosome 1B parmi les stocks de suppression manquant du locus de ω-5 gliadine Le test de provocation utilisant les cochons d'inde a révélé que les symptômes induits par l'application du gluten 1BS-18 étaient bien inférieurs à ceux du commerce gluten disponible.

La ligne de suppression 1BS-18, qui n'a pas le locus ω-5 gliadin, est susceptible d'avoir une faible capacité de sensibilisation dans le cochon d'Inde. L'utilisation des produits de blé de la ligne 1BS-18 dans la vie quotidienne peut fournir une solution possible pour le début de l'allergie au blé (Kunie K et al., 2016).

Dans un 6eme Article intitulée par Modification de la protéine –gliadine- par la phosphine et publié sur le journal Allergology International.

La modification de la protéine gliadine par la phosphine (PH3) a été étudiée. En tant que substrat à l'étude, la gliadine a été isolée du blé. La phosphine est un pesticide utilisé pour la protection du blé contre les insectes. Gliadine contient 4 sous-unités différentes : α, β, γ, ω. La concentration de protéines a été déterminée par la méthode de Lowry. Les sous-unités de gliadine ont été déterminées par la méthode de Weber et Osborn en utilisant une électrophorèse sur SDS-gel. Les recherches ont permis de détecter des changements dans les sous-unités β de la gliadine traitée par PH3 par rapport à la protéine non traitée. Les sous-unités β apparaissaient sur l'électrophorégraphe en deux fractions. Il est bien connu que les sous-unités ß de gliadine contiennent relativement un pourcentage élevé de liaisons croisées avec des disulfures. La phosphine est un réactif réducteur fort qui provoque une réduction des liaisons disulfure (Kunie K et al., 1994)

5. Les Travaux publiés sur la stratégie anti-sens

La 1er Article intitulée par Contrôle sélectif de l'expression des gènes par des oligonucléotides. Stratégies antisens et publié sur le journal Jihn Libbey eurotext

De nombreux exemples illustrent l'utilisation des oligonucléotides dans les cellules en culture pour inhiber l'expression de gènes etétudier leur rôle physiologique, En revanche, les publications décrivant l'inhibition de l'expression d'un gène par des oligonucléotides antisens in vivo sont beaucoup moins nombreuses.

Un certain nombre d'études ont montré l'effet des oligonucléotides dans des modèles animaux, quelques exemples portant sur l'inhibition de la croissance tumorale sont présentés

ici. Les différents mécanismes de discrimination entre un proto-oncogène et un oncogène par les oligonucléotides antisens. Dans tous les cas, et même lorsque l'effet s'avère spécifique de la séquence, il n'existe pas de preuvedirecte démontrant que c'est bien un mécanisme antisens qui est responsable de l'inhibition de l'expression du gène (Abadie V et al., 2011).

De nombreux exemples d'utilisation des oligonucléotides antisens concernent les cellules tumorales. La multiplication de cellules leucémiques humaines (lignée K562) a été inhibée dans des souris scid avec succès en utilisant un oligonucléotide phosphorothioate dirigé contre le gène c-myb L'oligonucléotide a été administré par des pompes implantées en sous-cutané.Plusieurs oligonucléotides contrôles n'ont pas d'effet sur la croissance tumorale. Le même gène a été ciblé en utilisant un oligophosphorothioate, administré par des pompes sous-cutanées, pour inhiber la croissance de cellules de mélanome humain dans des souris scid.

Les auteurs ont montré que l'expression de l'ARN messager du gène c-myb est inhibée dans les tumeurs traitéesavec l'oligonucléotide antisens.Des oligonucléotides modifiés, partiellement ou totalement phosphorothioates, dirigés contre l'ARN messager de la sous-unité p65 dufacteur de transcription NF-kB inhibent la croissance tumorale chez des souris transgéniques transformées par ou chez des sourisathymiques .Dans ce deuxième cas, l'inhibition de la croissance tumorale et la régression des tumeurs ont été corrélées à uneinhibition de l'expression de l'ARNm et de la protéine.L'ARN chimérique bcr –abl impliqué dans la leucémie myéloïde chronique, constitue lui aussi une cible de choix pour desoligonucléotides antisens (Sapone A et al., 2011).

Des oligophosphorothioates dirigés contre la jonction bcr-abl ont été injectés par voie intraveineuse à dessouris scid greffées par des cellules BV 173 portant le gène bcr-abl. Seul le traitement par l'oligonucléotide antisens permetd'inhiber la croissance des cellules et d'augmenter la durée de vie des animaux.

L'inhibition des ARNm a été mise en évidence dans les cellules de moelle osseuse, de la rate et du foie des animaux traités par l'antisens. Toute fois, un effet de l'oligonucléotide indépendant d'un mécanisme antisens est largement suspecté. Des souris scid ont été greffées avec des cellules de lymphome portant la translocation t .préalablement traitées par un oligonucléotide dirigé contre l'ARNm du gène bcl-2. Après 28 jours, ces souris ne développent pas de lymphome contrairement aux souris ayant reçu des cellules traitées par l'oligonucléotide sens ou brouillé qui, elles, développent un lymphome portant la translocation L'effet d'un oligonucléotide phosphorothioate dirigé contre la partie 5' non codante du gène

ha-ras a été démontré chez la souris athymique greffée avec des cellules possédant le gène ha-ras muté dans le codon (Kasarda D, 2013).

Ces auteurs ont montré l'inhibition de la croissance tumorale lorsque les cellules ont été traitées par l'oligonucléotide antisens avant d'être injectées aux animaux. Ce même gène a été choisi comme cible par l'équipe de T. Saison-Behmoaras. Un oligonucléotide phosphodiester protégé en 3', dirigécontre le codon 12 muté de l'oncogène ha-ras a été adsorbé sur des nanoparticules puis injecté par voie sous-cutanée à des souris athymiques greffées avec des cellules tumorales. L'expression du gène ha-ras muté est inhibée par l'oligonucléotide antisens spécifique de la mutation alors que l'expression du gène ha-ras sauvage n'est pas affectée.

Des souris transgéniques pour un gène de fusion entre une séquence activatrice de l'immunoglobuline M de souris et le gène c-myc ont été utilisées comme modèles pour le lymphome de Burkitt .Lorsque ces souris reçoivent un oligophosphorothioate dirigé contre c-myc par des pompes sous-cutanées, le développement des tumeurs est considérablement inhibé et la durée de vie des souris augmente.

Le traitement par l'antisens inhibe l'expression de l'ARNm et de l'antigène myc p65.Un oligonucléotide phosphorothioate dirigé contre le gène c-myb a été utilisé chez le rat pour inhiber la prolifération des cellules musculaires lisses induite par angioplastie de l'artère carotide .L'application locale de l'oligonucléotide sous forme de gel aentraîné la réduction de l'expression du géne c-myb et l'inhibition de la prolifération des cellules musculaires lisses. Plus récemment, Monia ont décrit l'activité anti tumorale d'un oligonucléotide dirigé contre c-raf kinase .Sur un ensemble de34 oligophosphorothioates criblés in vitro sur des cellules, un seul inhibe l'expression de l'ARNm et de la protéine.

Dans des souris athymiques greffées, l'injection de l'oligonucléotide inhibe, en fonction de la dose, la croissance tumorale et l'expression de l'ARNm. Une étude très complète de l'effet de cet oligonucléotide sur plusieurs types de tumeur et à des doses variables suggère fortement un effet antisens. Une équipe de la même société, Isis Pharmaceuticals (Carlsbad, États-Unis), avait montré l'inhibition de l'expression del'isoforme a de la protéine kinase C (PKC) dans les souris par un oligophosphorothioate .Ces auteurs ont montré que l'expressiondes trois autres isoformes de la PKC (PKC-d, PKC-e, PKC-z) n'est pas affectée par cet oligonucléotide.De nombreuses expériences, que nous ne décrirons pas ici, ont montré l'effet inhibiteur des oligonucléotides antisens sur des virus.En particulier des

oligonucléotides phosphorothioates dirigés contre l'ARN du virus de VIH ont été largementdéveloppés (Ludvigsson JFet al., 2013).

Une nouvelle approche originale a été décrite récemment où l'oligonucléotide antisens est utilisé non plus pour inhiber l'expression d'un gène mais pour restaurer une expression normale. Dans une des formes de la b-thalassémie, une mutation dans le deuxième intron entraîne l'apparition d'un site donneur d'épissage et de ce fait conduit à un ARN qui ne peut être traduit. Sur des cellulesNIH-3T3 et HeLa, un oligonucléotide antisens phosphorothioate 2'-O-méthyle ciblé sur ce site muté permet de restaurer la synthèse d'un ARN normalement épissé et de la b-globine (Vader W et al., 2002).

6. Le débat éthique sur le blé GM sans gluten

Les nouvelles espoirs pour la création de variété de blé transgénique sans gluten vis-à-vis a des encourageants à manger toujours plus de céréales, << pour notre santé >>. L'enquête de Julien Venesson montre au contraire qu'en éliminant le gluten de blé de notre alimentation, nous pourrions être en meilleure santé.

Contre le régime sans gluten

Le blé remplacé par le sarrasin, les pommes de terre, le riz ou les légumineuses (qui ne contiennent pas de gluten). Mais le riz est plus pauvre en protéines (2,3 g/100 g, contre 8 à 9 g/100g pour le pain), de même les pommes de terre (1,2 g/100g pour les pommes de terre bouillies et 3,8 g/100g pour les frites). Quant aux légumineuses, elles apportent certes des protéines (6,5 g/100g pour les haricots blancs cuits et 7,6 g/100 g pour les lentilles cuites), mais leurs fibres sont mal tolérées par les intestins et peuvent aggraver ballonnements et douleurs abdominales.

De même, les Français ne consomment pas assez de fibres (18 g/jour chez les femmes et 20 g/jour chez les hommes), alors que nous devrions en ingérer au moins 25 g/jour. Supprimer ses 150 g de pain quotidien, c'est diminuer sa ration de fibres de 5 à 13 g par jour, ce qui est notable et nocif.

De plus, le pain (et les pâtes) sont une bonne source de vitamines B1, B3, B6 et apportent plus ou moins (selon le type de pain) du fer, zinc, magnésium, phosphore et potassium.

Des chercheurs à l'université américaine de l'Illinois, se sont penchés sur les cas de 7 400 personnes. Parmi elles, 73 observaient quotidiennement un régime sans gluten, qu'elles soient

intolérantes ou non à cette substance. Après analyse de l'urine de tous les participants, les scientifiques ont trouvé un taux d'arsenic deux fois supérieur à la normale chez les personnes qui ne consommaient pas de gluten, et 70 % de mercure en plus.

Le riz est réputé pour sa capacité à absorber, et à garder, toutes les substances chimiques présentes dans le sol où il est cultivé. Un chercheur de la Queens Université s'est récemment penché sur le sujet et avait alerté les consommateurs, en affirmant qu'une mauvaise cuisson de cette céréale pouvait entraîner, à terme, de nombreux problèmes de santé. Selon ce scientifique, avant de manger du riz, une cuisson dans un grand volume d'eau est recommandée pour éliminer, au maximum, toutes les substances chimiques (Chiang MY et al., 1991).

Pour le blé transgénique sans gluten

Le gluten de blé ayant des symptômes dangereux sur :

Troubles respiratoires chroniques

-Troubles et allergies respiratoires chroniques

-Rhinite sinusite, asthme, otite

-Maux, enrouement, obstruction par mucosités.

Fatigue chronique et affaiblissement

-Faiblesse immunitaire

-Troubles du sommeil

-Fatigue inexpliquée, en particulier pendant la digestion

-Boutons qui ressemblent à l'acné

-Foie fatigue, affaiblit.

Problèmes cardiovasculaires

-Hypertension artérielle sur le moyen terme

-Athérosclérose, dépôt de lipides sur la paroi des artères.

Système endocrinien

-Diabète de type I

-Obésité et diabète de type II

-Thyroïdite.

Affaiblissement des os, dents, articulations

-Arthrose, Arthrite, douleurs articulaires et musculaires

-Ostéoporose, affaiblissement des os

-Douleurs dorsales, faiblesse

-Grampes musculaires plus fréquents.

Cancers, affaiblissement de l'immunité

-Augmente les risques de cancers de l'intestin et de l'estomac

-Augmente significativement le risque de lymphome, cancers du sang

-augmente le risque d'infertilité de 15%

-augmente le risque de calculs rénaux

-développement de maladies auto – immunes.

Problèmes de peu

-peau qui gratte sans raison, urticaire, démangeaisons

-peau sèche, apparition de plaques rouges, eczéma

-dermatite atopique

-acné, psoriasis, pellicules.

Problèmes aux yeux et cheveux

-conjonctivites fréquentes, yeux secs, paupières enflées

-pertes de cheveux, calvitie sur le long terme (Ecker D et al., 1992).

Etude épidémiologique

1. Objectifs de l'étude

-Préciser le profil épidémiologique, clinique, thérapeutique et évolutif de la MC dans la région de M'sila.

-Discuter les examens paracliniques d'orientation et de confirmation de la MC.

Comparer nos résultats avec les données de la littérature.-

2. Lieu de l'enquête

L'enquête a été réalisée dans La Wilaya de M'sila (Figure 11). Celle-ci a été choisie essentiellement d'une part pour des raisons des commodités d'accès et d'autre part, pour l'absence de chiffres sur la maladie cœliaque dans cette ville.

La wilaya de M'Sila a une superficie de 18 175 km^2. Elle est limitée par les wilayas de Bouira et Bordj-Bou-Arreridj au nord, Batna et Sétif à l'est, Médéa et Djelfa à l'ouest et Biskra au sud.

Sa population est de 1 029 447 habitants. Sa morphologie et sa position géographique confèrent à cette région un aspect écologique unifié représenté par la prédominance de la steppe qui couvre 1 200 000 ha (soit 63 % de la superficie totale) de la wilaya. La superficie affectée à l'agriculture représente 20 % de la surface totale, consacrées essentiellement à la céréaliculture, à l'arboriculture et aux maraîchages. Il est possible d'obtenir plus de détails sur la géographie de la wilaya sur le Géoportail officiel.



Figure 11. La Région enquêtée (Wilaya de m'sila).

3. type d'étude et population étudiée

Notre travail est une étude rétrospective portant sur 503 patients atteints de maladie cœliaque colligées au sein du service de pédiatrie du Hospitalier Provincial de m'sila et étalée sur une période de 5 mois allant du Décembre au fin d'avril.

Ces Patients ont été adressés par les médecins de ville, les autres pédiatres, les hôpitaux régionaux du pays, et les centres de santé avoisinants.

4. Critères d'inclusion

Nous avons inclus dans cette étude tous les patients ayant soit :

-Un tableau clinique évocateur de maladie cœliaque, survenant après l'introduction du gluten dans l'alimentation, en plus d'une confirmation histologique typique comportant une atrophie villositaire sévère de la muqueuse intestinale.

-Un tableau clinique, biologique et immunologique typique associé à une atrophie villositaire intestinale minime.

Nous étions limités dans notre étude par :

- l'impossibilité de réaliser certaines explorations para-cliniques :

Bilan de malabsorption : (protidémie, calcium, vit D), sérologies, examens radiologiques.

- l'absence de quelques informations pour certains dossiers (l'allaitement maternel, l'âge osseux)

- l'absence du suivi régulier et la perte de vue des malades après leurs sorties de l'hôpital.

5. Fiche d'exploitation

-Les renseignements cliniques ont porté sur les antécédents personnels ou familiaux, la mise ou non sous allaitement maternel, l'âge d'introduction du gluten, et l'âge aux premiers symptômes.

-Les signes cliniques à détailler étaient l'existence ou non d'une diarrhée, d'une constipation, d'un ballonnement abdominal, d'un retard statural, ou d'une cassure de la courbe de croissance en poids puis en taille.

-L’existence d’une pathologie associée ; diabète, épilepsie, dermatite herpétiforme, arthrite ou autre, a été mentionnée.

FICHE D'EXPLOITATION MALADIE COELIAQUE

Nom & Prénom :……

Age :……..

Sexe :

Adresse :……

Tél :……

Période d'hospitalisation :…….

SIGNES D'APPEL

- Trouble de transit ☐
- Stagnation pondérale ☐
- Retard staturo-pondéral ☐
- Cassure courbe pondérale ☐
- Vomissement ☐
- Pâleur CM ☐
- Ralentissement de la croissance SP ☐

ATCD

Personnels

- Allaitement maternel ☐
- Age d'introduction de farine ☐
- Age de dentition ☐
- Fracture ☐
- Diarrhée chronique ☐
- SD hémorragique ☐
- Retard psychomoteur ☐
- Parasitose intestinal ☐
- Aphtose buccal ☐

Familiaux

- Consanguinité ☐
- Cas similaire dans la fratrie ☐

H.D.M

- Age de début
- Signes cliniques
  - Trouble de transit
    - Diarrhée ☐
    - Alternance diarrhée – Constipation ☐
    - Constipation ☐
    - Selles pâteuses ☐
  - Ballonnement abdominal ☐
  - Douleurs abdominales ☐

- Vomissement ☐ Asthénie ☐
- Perte de poids ☐ Trouble de l'humeur ☐
- Œdème ☐ Apathie ☐
- Pâleur CM ☐ Prurit ☐
- Anorexie ☐ Dermatite herpétiforme ☐

EXAMEN CLINIQUE

- Poids :
- Taille :
- Distension abdominale ☐ Trouble neurologique ☐
- Dénutrition ☐ Signes de déshydratation ☐

EXAMENS COMPLIMANTAIRES

- AC anti transglutaminase
- L'âge osseux :
- Biopsie jéjunale faite le :
- Histologie
- Test régime sans gluten ☐
- Test régime – réintroduction de gluten ☐

TRAITEMENT

- Régime sans gluten depuis :
- Transfusion ☐
- Fer ☐
- Traitement par SMD ☐ Démarré le :

EVOLUTION

- Normalisation du transit ☐
- Amélioration de comportement ☐
- Rattrapage staturo-pondéral ☐
- Réparation histologique ☐
- Rechute ☐

6. Analyse Statistique

Tous ces renseignements consignés sur la fiche d'exploitation, ont été transposés sur un tableau Excel. L'analyse statistique et descriptive a été obtenue à l'aide Excel.

Résultat

1. Donnée Épidémiologiques

1.1 Fréquence et répartition annuelle

Cinq cents et trois cas de maladie cœliaque ont été hospitalisés pour la maladie cœliaque dans le service de pédiatrie de M'sila sur une période de (16 ans allant de 2000 jusqu'à 2015).

La répartition annuelle des cas de la maladie cœliaque recensés de 2000 au 2015 est représentée dans la figure suivante.



Graphique 1. Répartition annuelle des malades cœliaques

1.2. L'âge

L'âge moyen des malades au moment du diagnostic a été de 24,13 ans, avec des extrêmes allant de 6 mois à 50 ans.

Chez 288 patients soit 57.25 % des cas, le diagnostic est fait avant l'âge de 5 ans.

L'âge moyen chez les filles a été de 18 ,36 ans alors que l'âge moyen chez les garçons a été de 18,46 ans.



Graphique 2. La répartition des malades par tranche d'âge selon l'âge au diagnostic.

1.3. Le sexe

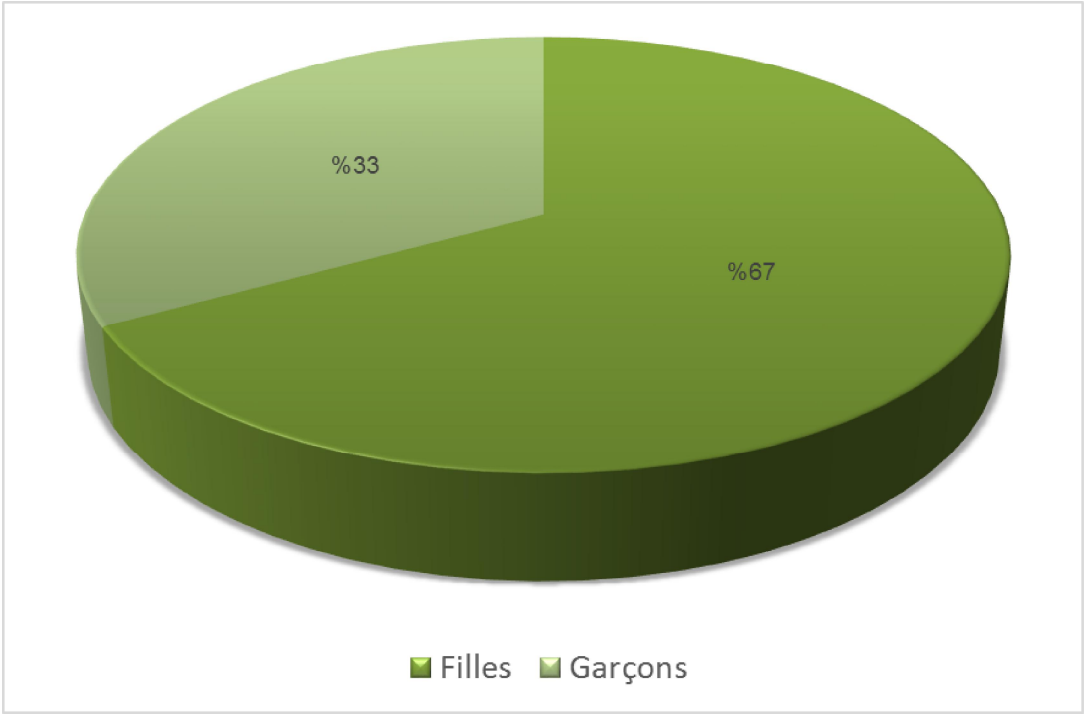
Dans notre série il y'a 503 cas, parmi lesquelles 337 filles et 166 garçons réparties dans 15 régions comme suite :

Tableau 4 : Répartition des maladies coliques par sexe dans les 15 régions de M'sila étudiées.

	Filles	%	Garçons	%	Total
	Effectif		Effectif		Effectif
M'sila	50	67 ,56	24	32 ,44	74
Oulad darradj	20	76 ,92	06	23 ,08	26
elhkabbana	16	66 ,66	08	33 ,34	24
chellel	19	67 ,85	09	32 ,15	28
Ben serour	27	84 ,37	05	15 ,63	32
Ain meleh	15	48 ,38	16	51 ,62	31
medjedel	10	50	10	50	20
Djbel msaad	23	69 ,69	10	30 ,31	33

Magra	27	57 ,44	20	42 ,56	47
Sidi aissa	32	71 ,11	13	28 ,89	45
Ain hjel	20	68 ,96	09	31 ,04	29
Hammam dalaa	30	85 ,71	05	14 ,29	35
Sidi Amer	07	58 ,33	05	41 ,67	12
Oulad sidi ibrahim	09	56 ,25	07	43 ,75	16
Bousaada	32	62 ,74	19	37 ,25	51

Notre série, comporte 337 filles soit 66.99% et 166 garçons soit 33.01% avec un sexe ratio F/G de 2,03.



Graphique 3. Répartition des patients de notre série selon le sex-ratio.

2. Données Cliniques

2.1. Antécédents

2.1.1. L'âge à l'introduction du gluten

L'âge à l'introduction de la farine varie de 2 à 16 mois avec une moyenne de 8 mois.

2.1.2. L'allaitement maternel

L'existence ou non d'un allaitement maternel est connue dans 212 cas : 200 en ont bénéficié.

La durée de l'allaitement maternel varie de 2 à 24 mois.

2.1.3 Formes familiales

Dans 18 cas nous avons retrouvé que la famille comporte deux cœliaques, soit 3.57 % de l'ensemble des patients.

Il s'agit de :

-2 cas (Deux frères) ;

-3 cas (Une fille et son cousin) ;

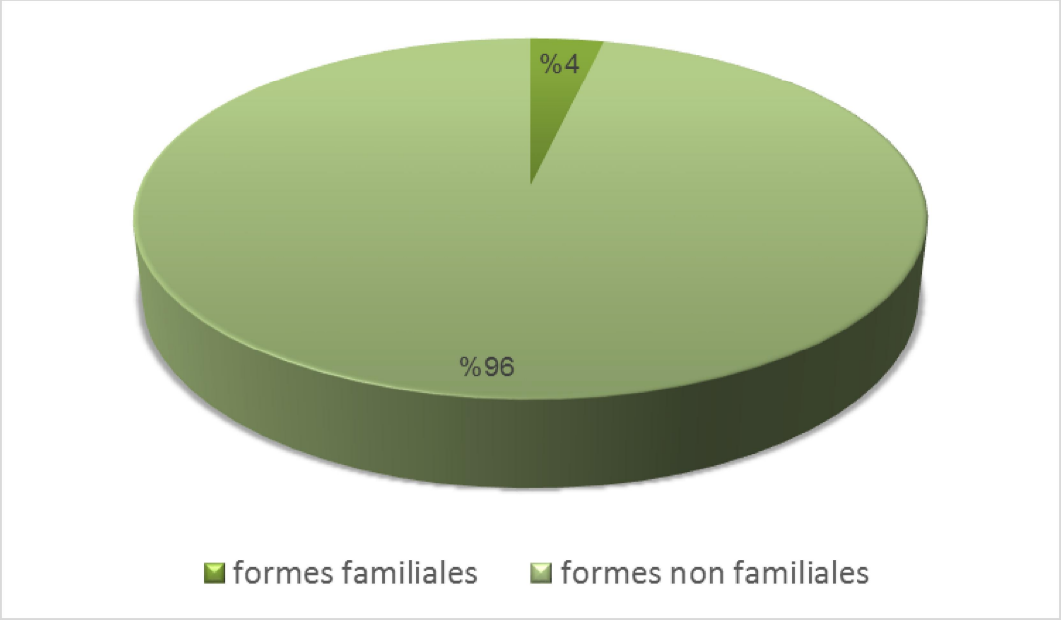
-1 cas (Un garçon et son cousin) ;

-4 cas (Mère et son fille ou bien son garçon) ;

-3 cas (Père et son fille ou bien son garçon) ;

-2 cas (Tante et son neveu) ;

-3 cas (Les jumeaux).



Graphique 4. Les formes familiales retrouvées dans notre étude

2.2. Age de début de la symptomatologie clinique

Le début de la symptomatologie clinique varie de 3 mois à 150 mois (12 ans et demi) avec un âge moyen de 44,39 mois.

L'intervalle libre séparant l'âge d'introduction du gluten et l'âge d'apparition des signes cliniques est variable de quelques jours à 12 ans.

L'intervalle libre moyen est de 26 mois.

2.3. Manifestations cliniques

Principaux signes cliniques présentés par les malades de notre série :

2.3.1. Signes digestifs

-Troubles du transit

La diarrhée chronique a été retrouvée chez 232 patients soit 46,12% des cas.

Chez 22 patients (4,37%) on a trouvé une alternance diarrhée/constipation.

-Autres signes digestifs sont

-le ballonnement abdominal chez 176 patients ; soit 34 ,99 %,

-les vomissements chez 48 patients ; soit 9,54%

-et les douleurs abdominales chez 32 patients ; soit 6 ,36%

2.3.2. Signes extradigestifs

-Signes généraux

Pâleur : dans 202 cas (40,15%)-

-Asthénie : dans 107 cas (21 ,27%)

-Anorexie : dans 30 cas (5 ,96%)

-Prurit : dans 15 cas (2 ,98%)

-Déshydratation : 12 cas (2 ,38%)

-Retard pubertaire : trouvé dans deux cas parmi les 23 ayant atteint ou dépassé l'âge pubertaire ; Il s'agit de deux filles de 16 ans et de 17 ans.

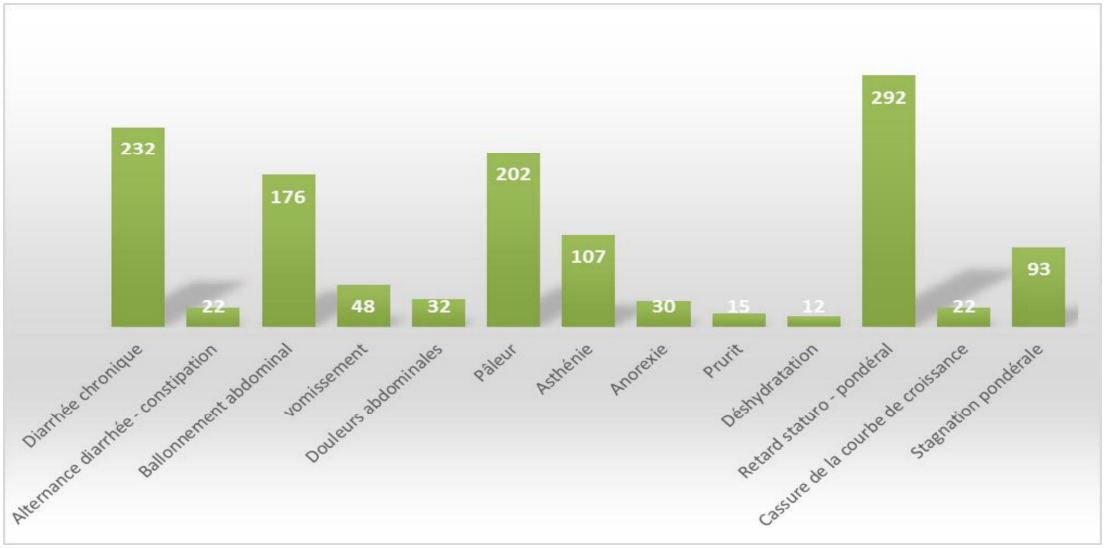
-Troubles de croissance

Ont été notés chez 407 patients (soit 80,91% de l'ensemble des malades) ; il s'agit de :

- Retard staturo-pondéral : chez 292 patients (71 ,74%)
- Cassure de la courbe de croissance : chez 22 patients (5 ,40%)
- Stagnation pondérale : chez 93 patients (22 ,85%).

Tableau 5. Principaux signes cliniques présentés par les patients de notre série

Signes cliniques	Nombre des cas	%
Diarrhée chronique	232	46 ,12
Alternance diarrhée - constipation	22	4 ,37
Ballonnement abdominal	176	34 ,99
vomissement	48	9 ,54
Douleurs abdominales	32	6 ,36
Pâleur	202	40 ,15
Asthénie	107	21 ,27
Anorexie	30	5 ,96
Prurit	15	2 ,98
Déshydratation	12	2 ,38
Retard staturo - pondéral	292	71 ,74
Cassure de la courbe de croissance	22	5 ,40
Stagnation pondérale	93	22 ,85



Graphique 5. Répartition des malades selon les principaux signes cliniques.

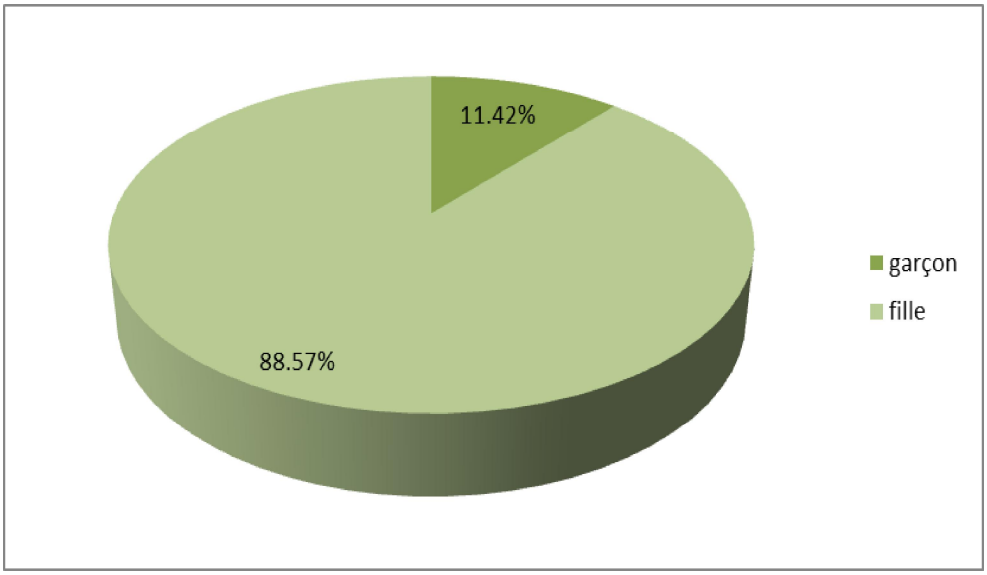
2.4. Etude histologique

Les biopsies effectuées dans le duodénum proximal en dessus de la papille de Vater peuvent montrer des artéfacts (par exemple, un étirement des villosités) produits par les glandes de Brunner sous-muqueuses, et qui peuvent être interprétés à tort comme une muqueuse plate.

Parmi les 503 cas nous avons retrouvé la biopsie réalisée chez 140 patients :

-124 cas chez les filles (88 ,57%)

-16 cas chez les garçons (11, 42%).



Graphique 6. la réalisation de la biopsie

3. Suivi et évolution

3.1. Evolution favorable

1- **Normalisation du transit**

Chez 100 malades qui ont présenté des troubles du transit,

92 ont retrouvé un transit normal dès les premiers jours de l'instauration du RSG.

2- **Rattrapage staturo -pondéral**

82 patients sur 100 correctement suivis ont présenté une nette amélioration de la courbe staturo-pondérale.

3-**Amélioration du comportement**

Elle a été notée chez 3 patients sur 10 ayant présenté des troubles du comportement (apathie).

3.2. Evolution défavorable malgré la poursuite du RSG rapportée par les parents

Réapparition de la diarrhée : dans 6 cas sur 232 cas-

Retard staturo-pondéral : persistant chez 7 patients sur 292 cas-

-Retard pubertaire : constaté chez 2 filles.

Discussion

La maladie cœliaque a été le sujet de plusieurs travaux depuis sa description pour la première fois par Samuel Gee en 1888. Son diagnostic et son traitement sont bien codifiés, sa pathogénie reste encore mal définie malgré les différentes découvertes sur le plan immunologique et génétique.

Devant la fréquence importante de la maladie cœliaque sur le pourtour méditerranéen et en Afrique, et devant l'augmentation du nombre de cas ces dernières années, nous avons jugé utile d'évaluer le profil épidémiologique de cette affection dans la wilaya de M'sila.

Dans ce chapitre nous nous proposons d'analyser les résultats de notre série à la lumière des données de la littérature internationale, et de les comparer à ceux d'autres séries

1. Discussion des données épidémiologiques

1.1. L'age

La maladie cœliaque peut de nos jours être diagnostiquée à tous les âges mais en fonction de l'âge de survenue, la présentation sera différente, avec une présentation clinique classique prédominant chez l'enfant (diarrhée chronique avec cassure de la courbe de poids) tandis que les cas de révélation plus tardive seront plus atypique (retard pubertaire, anémie, hyper transaminémie...).

L'âge moyen de nos patients au moment du diagnostic est de24,13 ans, avec des extrêmes allant de 6 mois à 50 ans.

La majorité des cœliaques recensés sont des enfants et des adolescents avec 288 (57, 25%) cas contre 215 (42, 75%) adultes de plus de 20 ans. Ce nombre élevé enregistré pourrait être lié au fait que la majorité des enfants et adolescents soient scolarisés puisque pour cette tranche d'âge, la principale source d'information reste les UDS. Concernant les adultes, le faible effectif noté pourrait être dû au manque d'information auprès des structures enquêtées (médecins spécialistes ou généralistes, hôpitaux, ...).

Il est comparable à celui d'autres séries telles que l'Est Algérien (Jijel, Mila, Guelma, Batna et Khenchela) ; La majorité des cœliaques recensés sont des enfants et des adolescents avec 423(83,43%) cas contre 84 (16,56%) adultes de plus de 18 ans.

1.2. Le sexe

La répartition des cas recensés par sexe (Tableau), montre pour toutes les régions étudiées que les sujets de sexe féminin 337 cas (66 ,99%) sont significativement plus touchés par la maladie que ceux de sexe masculin 166 cas (33 ,01%). Le sex-ratio définit par le rapport entre le nombre de sujets de sexe féminin sur ceux de sexe masculin (TKOUB 2008), est égale 2,03 au niveau de la population étudiée. Toutefois, les chiffres donnés pour ce rapport restent variables. Alors que BOUSFIHA *et al.*1999, soulignent une sex-ratio de 1 auprès d'une population d'enfants maghrébins, ROSTROM, MURRAY et KAGNOFF 2006 ainsi que TKOUB 2008, révèlent que cette maladie est deux trois fois plus fréquente chez les femmes. Cependant, ces auteurs rapportent que cette sex-ratio s'atténue actuellement avec l'augmentation du taux de diagnostic des formes cliniquement asymptomatiques.

Dans les villes d'Est Algérien (Jijel, Mila, Guelma, Batna et Khenchela) :

- les sujets de sexe féminin (entre 53,04% et 59,52%)

-les sujets de sexe masculin (entre 40,47% et 46,95%).

-le rapport sex –ratio varie de 1,12 à 1,47 au niveau de la population étudiée.

2. Discussion des données cliniques

2.1. Antécédents

2.1.1. Age d'introduction du gluten

L'âge d'introduction du gluten dans notre série varie de 2 à 16 mois avec une moyenne de 8 mois.

Une étude (Norris) a mis en évidence qu'une consommation trop précoce (dans les trois premiers mois) ou, à l'inverse, trop tardive (après le sixième mois) de céréales contenant du gluten était associée à une augmentation du risque de maladie cœliaque (GAUTAN A, 2006).

Les nouvelles recommandations suédoises sont identiques à celle formulées par Norris et son équipe ainsi que les dernières recommandations formulées par l'ESPAGAN (datant de fin 2007), à savoir : « Il est prudent d'éviter une introduction trop précoce (avant le 4 éme mois) ou trop tardive (après le 6 ^{éme} mois) du gluten, et de l'introduire progressivement sous couvert

de l'allaitement maternel, dans la mesure où cela réduirait le risque de maladie cœliaque, de diabète de type I ou d'allergie au blé» (AGOSTONI C, 2008).

2.1.2. Allaitement maternel

Une étude suédoise (Ivarsson) a montré que le risque de développer une maladie cœliaque était réduit si des aliments contenants du gluten étaient introduits dans l'alimentation de bébé en même temps qu'était continué l'allaitement maternel, et cet effet était d'autant plus prononcé que la durée totale de l'allaitement maternel était longue (IVARSSON A et al, 2002), ces hypothèses sont fréquemment retrouvées dans la littérature et confirmées par une méta-analyse de grande envergure (AKOBENG AK et al, 2006).

Les raisons de cet effet protecteur sont à ce jour obscur, mais plusieurs propositions ont été faite :

- il se pourrait que la prise concomitante de lait maternel et de gluten limite la quantité de gluten finalement disponible dans l'intestin, diminuant par le même risque de sensibilisation à cet allergène. En effet Ivarsson et son équipe ont démontrés que les patients cœliaques ont reçu initialement de plus grande quantité de gluten (IVARSSON A et al, 2002).

- une autre hypothèse serait que l'allaitement maternel pourrait protéger de la maladie cœliaque en aidant à réduire le nombre d'infections intestinales. Une inflammation du tractus digestif tôt dans la vie pourrait entraîner une augmentation de la perméabilité intestinale et ainsi faciliter le passage du gluten jusqu'à la lamina propria (SOLLID LM, 2002).

L'allaitement maternel semble donc protecteur si présent lors de l'introduction du gluten dans l'alimentation et ce d'autant plus qu'il est continué longtemps.

2.2.3. Formes familiales

L'existence de formes familiales conforte la théorie selon laquelle la maladie cœliaque survient sur un terrain génétique particulier, notamment l'association significative de certains antigènes de classe II d'histocompatibilité à cette affection, essentiellement HLA DR3 et DR7, et DQ W2.

3. Résultats de l'enquête sur l'alimentation des malades cœliaques

3.1. Exemple de produits sans gluten commercialisés en Algérie

En Algérie, l'alimentation des malades cœliaques reste peu disponible et faiblement diversifiée. L'enquête faite auprès des malades cœliaques de quelques villes de l'Est algérien entre 2004 et 2008 a révélé que les produits sans gluten du commerce étaient pour leur majorité des produits d'importation, chers, pas à la portée de tous et de faible palatabilité.

Tableau 6. Exemples de produits sans gluten commercialisés en Algérie (BENATALLAH *et al.*,2004, 2008)

PRODUITS ET PAYS DE FABRICATION	COMPOSITION DE BASE	PRIX (DA/kg)
▪ ***PRODUITS LOCAUX***		
– MACCARONI – AÏCHE	**Pâtes :** Farine de riz et de maïs, amidon de maïs, mono et diglycérides, sel.	260, 00 154,00
– NOGLUT le Gâté	**Biscuit :** Farine de riz, lait écrémé en poudre, huile végétale, bicarbonate de sodium, sucre, œufs, arôme, sel.	420,00
▪ ***PRODUITS IMPORTES***		
– NESTLE (*France*)	**Farine infantile :** Farine de riz, amidon de maïs, traces de lait, banane (12%), poire (2,4%), pyrophosphate de fer, maltodextrines, vanilline, calcium (200 mg), carbonate de calcium, vitamines (A, D, E, C, B_1, folacine, biotine)	670,00
– BLEDINE (*France*)	**Farine infantile :** Farine de riz à 60 %, graisse végétale, lécithine, sucre, fer élémentaire, maltodextrines, vitamines (E, C, B_{11}, pp, B_6, B_9, B_8, B_5)	640,00
– VIGOR Baby (*France*)	**Farine infantile :** Farine de riz, amidon de maïs, sucre, sels minéraux, dextromaltose, vitamines (K, D, B_1, B_2, B_5, B_6, B_8, B_{12}, niacine), Cu (4.5 mg).	560,00
– VEGELOSE (*France*)	**Farine infantile :** Farine de riz et de germe de blé, amidon de maïs, farine de soja délipidée, huile d'arachide et de soja, lécithine de soja, saccharose, carbonate de calcium, banane, manioc, glucose, chlorure de sodium, vanille naturelle, acide citrique, acide ascorbique, tocophérols.	2000,00
– NOGLUT (*Espagne*)	**Farine pour pain et biscuits :** Farine de riz, poudre de lait, caséïnates, levulose (11 g), hydroxypropylméthyl cellulose, sucre, arômes, sel, amidon de pomme de terre	700,00

3.2. Aliments souhaités et/ou difficiles à fabriquer

Dans le Tableau, est résumé ce qui ressort de l'enquête comme aliments sans gluten élaborés par les ménages (*EM*), souhaités par les malades (*S*), non disponibles sur le marché(*NDM*) ou difficiles à fabriquer (*DF*).

Tableau 7. Alimentation des malades cœliaques algériens (BENATALLAH *et al* 2004, 2008)

ALIMENTS	DESIGNATION
▪ PRODUITS DE PANIFICATION	
– Pain en baguette	*(NDM, DF, S)*
– Galette (riz et maïs)	*(EM, NDM, DF,S)*
– Pizza	*(NDM, DF, S)*
– Pain pour hamburger	*(NDM, DF, S)*
– Brioche	*(NDM, DF, S)*
▪ GATEAUX TRADITIONNELS	
– Makroud (maïs)	*(EM, NDM, S)*
– Bradj (maïs)	*(EM, NDM, S)*
– Besboussa (maïs)	*(EM, NDM, S)*
– Divers gâteaux secs	*(DF, S)*
– R'fiss tounsi (maïs)	*(EM, NDM, S)*
– Crêpes (maïs)	*(EM, NDM, S)*
▪ PATES	
– Couscous (maïs)	*(EM, NDM, DF, S)*
– Chekhchoukha	*(NDM, DF, S)*
– Aïch	*(DF, S)*
– Mahdjouba	*(NDM, DF, S)*
– Pâte à bourek	*(NDM, S)*
▪ CONFISERIES	
– Chocolat sans gluten	*(NDM, DF,S)*
– Bonbons divers sans gluten	*(NDM, DF, S)*
▪ TOUTE PATISSERIE	*(NDM, DF, S)*

Aliments sans gluten élaborés par les ménages (*EM*), souhaités (*S*), non disponibles sur le marché (*NDM*) ou difficiles à fabriquer (*DF*).

Le classement des aliments que les malades cœliaques algériens souhaiteraient voir surle marché sont essentiellement par ordre décroissant de préférences :

1. pain, 2. couscous, 3. galette, 3. crêpes, 4. pizza, 5. bourek.

Ces aliments restent pour la plus part, difficiles à fabriquer principalement à cause de l'absence de gluten qui, d'un point de vue technologique permet la bonne tenue de la pâte et confère aux pains et aux galettes leur légèreté et élasticité.

3.3. Problèmes rencontrés

Durant la réalisation de l'enquête, deux catégories de problèmes ressortent, ceux liés au déroulement même de l'enquête et ceux rencontrés quotidiennement par les malades.

-Le premier groupe de problèmes était relatif à certains médecins ont refusé de collaborer pour diverses raisons dont la confidentialité des dossiers des malades, le non classement des dossiers ou par peur de perturber les consultations. Le mauvais archivage des dossiers des

malades au niveau des hôpitaux et des UDS et leur insuffisance eninformations requises étaient un véritable handicap lors de l'enquête. Dans toutes les régions étudiées, L'absence de PMI. Des difficultés ont été également enregistrées lors du questionnement des mères sur l'alimentation de leurs enfants malades pendant la période de sevrage. Alors que ceci exige des détails faisant appel à la mémoire, rares sont les mères qui se souviennent parfaitement des quantités et de l'ordre d'introduction des aliments qu'elles ont utilisés pour le sevrage de leur enfant.

3.4. La série de problèmes rencontrés quotidiennement par les malades cœliaques a concerné essentiellement :

- La non disponibilité et diversité des produits sans gluten ;

- Le coût élevé de ces produits ;

- La mauvaise qualité des produits sans gluten commercialisés sur le marché Algérien les rendant de faible palatabilité ;

- Lors de la fabrication de galette ou de pain sans gluten tout en substituant la farine de blé par celle du riz ou du maïs, les cœliaques ou leurs mères ont du mal à obtenir une pâte qui tienne et qui lève au cours de la fermentation et ce, en raison de l'absence de gluten qui confère à la pâte de blé l'essentiel de ses propriétés visco-élastiques. Ceci donne des produits non légers et peu appréciés une fois refroidis ;

- Le manque d'organismes spécialisés pour l'information des malades et leurs familles sur les détails de leur maladie et sa diététique associée (aliments interdits et recettes non coûteuses des aliments autorisés) ;

- Une insuffisance de motivation et de sensibilisation des industriels et des investisseurs dans le domaine de fabrication de produits sans gluten.

Conclusion

Conclusion

La maladie cœliaque a donc connu ces dernières années une mutation Importante, l'amenant à occuper le devant de la scène dans la catégorie des maladies chroniques. Sa prévalence importante (près de 1% de la population générale), et le fait qu'elle puisse se compliquer d'ostéoporose, de maladies autoimmunes voire de cancers doivent la faire rechercher de façon régulière. Et si le dépistage de masse n'est pas à l'ordre du jour, il semble logique de préconiser un dépistage (ou plutôt un diagnostic) ciblé dans les groupes de malades à haut risque ou avec des symptômes évocateurs. Le trépied diagnostique constitué par la séquence Clinique-Biologie- Histologie reste obligatoire à la définition de la maladie cœliaque, même si ces dernières années quelques modifications sont venues alléger le nombre de biopsies nécessaire.

Les progrès réalisés dans la description du processus physiopathologique en cause ont quant à eux permis d'espérer pouvoir mettre au point des traitements adjuvants au régime sans gluten, traitements qui pourraient voir le jour dans les prochaines décennies (thérapie enzymatique) et ainsi faciliter le quotidien des cœliaque.

Les connaissances sur cette maladie aux multiples visages se font de plus en précises, pour autant il reste quelques zones d'ombre : facteur déclenchant, perméabilité intestinale, physiopathologie, forme latentes…

Le régime sans gluten est actuellement le seul traitement de la maladie cœliaque et doit être prescrit à vie pour tenter de prévenir l'ostéoporose et les complications malignes.
Notre travail a porté sur les malades cœliaque ayant colligées au sein du service de pédiatrie et étalée sur une période allant du 2000 à 2015.

Nos résultats confirment la prédominance féminine, la présentation clinique demeure classique puisque les symptômes typiques prédominent le tableau clinique, notamment la diarrhée, le retard staturo-pondéral, et le ballonnement abdominal. Et on note également que l'incidence annuelle est en nette augmentation.
D'où l'intérêt d'une sensibilisation du corps médical pour établir un diagnostic bien précis et pour une meilleure connaissance des différentes formes de la maladie.
Et si le principe du traitement est simple sur le plan théorique, le suivi de ce régime à vie est en pratique difficile, et ses difficultés découlent essentiellement de la non disponibilité des produits sans gluten (comme les gâteaux, les pattes….), le prix élevé des céréales dépourvus de gluten (Riz et le maïs).

Les nouvelles espoirs pour la création de variété de blé transgénique sans gluten restent continue puisque le gluten de blé provoque des effets très danger sur le système nerveux centrale chez les personnes non cœliaque :

-peut provoquer des maux de tête, difficultés de concentration (très fréquent avec l'intolérance au gluten) ;

-Migraine, maux de tête, vertiges ;

-Troubles de la concentration ;

-Somnolence.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Abadie V, Sollid LM, Barreiro LB, Jabri B. (2011) Integration of genetic and immunological insights into a model of celiac disease pathogenesis. In: Paul WE, Littman DR, Yokoyama WM, editors. Annu Rev Immunol. 493–525.

Anderson, O.D., and Greene, F.C. (1997) The α-gliadin gene family. II. DNA and protein sequence variation, subfamily structure, and origins of pseudogenes. Theor Appl Genet 95, 59–65.

Antoine, C., Peyron Rouau, S., Lullien-Pellerin, V., and Abecassis, G. (2004) Wheat bran tissue fractionation using biochemical markers . J Cereal Sci. 39: 387-393.

Auriau P., Doussinault G., Jahier J., Lecomte C., Pierre J., Pluchard P., Rousset M., Saur .L et Trottet M. (1992) Le blé tendre. In : Gallais A. et Bannerot H. (eds) Amélioration.

Baulcombe, D. C., Voinnet, O. and Hamilton, A. (2001) Enhanced Expression. In Brevet WO 01/38512 A2. UK

Belaid D. (1996) Aspects de la céréaliculture algérienne. INESD'Agronomie,Batna. P. 187.des espèces végétales cultivées. INRA Paris : 22- 38.

Belitz, H.D., and Grosh, W. (1987) Cereal and cereal products. "Food Chemistry" Springer-Vergals. Berlin. Germany.

Bernstein, E., Caudy, A. A., Hammond, S. M. and Hannon, G. J. (2001). Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. Nature 409, 363-6.

Beruand JR, lmbach JL, Paoletti C, Malvy C. (1989) Comparative activity of a- and 13-anomeric oligonucleotides on rabbit 13- globin synthesis: inhibitory effect of cap targeted oligonucleotides. Biochern Bivphys Res Commun; 164: 311 -8.

Bob Y. (2012) Les chercheurs modifient génétiquement le blé pour le rendre presque exempt de gluten. Disponible sur : Les actes de l'académie nationale des sciences (https://phys.org/news/2012-11-genetically-wheat-free-gluten.html#jCp).

Bordier B, Hélène C, Barr PJ, Litvak S, Sarih-Cottin L. (1992) ln vitro effect of antisense oligonucleotides on human immunodeficiency virus type 1 reverse transcription. Nucleic Acids Res; 20 : 5999-6006.

Bosher, J. M. and Labouesse, M. (2000) RNA interference: genetic wand and genetic watchdog. Nat Cell Biol 2, E31-6

Boulal H., Zaghouane O., EL Mourid M. et Rezgui S. (2007) Guide pratique de la conduite Des céréales d'automne (blés et orge) dans le Maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie). (eds) TIGC, INRA, ICARDA, Algérie. P. 176.

Bozzini A. (1988) Origin, distribution and production of durum wheat in the world. In: Fabriani G et Lintas C. (éd) Durum: Chemistry and Technology. AACC (Minnesota). Etats-Unis: 1-16.

Branlard G. (1999) Allelic diversity of HMW and LMW glutenin subunits and omega gliadins in French bread wheat (Triticumaestivum L). Genetic Resources and Crop

Caballero L, Martin L.M et al . (2004) "Variation et genetic diversity for gliadins in Spanish spelt wheat accessions" Genetics Resources et Crop Evolution 51:679-686

Catassi C, Fabiani E, Iacono G, D'Agate C, Francavilla R, et al. (2007) A prospective, double-blind, placebo-controlled trial to establish a safe gluten threshold for patients with celiac disease. Am J Clin Nutr 85: 160–166.

Cazenave C, Frank P, Büsen W. (1993) Characterization of ribonuclease H activities present in two cell-free protein synthesizing systems, the wheat germ extract and the rabbit reticulocyte lysate. Biochimie; 75 : 1 1 3-22. nielsen PE, Egholm M, Berg RH, Bluchardt O. Peptide nucleic acids (P As) : potential an ti-sense and an ti-gene agents. A nti-Cancer Drng Design; 8 : 53-63.

Cazenave C, Thuong NT, Toulmé JJ, Hélène. (1987) Enzymatic amplification of translation inhibition of rabbit 13- globin mRNA mediated by anti-messenger oligodeoxynucleotide covalenùy linked to intercalating agents. Nucleic Acids Res ;15 : 4717.

Chehat F. (2007) Analyse macroéconomique des filières, la filière blés en Algérie. Projet

PAMLIM « Perspectives agricoles et agroalimentaires Maghrébines Libéralisation et Mondialisation » Alger : 7-9 avril 2007.

Chiang MY, Chan H , Zounes MA, Freier SM, Lima WF, Bennett FC. (1991) Antisense oligonucleotides inhibit intercellular adhesion molecule 1 expression by two dis- tinct mechanisms. J Biol Chem.; 266 : 18162-71 .

Choi K, Siegel M, Piper JL, Yuan L, Cho E, Strnad P, et al. (2005) Chemistry and biology of dihydroisoxazole derivatives: Selective inhibitors of human transglutaminase 2. Chem Biol;12:469—75.

Clerget Y. (2011) Biodiversité des céréales : Origine et évolution. Montbéliard d'accompagnement des Critères d'évaluation du risque environnemental. Agencedans Fabriani G. et C. Lintas. (eds)DurumChemistry and Technology. AACC (Minnesota), États-Unis : 1-16.

Cogoni C, Irelan JT, Schumacher M, Schmidhauser TJ, Selker EU, Macino G. (1996) Transgene silencing of the al-1 gene in vegetative cells of Neurospora is mediated by a cytoplasmic effector and does not depend on DNA-DNA interactions or DNA methylation. Embo J; 15 : 3153-63

Ding, S.W., Voinnet, O., (2007) Antiviral immunity detected by small RNAs. Cell 130, 413-26

Djermoun A., (2009) La production céréalière en Algérie. Les principales caractéristiques. Revue Nature et Technologie 01: 45-53.

Dominski Z, Kole R. (1993) Restoration of correct splicing in thalassemic pre-rnRNA by antisense oligonucleotides. Proc Natl Aca.d Sei USA; 90 : 8673-7.

Doussinault G., Kaan F., Lecomte C. et Monneveux P. (1992) Les céréales à Pailleprésentation générale. In:Gallais A. et Bannerot H. (eds) Amélioration des espèces Végétales cultivées. INRA, Paris: 13-21.

Ecker D , Vickers T, Bruice T , Freier S,v Jenison R, Manoharan M, Zounes M . (1992) Pseudo-half-knot binding to RNA. Science; 257 : 958.

Endres, M.W., Gregory, B.D., Gao, Z., Foreman, W.A., Sizolwenkosi, M., Ge, X., Pruss, G.J., Ecker, J.R., Bowman, L.H., Vance, V. (2010) Two Plant Viral Suppressors of

Silencing Require the Ethylene-Inducible Host Transcription Factor RAV2 to Block RNA Silencing. PLoS Pathogens Vol.6 Issue 1

Favier. (1989) Valeur nutritive et comportement des céréales au cours de leurs transformations. Céréales en régions chaudes. AUPELF UREF, eds John Lebbey. Eurotext PARIS. pp : 285-297.

Feillet. P. (2000) Le grain de blé. (Eds)Composition et utilisation INRA. Paris: p 312.

G.Malamuta,b,c, B. Meressea,b, C. Celliera,b,c, N. Cerf-Bensussana,b. (2009) La maladie coeliaque: un futur sans régime ? Gastroentérologie Clinique et Biologique 33, 635—647

Gass J, Bethune MT, Siegel M, Spencer A, Khosla C. (2007) Combination enzyme therapy for gastric digestion of dietary gluten in patients with celiac sprue. Gastroenterology;133:472—80.

Gi ovan nangeli C, Hélène C. (1993) Oligonucleotide clamps arrest DNA synthesis on a single-stranded D A target. Proc Natl Acad Sei USA 90 : 100 1 3-7.

Gil-Humanes J, Pisto´n F, Tollefsen S, Sollid LM, Barro F. (2010) Effective shutdown in the expression of celiac disease-related wheat gliadin T-cell epitopes by RNA interference. Proc Natl Acad Sci U S A 107: 17023–17028.

Gupta, R.B., Batey, I.L., MacRitchie, F. (1992) Relationships between protein composition and functional properties of wheat flours. Cereal Chem. 69: 125–131.

Hammond, S. M., Boettcher, S., Caudy, A. A., Kobayashi, R. and Hannon, G. J. (2001). Argonaute2, a link between genetic and biochemical analyses of RNAi. Science 293, 1146-50

Hannon GJ. (2002) RNA interference. Nature 418 : 244-51

Hanvey JC, Peffer NJ, Bisi JE, Thomson SA, Cadilla R, josey JA, Ricca DJ, Hassman CF, Bonham MA, Au KG, Carter SG, Bruckenstein DA, Boyd AL,n oble SA, Babiss LE. (1992) Antisense and antigene properties of peptide nucleic acids. Science; 258 : 1 48 1 -5.

Henry Y. et De Buyser J. (2001) L'origine des blés. In : Belin.Pour la science. (eds) De la graine à la plante. Ed. Belin, Paris : 69-72.

Jackson E.A., Holt L.M. et PayneP.I. (1983) Catalogue of allèles for the complex loci, Glu-AJ, Glu-BJ and Glu-DJ which code for highmolecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. Cereal Res Commun11:29.

Javier G., Fernando P., Peter R., Shewry P and Francisco B. (2011) Suppression of gliadins results in altered protein body morphology in wheat. Dissponible sur: Expremental botany

Javier G., Fernando P., Rossana A., Ana R., Isabel C., Cristina M.. Rosell F. (2014) Reduced-Gliadin Wheat Bread: An Alternative to the Gluten-Free Diet for Consumers Suffering Gluten-Related Pathologies. Dissponible sur: Plos one.

Kasarda, D. D. (1989) Glutenin structure in relation to wheat quality. Wheat in unique, Ed. Pomeranz,Y., 277-302.

Kasarda D. (2013) Can an increase in celiac disease be attributed to an increase in the gluten content of wheat as a consequence of wheat breeding? J Agric Food Chem 61: 1155–1159

Khan K, Hamada A.S et Patek J, (1985) "Polyacrylamide gel electrophoresis for wheat variety identification" Cereal Chemistry 62: 310-313

Khan et Buschuk. (1979) Studies of glutenin. XII. Coprison by SDS-Page of unreduced.

Khatkar, B.S., Fido, R.J., Tatham, A.S., Schofield, J.D. (2002) Functional properties of wheat gliadins. I. Effects on mixing characteristics and bread making quality. J Cereal Sci.35: 299–306.

Kulka M , Smith CC, Aurelian L , Fishelevich R, Meade K, Miller P. (1989) Site specificity of the inhibitory effecLS of oligo (nucleoside methyl phosphonate) complementary LO the acceptor splice junelion of herpes simplex viru type 1 immediate early mRNA 4. Prvc Natl Acad Sei USA; 86 : 6868-72.

Kunie K, Hitoshi T, Takashi R. Endo c, Hiroaki M, Kuninori S, Eishin M (2016) Characterization of a hypoallergenic wheat line lacking u-5 gliadin**.** Dissponible sur : Allergology International

Kunie K, Hitoshi T, Takashi R. Endo c, Hiroaki M. (1994) Modification de la protéine – gliadine- par la phosphine**.** Dissponible sur : Allergology International

Laberche J.C. (2004). La nutrition de la plante In : Biologie Végétale. Dunod. 2. (eds). Paris: 154 -163.

Ludvigsson JF, Rubio-Tapia A, van Dyke CT, Melton LJ 3rd, Zinsmeister AR, et al. (2013) Increasing incidence of celiac disease in a North American population. Am J Gastroenterol 108: 818–824.

Leffler DA, Kelly C, Paterson B, Abdullah H, Collatrela A, Mur- ray J. A randomized. (2008) double-blind study of at-1001 for the prevention of celiac disease activation with gluten challenge (abstract). Gastroenterology; 134: A80.

Lemelin, E., Aussenac, T., and Violleau, F. (2007) Impact of cultivar and environment on size characteristics of wheat proteins using asymmetrical flow field-flow fractionation and multi-angle laser light scattering. Cereal Chemistry**.** 82**:** 28-33.

Lery F. (1982) L'agriculture au Maghreb ou pour une agronomie méditerranéenne. (eds)Maisonneuve et Larose. Paris: 338.

Lima WF, Monia BP, Ecker DJ , Freier SM. (1992) Implication of RNA structure on antisense oligonucleotide hybridization kinetics. Biochemistry 31 : 1 2055-6 1 .

MacRitchie, F., Kasarda, D.D., and Kuzmicky, D.D. (1991) Characterization of wheat protein fractions differing in contributions to breadmaking quality. Cereal Chemistry 68: 122–130.

Marsh MN. (1992) Gluten, Major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and immunobiomogic approach to the spectrum of gluten sensivity ("celiac sprue"). Gastroenterology 102:330-54.

Monia BP, Lesnik EA, Gonzalez C, Lima WF, McGee D, Guinosso CJ, Kawasaki AM, Cook PD, Freier SM. (1993) Evaluation of 2'-modified oligonucleotides containing 2'-deoxy gaps as antisense inhibitors of gene expression. J Biol Chem 268 :1 451 4-22.

Morris R., Schmid T.J.W. et Mattern P.J. (1966) Chromsomal location of gene or flour quality in the wheat variety Cheyenne using substitution lines.Crop Sci6: 119-122.

Moss, J. (1962) Les proteins des cereals. Progrés en chimie agricole et alimentaire. Ed. Hermann.:47-73.

Müller, S., Vensel, W.H., Kasarda, D.D., Köler, P., Wieser, H. (1998) Disulphide bonds of adjacent cysteine residues in low molecular weight subunits of wheat glutenin. J Cereal Sci. 27: 109–116.

Osborne, T.B. (1907) The proteins of the wheat kernel. Publ. 84. Carnegie Inst. : Washington, DC

Østergaard, H., Rasmussen, S.K., Roberts, T.H., and Hejgaard, J. (2000) Inhibitory serpins from wheat grain with reactive centers resembling glutamine-rich repeats of prolamin storage proteins. J. Biol. C **Morris, C.F. (2002).** Puroindolines: the molecular genetic basis of wheat grain hardness. Plant Mol. Biology 48: 633–647. Hem. 275: 33272–33279.

Payne, P.I. (1987) Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread making quality. Annual Revue of Plant Physiology 38:141-153.

Payne, P.I., Corfield, K.G., and Blackman, G.A.. (1979) Identification of a high-molecular-weight subunits of glutenin whose presence correlates with bread-making quality in wheats of related pedigree. Theoritical and Applied Genetics 55: 153-159.

Payne, P.I., Holt, L. M., Jackson, E.A., and Law, C.N. (1984) Wheat storageProteins : their genetics and their potential for manipulation by plantBreeding. Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. Ser. B 293 : 248-260. Evolution. 50: 669–679.

Ricroch A., Dattée Y. et Fellous M. (2011) Biotechnologie végétale In: environnement, Alimentation, santé. (eds) du Vuibert. Paris: 170-182.

Sabbagh M.A., Xu F., Carlson S.M., Moses L. J et Lee K. (2006) The development of Executive functioning and theory-of-mind. A comparison of Chinese and U.S. preschoolers. Psychological Science 17: 74–81.

Sapone A, Lammers KM, Casolaro V, Cammarota M, Giuliano MT, et al. (2011) Divergence of gut permeability and mucosal immune gene expression in two gluten-associated conditions: celiac disease and gluten sensitivity. BMC Med 9.

Sears E.R. (1954) The aneuploids of common wheat. Res. Bull. Mo. Sta 572: 1.

Shewry, P.R. (1999) The synthesis, processing, and deposition of gluten proteins in the developing wheat grain. Cereal Foods World, 44 : 587–589.

Shewry, P.R., D.Bradberry, J.Franklin, and R.P.White. (1984) The chromosomal locations and linkage relationship of the structural genes for the prolamin storage proteins (secalins) of rye. Theor. Appl. Genet. 69:63-69.

Shewry, P.R. (1997) Contrôle sélectif de l'expression des gènes par des oligonucléotides. Stratégies antisens. Dissponible sur: John libbey eurotext.

Singh, J., and Skerritt, J.H. (2001) Chromosom control of albumin and globulin in wheat grain assissed using different fractionation procedures. J. Cereal. Sci. 33: 163-181.

Stepniak D, Spaenij-Dekking L, Mitea C, Moester M, de Ru A, Baak-Pablo R, et al. (2006) Highly efficient gluten degradation with a newly identified prolyl endoprotease: implications for celiac disease. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol ;291:G621-9.

Torrès-Barcelo, C., Daros J.A., HC-Pro hypo- and hyper suppressor mutants: differences in viral si RNA accumulation in vivo and si RNA binding activity in vitro. Arch Virol 251-54.

Vaucheret H, Fagard M. (2001) Transcriptional gene silencing in plants: targets, inducers and regulators. Trends Genet; 17 : 29-35

Vader W, Kooy Y, Van Veelen P, De Ru A, Harris D, et al. (2002) The gluten response in children with Celiac disease is directed toward multiple gliadin and glutenin peptides. Gastroenterology 122: 1729–1737.

Voinnet O. (2001) RNA silencing as a plant immune system against viruses. Trends Genet 17: 449-59

Wen SS, Wen NA, Pang JS, Langen G, Brew-Appiah RAT, et al. (2012) Structural genes of wheat and barley 5-methylcytosine DNA glycosylases and their potential applications for human health. Proc Natl Acad Sci U S A 109: 20543–20548.

Xia J, Bergseng E, Fleckenstein B, Siegel M, Kim C et al. (2007) Cyclic and dimeric gluten peptide analogues inhibitingY, Khosla C DQ2-mediated antigen presentation in celiac disease. Bioorg Med Chem; 15: 6565—73.

Résume

En quelques années, la maladie cœliaque est devenue un problème de santé publique. Cette maladie auto-immune est induite par l'ingestion de gluten contenu dans les protéines de blé, du seigle et de l'orge chez les individus génétiquement prédisposés. De récentes études ont permis de mieux comprendre le mécanisme intervenant dans cette rupture de tolérance orale. Les complications sont rares mais potentiellement délétères.

Bien que le régime sans gluten permette une guérison complète, son observance n'est pas universelle si bien que d'autres stratégies thérapeutiques sont en cours d'évaluation.

Le but de ce travail est d'estimer dans un premier temps la prévalence de la maladie cœliaque dans la wilaya de m'sila, et la présentation des nouvelles stratégies utilisés pour la création de nouvelle variétés de blé sans gluten, comme une solution pour la maladie cœliaques.

Mots clés : la maladie cœliaque, régime sans gluten, blé sans gluten.

Abstract

In a few years, celiac disease has become a public health problem. This autoimmune disease is induced by the ingestion of gluten contained in wheat proteins, rye and barley in genetically predisposed individuals.

Recent studies have provided insight into the mechanism involved in this breach of oral tolerance. Complications are rare, but potentially harmful.

Although the gluten-free diet allows full recovery, its observance is not universal so that other therapeutic strategies are being evaluated.

The purpose of this work is to consider at first prevalence of the celiac disease in msila city, and to present the new strategy used to create new varieties of gluten-free wheat as a solution for Celiac disease.

Key words: Celiac disease, Gluten-free diet, gluten-free wheat.

ملخص

في السنوات الأخيرة، أصبح مرض الزولاق مشكل صحي شاسع، هو مرض مناعي ناتج عن استهلاك المواد التي تحتوي على الذابوق (الغلوتين) لدى الأشخاص ذوي قابلية للإصابة به، يتميز بتنوع الاعراض السريرية. العلاج يستند في الأساس على نظام غذائي خالي من الغلوتين.

والهدف من هذه الدراسة هو تقدير أولا انتشار مرض الزولاق في ولاية المسيلة، وعرض الاستراتيجيات الجديدة المستخدمة في خلق أصناف قمح جديدة خالية من الغلوتين كحل جديد لمرض الاضطرابات الهضمية (الزولاق).

الكلمات المفتاحية: مرض الاضطرابات الهضمية (الزولاق)، نظام غذائي خالي من الغلوتين، قمح خالي من الغلوتين.