

RAPPORTS DE LA MALADIE CŒLIAQUE AVEC L'INGESTION DE GLIADINE

G. BISERTE

Laboratoire de Biochimie pathologique, Faculté de Médecine, Lille.

La maladie cœliaque de l'enfant relève d'une intolérance au gluten de blé (WEIJERS, VAN DE KAMER et DICKE). Cette affection pose un problème qui a des incidences biochimiques précises : le mécanisme de l'intolérance est-il d'origine allergique ou bien résulte-t-il d'un déficit enzymatique ?

La théorie du *déficit enzymatique* peut être défendue en tenant compte des arguments suivants :

D'après FRAZER, l'hydrolysate pepsique et pancréatique de gliadine possède encore un effet toxique. Le traitement de cet hydrolysate par un extrait de muqueuse intestinale de Porc fait disparaître tout effet nocif. Il en serait de même de la muqueuse intestinale de l'enfant normal, tandis que celle de l'enfant cœliaque laisserait subsister des « peptides toxiques ». On sait en effet que la composition en acides aminés des gliadines est très particulière. Dans la gliadine et les sous-fractions de celle-ci, que nous avons isolées et dosées, on peut trouver 36 résidus d'acide glutamique et 20 à 23 résidus de proline pour 100 acides aminés. Statistiquement, on peut prévoir des séquences peptidiques du type glutaminyl-proline ou prolyl-glutamine.

En ce qui concerne le déficit enzymatique, à la suite de SHAW et coll., on avait émis l'hypothèse d'un déficit en prolinase et en prolidase chez l'enfant cœliaque. Par suite de ce déficit, des séquences « toxiques » subsisteraient à la fin de la digestion intestinale. Malheureusement, cette théorie du déficit enzymatique a été sérieusement ébranlée à la suite des travaux très récents de MESSER et ANDERSON. Ces auteurs ont étudié, après biopsie intestinale, la teneur en enzymes de la muqueuse intestinale des enfants cœliaques. Or, les teneurs en leucine-aminopeptidase, en amino-tripeptidase, en glycyl-glycine-dipeptidase, en prolinase et en prolidase sont tout à fait *normales*. Dès lors, il est nécessaire de songer à une autre conception pathogénique. L'hypothèse que nous émettons est donc la suivante : la structure chimique de la gliadine est telle que l'équipement enzymatique de l'enfant normal ou cœliaque laisse subsister quelques séquences ou quelques peptides particuliers. Le trouble digestif au niveau de l'intestin existerait réellement mais ne serait pas particulier aux cœliaques. Le mécanisme intime du déclenchement des diverses manifestations de cœliakie pourrait être d'ordre allergique.

Pour essayer de vérifier cette hypothèse, nous présentons une première série de résultats, qui portent :

1° sur la recherche d'une forme combinée de proline et d'acide glutamique dans le sang et l'urine;

2° sur l'étude de la digestion de la gliadine au moyen d'enzymes cristallisés et dans des conditions expérimentales qui se sont efforcées de reproduire les conditions physiologiques.

A. Recherche d'une forme combinée de glutamine dans le sang.

C'est en partant d'une fausse interprétation d'un dosage non spécifique de glutamine que WEIJERS a émis l'hypothèse de l'existence d'une forme combinée de glutamine dans le sérum des enfants cœliaques soumis à une épreuve à la gliadine.

Ces résultats ont été et sont encore très discutés. Pour essayer de résoudre définitivement ce problème, nous avons donc dosé *tous* les acides aminés du sang d'enfants normaux, d'enfants cœliaques et d'enfants présentant des troubles digestifs banaux.

La fraction « aminoacide » est étudiée avant et après hydrolyse totale, car elle contient non seulement des acides aminés, mais aussi des formes combinées d'acides aminés et des oligopeptides.

Les résultats obtenus peuvent être résumés de la façon suivante :

1) *En ce qui concerne la glutaminémie libre*, les augmentations observées après épreuve à la gliadine sont peu importantes et inconstantes : les réponses positives s'observent aussi bien chez les enfants hypotrophiques ; la spécificité de l'épreuve est donc discutable.

b) *Taux des acides aminés libres après épreuve*. On observe très souvent une augmentation de la plupart des acides aminés deux heures après l'épreuve. Mais dans plusieurs cas, l'augmentation de l'acide glutamique et de la proline est particulièrement significative. Cette augmentation est passagère. D'autre part, l'amino-acidémie de surcharge ainsi provoquée n'est pas caractéristique de l'enfant cœliaque.

c) *Taux des acides aminés après hydrolyse totale chez l'enfant à jeun*. En général, le taux de tous les acides aminés augmente après hydrolyse totale, ce qui traduit l'existence de nombreuses formes combinées. Mais les variations les plus significatives intéressent l'acide aspartique, le glyco-colle et surtout l'acide glutamique et la proline.

Dans le cas de l'acide glutamique, les augmentations s'expliquent partiellement par l'hydrolyse de la glutamine. Mais la somme « acide glutamique libre + acide glutamique de la glutamine » est toujours inférieure à celle de l'acide glutamique total. L'existence d'une forme combinée d'acide glutamique est donc évidente.

De même, toutes nos observations plaident également en faveur de l'existence d'une forme combinée de proline dans les sérums d'enfants à jeun. Ces observations ont été faites dans tous les cas cliniques étudiés.

d) *Taux des acides aminés après hydrolyse totale et après épreuve à la gliadine*. Après l'épreuve à la gliadine, le taux des acides aminés augmente aussi après hydrolyse totale. Mais on retrouve les mêmes caractéristiques, à savoir l'augmentation nette de la proline et de l'acide glutamique, ainsi que de l'acide aspartique et du glyco-colle. Cette constatation est valable pour tous les cas étudiés (enfants cœliaques ou non) : qualitativement, il ne semble pas exister de différence. *En existe-t-il une sur le plan quantitatif?* Dans certains cas, oui, dans d'autres, non. Dans certains cas même, le taux de proline combinée après l'épreuve est plus faible qu'avant.

On conçoit que, dans ces conditions, il soit difficile de conclure à l'existence d'une forme combinée de proline et d'acide glutamique (ou de glutamine) qui soit caractéristique de l'enfant cœliaque.

B. Recherche des peptides toxiques dans les hydrolysats de gliadine.

Nous avons préparé des hydrolysats enzymatiques de gliadine et de gluten par l'action successive de la pepsine à pH 1,8 (rapport enzyme/substrat : 1/200) et de l'association trypsine + chymotrypsine + carboxypeptidase cristallisées à pH 8. Avec ces hydrolysats nous avons effectué 3 séries d'essais : examens radiographiques, tests d'allergie cutanée, études électrochromatographiques.

1° *Examens radiographiques.* — Au cours des examens radiologiques, l'hydrolysats de gluten incorporé à la bouillie barytée produit des modifications fonctionnelles du transit dans tous les cas de cœliakie. Les aspects radiologiques observés sont variables. Mais les aspects de fragmentation et d'accélération du transit sont très fréquemment rencontrés.

Chez les enfants témoins, on n'observe aucune réaction radiologique qui permette d'évoquer le diagnostic de maladie cœliaque. En définitive, il apparaît que cette épreuve, d'une innocuité absolue, soit un élément très précieux pour le diagnostic.

D'autre part, nous avons essayé d'obtenir une régularisation des perturbations radiologiques observées en administrant simultanément un hydrolysats de gliadine et un extrait concentré et lyophilisé contenant tous les enzymes protéolytiques de la muqueuse intestinale de porc. Nous avons alors observé que l'adjonction d'extrait de muqueuse intestinale amenait une correction partielle des signes radiologiques.

2° *Tests d'allergie cutanée.* — Quant à l'étude des tests allergiques cutanés, la conclusion est simple à présenter : les tests effectués soit avec la gliadine, soit avec les hydrolysats sont inutiles, et en tous cas incapables de fournir la preuve d'une sensibilisation allergénique. Mais on sait classiquement que la lecture des tests allergiques est difficile chez le très jeune enfant et que la réponse cutanée est très inconstante au cours de toutes les allergies digestives.

3° *Études électrochromatographiques.* — Nous avons ensuite essayé de fractionner les hydrolysats enzymatiques de gliadine en vue de rechercher des peptides caractéristiques.

Dans les hydrolysats enzymatiques, la libération des acides aminés peut être suivie par une chromatographie bidimensionnelle classique : l'hydrolysats pepsique et pancréatique ne contient pas de proline libre. Celle-ci n'apparaît qu'après l'addition de la leucine-aminopeptidase intestinale. En présence de prolidase, la quantité de proline augmente nettement et plusieurs peptides à proline peuvent encore être mis en évidence.

Quant aux peptides des hydrolysats pepsiques et pancréatiques, ils peuvent être séparés efficacement par des couplages « électrophorèse à pH 3,9 et chromatographie dans le butanol acétique » : 90 peptides au moins peuvent être décelés de cette façon. Il apparaît donc inutile de vouloir repérer un peptide particulier dans un ensemble aussi complexe, d'autant plus que la proline combinée existe dans la plupart des zones de l'électrophorégramme à pH 3,9 et du chromatogramme dans le butanol acétique.

Avec la révélation à l'isatine (spécifique de la proline et des peptides à proline en position N-terminale) trois taches donnent une coloration bleu-vert et occupent une zone voisine de celle de la proline libre. Ces taches correspondent donc à des peptides à proline assez caractéristiques, qui sont difficilement séparables en quantité suffisante par ces seuls couplages électro-chromatographiques.

C. Conclusion.

En conclusion, il semble bien démontré que le système enzymatique de l'enfant cœliaque ne soit pas déficient. Le fait est certain pour les enzymes gastriques et pancréatiques. Il l'est presque certainement pour les enzymes de la muqueuse intestinale, à moins que le déficit ne porte sur un enzyme inconnu de spécificité étroite, plus étroite encore que celle de la prolidase et de la prolinase. Si le déficit enzymatique ne semble pas exister, il n'y a peut-être pas de problème particulier de la digestion chez l'enfant cœliaque. De même que la dégradation du collagène laisse subsister normalement des peptides du type « proline + hydroxyproline », celle de la gliadine laisserait subsister des peptides « proline + glutamine ». L'organisme de certains enfants ne s'accommoderait pas de leur présence.