

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEM



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Et Sciences de la Terre et de l'Univers



Département de BIOLOGIE

Laboratoire de Chimie Analytique et d'Electrochimie

MÉMOIRE

Présenté par

Mlle DIOUANI Youssra

Mlle BOUSSOURI Djawida

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

Option : Biologie moléculaire et cellulaire

Thème

**Analyse de la fréquence allélique des VNTR (-23Hhpl /rs689) du promoteur du gène
d'insuline au cours du diabète type 1**

Soutenu le : 20/06/2024, devant le jury composé de :

Présidente : Dr. DALI YUCEF –SAHI Majda Professeur Université de Tlemcen

Encadrant : Dr. DIB Joanna MCA Université de Tlemcen

Examineur : Dr. AMEUR Djilali MCA Université de Tlemcen

Année universitaire 2023/2024

Remerciement

Louange à Dieu, nous adressons nos remerciements à **ALLAH**, le tout puissant pour la volonté, la santé et la patience qu'Il nous a prodiguées tout le long de ce travail. Qui nous a comblées de sa miséricorde jusqu'à la réalisation de ce modeste mémoire.

On adresse nos sincères remerciements spécialement à notre encadreur Madame **DIB Joanna** pour ses conseils et pour le temps qu'elle a consacré à nous apporter les idées, les outils méthodologiques pour la conduite de cette recherche.

Un grand remerciement à Madame **DALI YUCEF- SAHI Majda**, pour sa disponibilité et ses orientations, ses connaissances qui nous ont permises de mener à bien l'ensemble de nos recherches, et pour l'honneur d'être présidente du jury de ce mémoire.

Aussi un grand remerciement à Monsieur **AMEUR Djilali** pour l'honneur qu'il nous a fait d'accepter d'examiner ce mémoire de Master.

Un grand remerciement à madame **AMRAOUI Nawel** pour sa gentillesse, ces conseils, son aide pour réaliser ce modeste travail.

On remercie également Madame **EL MEZOUAR** la Cheffe de Service Pédiatrie A de CHU Tlemcen, et Monsieur **BENMANSOUR Madani** Docteur de laboratoire Médicale pour son aide.

Un grand remerciement à Madame **ALLAOUI Soria** qui a malgré ses responsabilités, a accepté de nous aider dans ce travail, et a toujours été disponible et patiente tout en nous apportant des précieux conseils.

Nos vifs remerciements vont à **Mr HAREK Yahia**, Directeur du laboratoire de Chimie Analytique et d'Électrochimie, pour nous avoir accueillis au sein de son laboratoire, et son aide pour la réalisation de nos travaux de recherche.

Nos remerciements s'adressent aussi à tous le personnel du Département Des **Sciences De La Nature et de la Vie**. Et à toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Dédicace

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَقُلْ أَعْمَلُوا فَسَيَرَى اللَّهُ عَمَلَكُمْ
وَرَسُولُهُ وَالْمُؤْمِنُونَ وَسَتُرَدُّونَ إِلَىٰ عِلْمِ الْغَيْبِ وَالشَّهَادَةِ
فَيُنبِّئُكُمْ بِمَا كُنْتُمْ تَعْمَلُونَ ﴿١٠٥﴾
صدق الله العظيم

إله لا يطيب الليل إلا بشكره ولا يطيب النهار إلا بطاعته ولا تطيب اللحظات إلا بذكره الله جل جلاله

إلى من بلغ الرسالة وأدى الأمانة ونصح الأمة نبى الرحمة ونور للعالمين سيدنا محمد صلى الله عليه وسلم"

انتهت الرحلة. لم تكن سهلة وليس من المفترض أن تكون كذلك ومهما طالت فستمضي بحلوها ومرها وها أنا الآن
ويعون الله تعالى أتم هذا العمل المتواضع.

وفي اللحظة الأكثر فخرا أهدي عملي هذا إلى من أحمل اسمه بكل افتخار أبي الذي حصد الأشواك عن دربي ليمهد
لي طريق العلم طاب بك العمر يا سيد الرجال وطبت لي عمرا يا أبي الغالي، وستبقى كلماتك نجوم اهتدي بها اليوم
وغدا وإلى الأبد

إلى قدوتي الأولى ومعنى الحب والتفاني أُمِّي إلى بسمه الحياة وسر الوجود إلى من كان دعائها سر نجاحي إلى من
أرشدتني ورافقتني في كل مشاوير حياتي اللهم احفظها ارزقها العفو والعافية أُمِّي الحبيبة

إلى ضلعي الثابت الذي لا يميل يونس وحمزة إلى من رزقت بهم سندا وملاذي الأول والأخير وإلى زوجة أخي أختي
التي لم تلدها أُمِّي دمتي لي رفيقة وسندا.

إلى صديقة المواقف لا السنين شريكة الدرب والطموح البعيد إلى من كانت دوما موضع اتكاء عثرات حياتي
حبيبتي يسرى.

إلى كل الأهل والعائلة الكريمة كل باسمه ومقامه. وبالأخص جداتي رحمة الله عليهم.

وإلى أليفتي ماشا التي رافقتني طيلة هذا العمل

إلى رفاق الخطوة الأولى والخطوة الأخيرة شيماء وفاطمة إلى من كانوا فالسنوات العجاف سحابا ممطرا إلى كل عابر
في حياتي ترك أثرا جميلا.

بوصوري جويده

Dédicace

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

الحمد لله الذي ما اجتزنا دربا ولا تخطينا جهدا إلا بفضلته وإليه ينسب الفضل والكمال

﴿ وَأَخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنْ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ ﴾

بعد مسيرة دراسية دامت سنوات، ها أنا اليوم أقف على عتبة تخرجي اقطف ثمار تعبي وارفع قبعتي بكل فخر،
فالحمد لله حبا وشكرا وامتنانا فما كنت لأفعل هذا لولا فضل الله فالحمد لله على البدء والحمد لله على الختام

أهدي هذا النجاح لنفسني أولاً ثم إلى كل من سعى معي لإتمام هذه المسيرة. دمت لي سنداً لا عمر

إلى من لا ينفصل اسمه عن أسمى، ذلك الرجل العظيم الذي علمني الحياة بأجمل شكل هو ملهمي، صانع قوتي،
صفوة أيامي وسلوة أوقاتي إلى الشموع التي تنير لي الطريق طاب بك العمر يا سيد الرجال وطبت لي عمرا **والذي**
الغالي أطال الله عمرك ورزقك الصحة

إلى الداعمة الأولى بحياتي شكري وامتناني التي جعل الله الجنة تحت أقدامها وسهلت لي الشدائد بدعائها، سر قوتي
ونجاحي ووهج حياتي إلى ملاكي في الحياة إلى من أرشدتني ورافقنتني في كل خطوات حياتي أطال الله عمرك
ورزقك الصحة **أمي الغالية**

إلى قرة عيني من قاموا بتشجيعي دائماً إلى الوصول ومن دعمني بلا حدود وإعطائي بلا مقابل الداعمين الساندين
أحبائي **أخي انس وأخواتي هالة وكوثر**

الشكر لكل أهلي وعائلتي وبالأخص جدي الذي رافقتني دعائه طيلة مسيرتي وأثار طريقي أطال الله عمره ورزقه
الصحة والعافية

إلى رفيقة الروح من أول خطوة إلى آخر خطوة يا من تعبنا سوياً وسهرنا الليالي لإنهاء هذا العمل المميز بتوفيق
الله، صديقتي **حبيبتي أختي ورفيقة دربي جويده**

إلى رفيقات الروح اللواتي شاركوني خطوات هذا الطريق إلى من شجعوني على المثابرة وإكمال المسيرة إلى رفيقات
السنين **شيماء، سهام، ياسمين، فاطمة الزهراء** ممتنة لكم

أخير الشكر موصول لنفسني على الصبر والعزيمة والإصرار، والتي كانت أهلاً للمصاعب ها أنا اختم كل ما مررت
به من فخر ونجاح الحمد لله من قبل ومن بعد، راجية من الله تعالى أن ينفعني بما علمني وأن يعلمني ما أجه لو
يجعله حجة لي لا علي

Liste des Figures

Figure I.1 :	Les défaillances clés dans la progression auto-immune du DT1.....	04
Figure II.2 :	La carte de localisation et des limites de la wilaya de Tlemcen.....	16
Figure II.3 :	Réglage de PH d'EDTA par NAOH.....	19
Figure II.4 :	Préparation de Tris.....	19
Figure II.5 :	L'élimination de surnagent.....	22
Figure II.6 :	Centrifugation à 3000 tours	22
Figure II.7 :	Précipitation d'ADN.....	23
Figure II.8 :	Formation de la méduse d'ADN	24
Figure III.9 :	La présence et l'absence des antécédents familiaux chez les populations entières.....	29
Figure III.10 :	Les antécédents familiaux chez les garçons et les filles.....	30
Figure III.11 :	Les antécédents familiaux chez les tranches d'âges.....	30
Figure III.12:	La présence et l'absence de consanguinité chez la population entière.....	31
Figure III.13 :	La consanguinité chez les garçons et chez les filles.....	31
Figure III.14 :	La consanguinité chez les tranches d'âges.....	32
Figure III.15 :	Répartition des patients en fonction de la glycémie et l'Hb1Ac chez la population entière.....	33
Figure III.16 :	Analyse ROC pour le cholestérol pour la population entière.....	35
Figure III.17 :	Analyse ROC pour le cholestérol pour les filles.....	36
Figure III.18 :	Analyse ROC pour le cholestérol pour l'intervalle [5-10[ans.....	38
Figure III.19 :	Analyse ROC pour le cholestérol pour l'intervalle [10-15[ans.....	39
Figure III.20 :	Analyse ROC pour le non-HDL pour la population entière.....	41
Figure III.21 :	Analyse ROC pour le non-HDL pour les filles.....	41
Figure III.22 :	Analyse ROC pour l'urée pour la population entière.....	45
Figure III.23 :	Analyse ROC pour l'urée pour les filles.	46

Liste des tableaux

Tableau III.1 :	Distribution de la population selon les paramètres anthropométriques et socioéconomiques.....	28
Tableau III.2 :	Les tranches d'âge des patients en fonction du sexe.....	29
Tableau III.3 :	Les valeurs de cholestérol chez la population entière et les deux sexes.....	33
Tableau III.4 :	Le test utilisé pour la Population entière et pour les filles.	34
Tableau III.5 :	Corrélation de Spearman entre l'HbA1c et le cholestérol chez la population entière et chez les filles.....	35
Tableau III.6 :	Les valeurs du cholestérol chez les tranches d'âge.	36
Tableau III.7 :	Le test utilisé pour les intervalles [5-10[ans, et [10-15[ans.	36
Tableau III.8 :	Corrélation de Spearman entre l'HbA1c et le cholestérol chez les tranches d'âge.	38
Tableau III.9 :	Les valeurs du non-HDL chez la population entière et chez les deux sexes.	39
Tableau III.10 :	Le test utilisé pour la Population entière et pour les filles.	40
Tableau III.11 :	Corrélation de Spearman entre l'HbA1c et le non-HDL chez la population entière et chez les filles.....	40
Tableau III.12 :	Les valeurs du non-HDL chez les tranches d'âge.	42
Tableau III.13 :	Le test utilisé pour les intervalles [10-15[ans, et [15-[ans.	42
Tableau III.14 :	Régression logistique entre le cholestérol et le non-HDL.	43
Tableau III.15 :	Les valeurs d'urée chez la population entière et chez les deux sexes.	44
Tableau III.16 :	Le test utilisé pour la Population entière et pour les sexes.	44
Tableau III.17 :	Corrélation de Spearman entre l'HbA1c et l'urée chez la population entière et chez les filles.....	45
Tableau III.18 :	Les valeurs d'urée chez les tranches d'âge.	46
Tableau III.19 :	Le test utilisé pour l'intervalle [0-5[ans.	46
Tableau III.20 :	Corrélation de Spearman entre l'HbA1c et l'urée chez les tranches d'âge.	48

Liste des abréviations

Génétique

ADN	Acide désoxyribonucléique.
ARNm	Acide ribonucléique messenger.
Arntl2	Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator Like 2.
CMH	Complexe majeur histocompatibilité.
CTLA4	Cytotoxic t lymphocyte-associated protein 4.
Cellules β	Cellules béta pancréatiques.
CD4	Cluster de différenciation 4.
CD 8	Cluster de différenciation 8.
DSID	Diabète (sucré) insulino-dépendant.
DT1	Diabète de type 1.
GWAS	Genome-wide association scans.
HLA	Human leukocyte antigen.
INS	Gène d'insuline.
IGF2	Insulin-Like Growth Factor2.
IFN	Interféron.
IL-1	Interleukine 1.
IDDM	Diabète sucré insulino-dépendant.
PTPN22	Protein tyrosine phosphatase non-receptor type 22.
SNP	Polymorphismes de nucléotides simples.
TH	Tyrosine hydroxylase.
TNF	Tumor Necrosis Factor.
3'UTR	Région 3' non traduite.

VNTR Répétitions en tandem à nombre variable.

Biochimique

EDTA Ethylène Diamine Tétra-Acétique.

HbA1c Hémoglobine Glyquée.

HTA Hypertension Artérielle.

IMC Indice de la Masse Corporelle.

LDL Lipoprotéine de basse densité.

Non HDL-C Cholestérol non HDL.

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Chapitre 1: Introduction Générale1

Chapitre 2: Matériel et Méthode15

II.1 Disposition de recherche.....16

II.2 Type et population d'étude.....17

II.2.1 Critères d'inclusion.....17

II.2.2 Critères d'exclusion.....17

II.3 Recueil des données.....17

II.4 Paramètres biochimique.....18

II.4.1 Prélèvement sanguin.....18

II.4.2 Préparation des échantillons.....18

II.4.3 Préparation des Solutions.....18

II.5 Technique utilisée.....20

II.5.1 Extraction d'ADN par méthode de NACL « Salting out »20

II.5.1.1 Principe.....20

II.5.1.2 Protocole.....21

II.5.2 Séquençage.....24

II.5.2.1 Principe.....24

II.5.2.2 Protocole.....24

II.6 Analyse statistique.....26

Chapitre3:Résultats.....27

III.1 Description de la population.....28

III .2 Effet héréditaire sur le déclenchement du diabète de type 129

III .3 Effet de la consanguinité sur le déclenchement du diabète de type 131

III.4 Répartition des patients en fonction de la glycémie et l'Hb1Ac chez population entière.....	33
III. 5 Analyse du cholestérol.....	33
III. 6 Analyse du non-HDL.....	39
III. 7 Analyse de la Régression logistique binaire entre cholestérol et non-HDL.....	43
III. 8 Analyse d'urée.....	44
<i>Chapitre 4: Discussion</i>	49
<i>Conclusion</i>	57
<i>Références Bibliographiques</i>	59
<i>ANNEXES</i>	69
<i>Résumé</i>	75

Chapitre 1

« Introduction Générale »

Le nombre de cas de diabète de type 1 augmente dans le monde entier chaque année. Le DT1 est généralement diagnostiqué chez les enfants et les adolescents avec la moitié des nouveaux cas survenant avant l'âge de 15 ans (**D. Caroline & al, 2019**). Il faut faire pareil pour le reste. On observe également une tendance à développer le DT1 avant l'âge de 5 ans. La maladie a une cause multifactorielle et polygénique. Le risque de DT1 dans la population générale est de 0,5 %, mais il est multiplié par 10 lorsque l'un des parents sont également atteints de la maladie (**D. Caroline & al, 2019**).

Le diabète implique de nombreux gènes, et en ce sens les études de GWAS (genome-wide association scans) sont bien adaptées pour essayer d'identifier les gènes impliqués dans sa mise en place (**L. Basile, 2015**). Notamment HLA, Arntl2, CTLA4, PTPN22, et INS-VNTR dans plusieurs groupes ethniques, sont probablement liés à différents antécédents génétiques et facteurs environnementaux (**M. Bjørnvold & al, 2008**).

Le risque de développer le diabète de type 1 est plus élevé chez les jumeaux dizygotes (10 à 20 %) que chez les frères et sœurs non jumeaux ayant des gènes HLA similaires (6%). Cette observation suggère l'influence possible de l'environnement utérin dans le déclenchement de la maladie. De plus, le risque chez les jumeaux monozygotes dépasse les 50 %, ce qui soulève la surprise que le deuxième jumeau puisse être diagnostiqué des décennies après le premier (**B. Lyes, 2021**).

Le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) représente environ 40 à 50 % des agrégations familiales du DT1. Ainsi, le CMH humain est également appelé

complexe HLA. Les molécules HLA de classe I présentent des antigènes endogènes et les molécules de classe II présentent des antigènes exogènes aux cellules T (**A. Janelle & M. Ana 2011**). Cette partie du génome est située sur bras court du chromosome 6 et joue un rôle central dans la réponse immunitaire (**J.C. Philips & al, 2012**). Les lymphocytes T CD8 sont prédominants dans l'îlot pancréatique. Le recrutement des lymphocytes T CD8 est étroitement lié à la destruction irréversible des cellules β . Ces lymphocytes T CD8 disparaissent lorsque toutes les cellules β sont détruites (**S. Yannick, 2013**). Le diabète est ainsi causé par un déséquilibre entre les cellules T régulatrices (Treg) et les cellules effectrices (**B. Christian, 2017**).

Les lymphocytes T, qu'ils soient CD4+ ou CD8+, les lymphocytes B, les macrophages et les cellules dendritiques jouent un rôle crucial dans le déclenchement de la maladie ainsi que dans la destruction des cellules β du pancréas (**M. victoria, 2022**).

Les lymphocytes T cytotoxiques libèrent des protéines, notamment la perforine et les sérines estérases, qui pénètrent dans la cellule cible et entraînent son apoptose. Un autre mécanisme décrit implique l'interaction entre le ligand Fas exprimé par les cellules T activées et Fas (CD95) exprimé par les cellules β lorsqu'elles sont exposées à certaines cytokines telles que l'IFN, le TNF et l'IL-1 (**M. Victoria, 2022**).

Les différentes étapes de la réaction auto-immune sont décrites, marquant une rupture de la tolérance immunitaire envers les antigènes du soi, caractérisant ainsi une maladie auto-immune. Trois défaillances contribuent à la pathogenèse du diabète de type 1 (*voir Figure 1*).

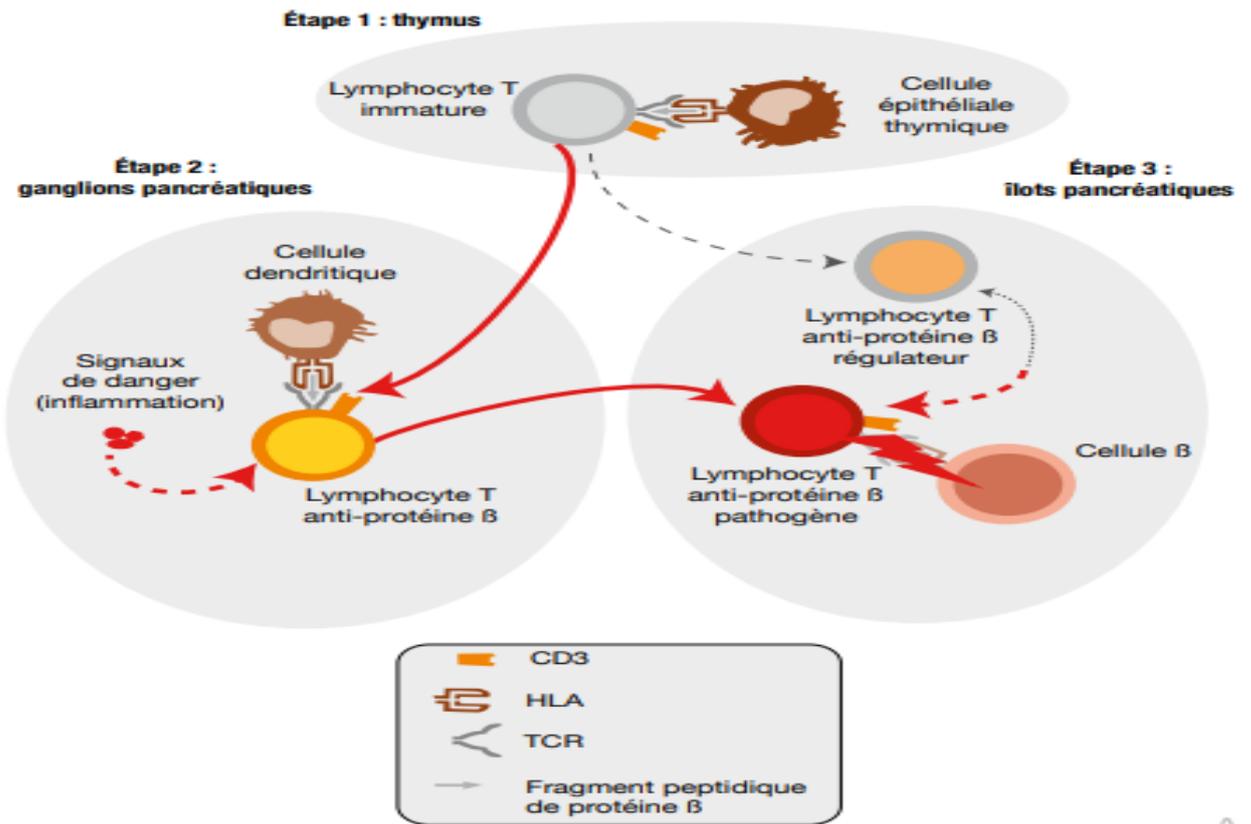


Figure I.1: Les défaillances clés dans la progression auto-immune du DT1 (flèches rouges) (R. Mallone, 2017).

Initialement, dans le thymus, les lymphocytes T immatures sont exposés aux cellules thymiques qui leur présentent divers antigènes du soi. Les lymphocytes T capables de reconnaître leurs auto-antigènes sont éliminés par apoptose, étant considérés comme dangereux. Cependant, certains lymphocytes échappent à ce processus et circulent dans le corps, pouvant être activés ultérieurement pour déclencher une auto-immunité. Ensuite, au niveau des ganglions pancréatiques et dans un contexte inflammatoire, la reconnaissance des cellules β conduit à la différenciation des lymphocytes T en phénotypes effecteurs pathogènes. Enfin, dans les îlots pancréatiques,

les lymphocytes T pathogènes prennent le dessus sur les lymphocytes régulateurs, initiant ainsi la destruction des cellules β (**R. Mallone, 2017**).

Les répétitions en tandem à nombre variable (VNTR) sont une région régulatrice du gène de l'insuline contrôlant l'expression de l'insuline au niveau thymique (**T. Lemoine, 2020**). Il s'agit de séquences génomiques identiques ou hautement similaires répétées en tandem (c'est-à-dire sans espace entre les répétitions) (**M. Mansouri & al, 2018**) et situées au niveau de l'extrémité 5' du gène de l'insuline en dehors des séquences codantes.

On peut distinguer trois principales classes de VNTR en fonction de leur taille :

- ✓ La classe I avec 26 à 63 répétitions.
- ✓ La classe II avec environ 80 répétitions.
- ✓ La classe III avec 140 à 200 répétitions.

Les polymorphismes du gène de l'insuline sont en déséquilibre de liaison avec la région VNTR, offrant ainsi la possibilité de les utiliser comme marqueurs de ces variantes génétiques (**M. Azza & al, 2019**).

La modification épigénétique d'un VNTR pourrait avoir des conséquences significatives sur tous les mécanismes de régulation dirigés par le VNTR à la fois sur la réponse immédiate à la signalisation cellulaire et sur les propriétés à moyen et long terme du VNTR pour moduler la fonction des gènes (**M. JackNG & al, 2021**).

Le gène de l'insuline (INS) contient un VNTR sous la forme d'une unité répétitive de 14 paires de bases dans sa région de contrôle. Il a été noté une association entre la

longueur de ce VNTR et la susceptibilité au diabète insulino-dépendant (IDDM). Des analyses ultérieures ont révélé que l'INS VNTR influence l'expression du transcrit de l'insuline dans le thymus fœtal, Allèles INS avec un VNTR de classe III (140 à 200 répétitions) expriment l'insuline de manière plus abondante que ceux avec un VNTR de classe I (26 à 63 répétitions). Une expression accrue de l'insuline dans le thymus favorise la sélection négative des lymphocytes T spécifiques de l'insuline, jouant un rôle crucial dans la pathogenèse du diabète sucré insulino-dépendant (DSID) (**R. Mallone, 2017**).

Le locus de susceptibilité INS VNTR, une région régulatrice du gène de l'insuline, contrôle l'expression de l'insuline au niveau thymique. Les allèles de prédisposition entraînent une expression réduite d'insuline dans le thymus, ce qui entraîne une élimination moins efficace des lymphocytes T anti-insuline et leur présence accrue dans la circulation (**R. Mallone, 2017**). De plus, On découvre que l'effet spécifique de l'allèle VNTR de l'insuline L'IDDM dépendait de l'identité de l'allèle paternel non traduit (**N. Yusuke, 1998**).

Le gène INS de l'insuline est positionné entre les gènes IGF2 (facteur de croissance similaire à l'insuline 2) et TH (tyrosine hydroxylase) (**A. M. Lucassen & al, 1993**). Ce gène se compose de 3 exons et 2 introns. L'exon 2 encode la chaîne B de l'insuline, Une partie du peptide C et le peptide signal nécessaire pour le ciblage de la protéine dans le réticulum endoplasmique (RE), Où elle subit des processus de clivage et de modification de la conformation. L'exon 3 code pour l'autre partie du peptide C et la chaîne A de l'insuline (**J. Stoy & al, 2010**).

Introduction générale

L'examen des VNTR a révélé que les variations génétiques pré-disposantes affectent la région promotrice du gène de classe I. Chez les patients porteurs du VNTR de classe I, il a été observé une diminution de l'expression de l'insuline dans le thymus **(S. Yannick, 2013)**.

L'INS VNTR est localisé en amont de l'INS et de l'IGF2. L'IGF-II similaire à l'IGF-1 à hauteur de 67 % est produit par le gène IGF2 sur 11p15-5, faisant partie d'un ensemble de gènes associés à la croissance. Principalement fabriqué dans le foie chez l'adulte, l'IGF-II est aussi synthétisé par divers tissus et ensuite libéré dans le liquide péri-cellulaire. Un fragment appelé "preptine" composé de 34 acides aminés dans les cellules β est sécrété avec l'insuline agissant comme un stimulateur naturel de la sécrétion d'insuline **(L. Callum & al, 2014)**.

Des études *in vitro* ont montré que le VNTR a des influences régulatrices sur l'expression des deux gènes. Les haplotypes VNTR de l'insuline et de l'IGF-II paternels et maternels n'ont pas les mêmes rôles durant la période de la vie fœtale **(B. Pierre, 2002)**.

La proximité physique des mini-satellites peut influencer l'expression d'IGF2 et INS. IGF2 code pour un important mitogène omniprésent pendant le développement fœtal. L'IGF-II favorise la survie cellulaire en inhibant l'apoptose et possède une activité immuno-modulatrice démontrée dans divers modèles, y compris par les lymphocytes T **(V. Paquette & al, 1998)**.

Dans la plupart des tissus, IGF2 n'est exprimé que par la copie héritée du père. L'allèle transmis de la mère est transcriptionnellement silencieuse. Par conséquent, Seuls les allèles VNTR paternels peuvent agir sur l'expression de l'IGF 2. L'IGF-II est un peptide mitogène exprimé de manière ubiquitaire qui a d'importantes actions de signalisation autocrine/paracrine (**V. A.F. Petroset & al, 1998**).

Dans le pancréas, Les allèles associés à une plus forte expression d'IGF2 peuvent renforcer la signalisation paracrine vers les cellules T et ainsi favoriser la progression de l'attaque immunitaire contre les cellules. Les allèles qui augmentent l'expression de l'IGF2 dans le thymus augmenteraient donc la probabilité que les thymocytes potentiellement auto-réactifs atteignent la maturité. Par ailleurs, Il a été proposé que l'IGF-II thymique puisse agir comme un peptide de sélection contre les cellules T réactives à l'insuline, Etant donné sa forte homologie avec la pro-insuline (**V.A. F. Petros & al, 1998**).

Les variations nucléotidiques dans la séquence VNTR peuvent influencer la transcription de l'INS et sont liées à la capacité de former des structures d'ADN, A la fois à l'inter et à l'intra-niveau moléculaire (**P. Alberto, 2005**).

Le risque accru de diabète de type 1 associé aux allèles de classe I a été attribué à une expression réduite de l'ARNm de l'insuline thymique fœtale conduisant à une perte de tolérance immunitaire à l'insuline. Contrairement à ces études dans le thymus, Dans les lignées de cellules pancréatiques transfectées et dans le pancréas fœtal, les allèles de classe I sont associés à une expression accrue de l'ARNm de l'insuline. Le

polymorphisme au niveau du mini-satellite INS VNTR peut modifier un site de liaison d'un promoteur de transcription, et il a été rapporté que la transfection d'allèles de classe I influence l'épissage alternatif de l'intron 1 de l'INS, ce qui entraîne des transcrits d'ARNm plus longs et matures et des taux de pro-insuline plus élevés. Chez l'adulte, les allèles de classe I sont associés à la pulsativité de la sécrétion d'insuline des cellules β (**H. Barbara & al, 2006**).

Le polymorphisme -23HphI (rs689) est un polymorphisme mono- nucléotidique (SNP) et un substitut presque parfait à l'INS VNTR car l'A l'allèle de -23HphI est en déséquilibre de liaison avec le VNTR court de classe I, Et l'allèle T de -23HphI est en déséquilibre de liaison avec le VNTR classe III plus longue. De plus, l'allèle C de -2221MspI est en liaison déséquilibrée avec le VNTR classe I et sous-classe IIIB, Alors que l'allèle T représente la sous-classe IIIA (**N. Zhang & al, 2015**).

L'un d'entre eux est un polymorphisme A/T, Qui peut être identifié par l'enzyme de restriction HphI et qui est situé 23 nucléotides en amont du codon d'initiation de la traduction du gène de l'insuline. Dans la population caucasienne, Les allèles A ou T de -23 HphI peuvent être utilisés comme marqueurs génétiques de substitution pour les allèles VNTR de classe I et III respectivement (**K. Mohammad & al, 2017**).

Certaines preuves suggèrent que les allèles de classe III du VNTR augmentent les niveaux d'expression de l'insuline dans le thymus, Améliorant ainsi la sélection négative des lymphocytes T auto-réactifs à l'insuline. Cela entraîne une augmentation du nombre de cellules T régulatrices reconnaissant l'insuline, Induisant ainsi une tolérance

immunitaire envers les antigènes codés par INS, Ce qui est associé à un risque moindre de réponse auto-immune contre les cellules B pancréatiques (**N. Zhang & al, 2015**).

En d'autres termes, Les individus porteurs de l'allèle T de -23HphI ou l'allèle T de -2221MspI peuvent présenter un risque réduit de DT1. Cependant, bien que de nombreux gènes candidats associés à des cas de DT1 ont été rapportés (**N. Zhang & al, 2015**).

De plus, le rs689 est associé à l'âge au DT1 diagnostic avec homozygotie pour le DT1 allèle T protecteur, retardant l'apparition du DT1 d'environ 2 ans. Il a été indiqué concerne l'analyse du gène INS, Qu'il a son effet sur l'âge au moment du diagnostic. Le polymorphisme rs689 est associé aux auto-anticorps anti-insuline. Ces auto-anticorps sont rarement trouvés dans le DT1 à début plus avancé, Les cas sont souvent observés. Dans le consortium de génétique du diabète de type 1 (T1DGC), Les familles de paires fraternelles affectées (ASP) présentant une homozygotie pour l'allèle protecteur T à rs689 montrent un retard diagnostique du DT1 (**R. Oindrila & al, 2011**).

Un risque accru de 2,44 fois associé à l'INS rs689 Allèle T. Les porteurs de l'allèle T associée au 223HphI courent un risque 2,56 fois plus élevé de développer un T1DM. L'allèle A du polymorphisme -23HphI est l'allèle de risque et le T allèle protecteur (**M. Azza & al, 2019**). Les fréquences génétique -HphI (+) et -PstI (+) sont des haplotypes protecteurs de classe III du VNTR. Il existe des résultats concernant l'association entre *INS* VNTR et le poids de naissance. L'association entre le *INS* VNTR II- HphI (+) et le poids de naissance indépendamment du diabète pourrait être en rapport

avec l’empreinte parentale paternelle au locus IGF2 impliqué dans la croissance fœtale et proche du gène de l’insuline (**I. Fajardy & al, 2008**).

Le bilan initial du diabète de type 1 chez l’enfant est effectué à l’hôpital dans un service en pédiatrie. L’acquisition des connaissances de base est réalisée par des structures éducatives spécialisées pédiatriques ou encore par des associations de patients. Il est important qu’au cours des 6 premiers mois, L’enfant puisse apprendre à vivre avec son diabète. Il est également indispensable d’informer et former l’entourage de l’enfant diabétique (**la Haute Autorité de Santé, 2007**).

Le bilan initial de l’enfant diabétique comprend un bilan sanguin associant un bilan glucidique, un bilan lipidique, ainsi qu’un bilan de la fonction rénale (sanguin, urinaire) (**M. Victoria, 2022**).

Le bilan glucidique

✚ Le taux d’HbA1c est corrélé au taux moyen de glycémie et est fonction de la durée pendant laquelle l’Hb1Ac est exposée à ce taux de glucose. En occurrence, Cette durée va dépendre de la durée de vie moyenne des globules rouges qui est d’environ 120 jours (3-4 mois), Mais la décroissance n’est pas linéaire avec une demi-vie d’environ 27 jours. La glycémie moyenne sur le dernier mois détermine 50% de l’HbA1c qui est surtout le reflet de la glycémie des six à huit dernières semaines (2 mois) (**R. Little & al, 2002**).

L’exposition des protéines du corps humain au glucose entraîne une réaction chimique appelée glycation. La glycation est une réaction non enzymatique au

cours de laquelle le glucose se lie aux protéines de manière irréversible. Il existe une relation quantitative entre le niveau d'exposition au glucose et le degré de glycation. L'exposition au glucose dépend principalement de la glycémie et de la durée d'exposition à une glycémie donnée. Dans le cas de l'hémoglobine, Cette durée dépend de la durée de vie des globules rouges (E.S. Kilpatrick, 2000).

Le bilan lipidique

✚ Dans le diabète de type 1 (DT1), plusieurs anomalies lipidiques potentiellement athérogènes sont observées. Les patients DT1 présentent des anomalies lipidiques quantitatives en cas de mauvais contrôle glycémique ou de néphropathie diabétique, caractérisées par une augmentation des triglycérides et du LDL-cholestérol, ainsi qu'une diminution du HDL-cholestérol. De plus, des anomalies lipidiques qualitatives délétères sont observées chez les patients DT1, même en cas de contrôle glycémique satisfaisant. Parmi ces anomalies, on retrouve un rapport cholestérol/triglycérides accru dans les VLDL et diminué dans les LDL et HDL, une glycation des apolipo-protéines, une augmentation des LDL oxydées et des LDL petites et denses. Ces anomalies qualitatives des lipoprotéines sont susceptibles de perturber leur métabolisme et leurs fonctions. Ainsi, chez les patients DT1, les VLDL et LDL sont plus facilement captés par les macrophages, tandis que les HDL présentent une diminution de leur qualité anti-oxydante et vaso-relaxante. Ces anomalies qualitatives ne sont pas entièrement expliquées par

l'hyperglycémie et pourraient être en partie liées à l'hyper-insulinémie périphérique due à l'administration sous-cutanée de l'insuline (**B. Vergès, 2013**).

Le bilan rénal

- ✚ La néphropathie diabétique représente la principale cause de syndrome néphrotique chez l'adulte et de maladie rénale terminale aux États-Unis. Sa prévalence chez les patients diabétiques de type 1 atteint environ 40%. Les patients sont surveillés par des analyses d'urine pour détecter la présence de protéinurie. Si la protéinurie est présente, le dosage de la micro-albuminurie n'est pas nécessaire, car le patient présente déjà une macro-albuminurie, évocatrice d'une néphropathie diabétique. En l'absence de protéinurie à l'analyse d'urine, un rapport albumine/créatinine doit être calculé à partir d'un échantillon d'urine prélevé en milieu de matinée (**F.O.Brien, 2023**).

Nous nous proposons dans cette modeste contribution de :

- ✚ Mettre à jour les aspects anthropométriques, Epidémiologiques et physiopathologiques du DT1, Chez les enfants de la ville de Tlemcen.
- ✚ Analyser la fréquence allélique des VNTR (-23Hhpl /rs689) du promoteur du gène d'insuline au cours du diabète de type 1 chez les enfants de la ville de Tlemcen.

- ✚ Apporter des réponses quant à l'éventuel impact du polymorphisme des VNTR (-23Hhpl /rs689) du promoteur du gène d'insuline sur le risque de survenue du diabète de type1 chez les enfants de la ville de Tlemcen.

Chapitre 2

« Matériel et Méthode »

II.1 Disposition de recherche

II.2 Type et Population d'étude

II.2.1 Critères d'inclusion

II.2.2 Critères d'exclusion

II.3 Recueil des données

II.4 Paramètres biochimique

II.4.1 Prélèvement sanguin

II.4.2 Préparation des échantillons

II.4.3 Préparation des Solutions

II.5 Technique utilisée

II.5.1 Extraction

II.5.1.1 Principe

II.5.1.2 Protocole

II.5.2 Séquençage

II.5.2.1 Principe

II.5.2.2 Protocole

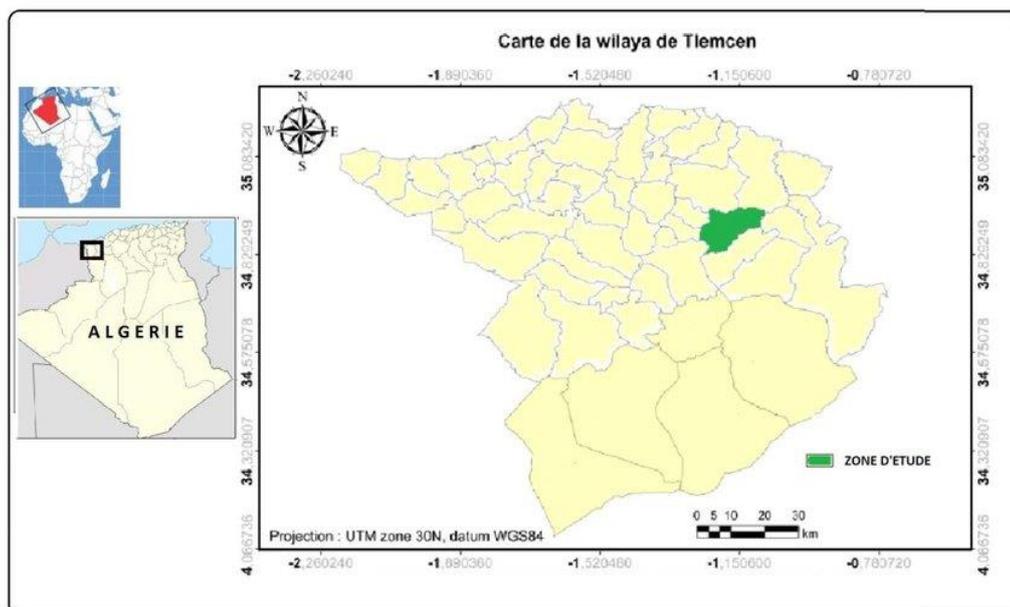
II.6 Analyse statistique

II.1 Disposition de recherche

La wilaya de Tlemcen couvre une superficie totale de 9017,69 km² et détient une position géographique stratégique au sein du territoire national. Elle est à la fois frontalière et côtière avec une façade maritime de 73 km. Le Chef-lieu de la wilaya est située à 432 km à l'Ouest de la capitale, Alger.

Elle partage ses frontières :

- Au nord, avec la mer Méditerranée.
- Au nord-est, avec la wilaya d'Ain T'émouchent.
- À l'est, avec la wilaya de Sidi Bel Abbas.
- Au sud, avec la wilaya de Naâma.



(https://www.researchgate.net/figure/Figure-n1-Carte-de-situation-de-la-zone-d-etude-22-Description-du-milieu-La-zone_fig1_321887911)

Figure II.2 : La carte de localisation et des limites de la wilaya de Tlemcen

II.2 Type et population d'étude

C'est une étude épidémiologique de type cas-témoins, De population composée d'enfants recrutés entre le 26 février et le 26 mars 2024 au service pédiatrie (EHS) de CHU de Tlemcen. En tout, Un échantillon de 153 sujets a été formé avec 59 sujets diabétiques et 94 témoins sains, Composé de 77 filles et 76 garçons âgés de 1ans à 16 ans. Le rapport était consenti par ses parents.

II.2.1 Critères d'inclusion

Les critères d'inclusion étaient :

Cette étude réalisée sur un échantillon d'enfants diabétique du type 1 des deux sexes (fille/garçon) entre 1ans et 16 ans.

II.2.2 Critères d'exclusion

Les enfants exclus de cette étude sont :

- Les enfants qui présentent une difficulté de prélèvement.
- Les enfants qui présentent d'autres complications.

II.3 Recueil des données

Cette étude se concentre sur les enfants admis pour diabète de type 1 à l'unité de pédiatrie (EHS) de l'hôpital de Tlemcen, Ainsi que sur un groupe témoin d'enfants. Toutes les participantes ont été pleinement informées des objectifs et du déroulement de l'étude, Et leur consentement a été recueilli préalablement. Ensuite, Un questionnaire a été administré aux parents des enfants afin de collecter des données détaillées.

Le questionnaire (annexe 1) a consisté en :

- ❖ La détermination des données sociodémographique (l'âge, le sexe).

- ❖ La détermination des données anthropométriques (la taille, le poids de la naissance, Toure de crane et Maturité osseuse).
- ❖ Le type d'allaitement (maternel, artificiel et mixte).
- ❖ Le degré de consanguinité.
- ❖ Antécédents familiaux de diabète type 1 et type 2.
- ❖ D'autres maladies.
- ❖ Des bilans (lipidiques, rénaux, glucidiques et hématologiques).

II.4 Paramètres biochimique

II.4.1 Prélèvement sanguin

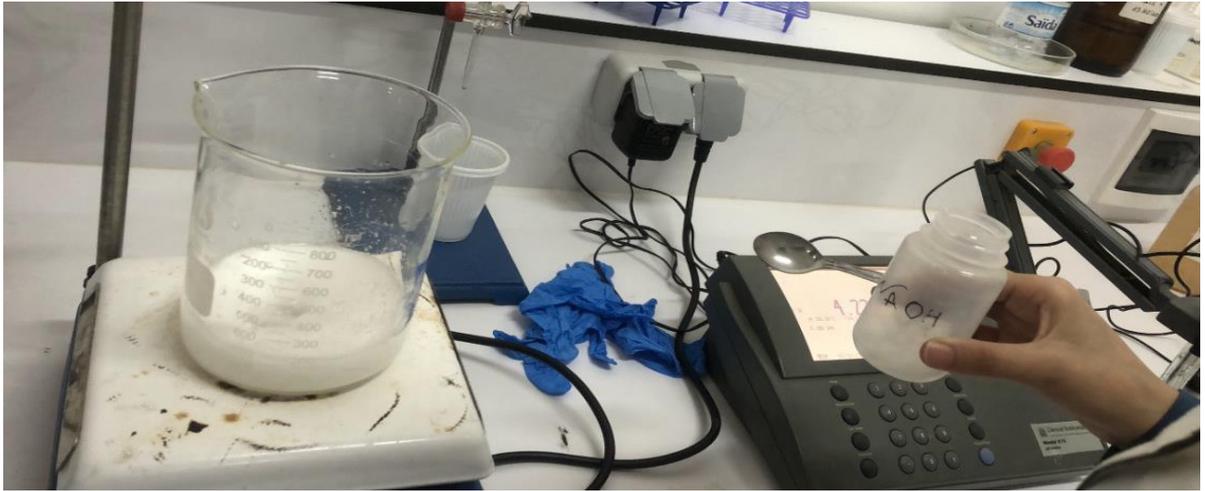
La prise de sang est effectuée sur 12 sujets à jeun (diabétiques et sains) retenus pour notre recherche, Le sang est prélevé selon l'âge et l'état de santé d'enfants est mis dans des tubes EDTA anticoagulant de (2-4 ml) et a été conservé.

II.4.2 Préparation des échantillons

- Le sang est conservé par congélation à -86 c° dans des tubes EDTA bien numérotés.
- Le sang a été décongelé à 37 c° .
- Extraction.

II.4.3 Préparation des Solutions

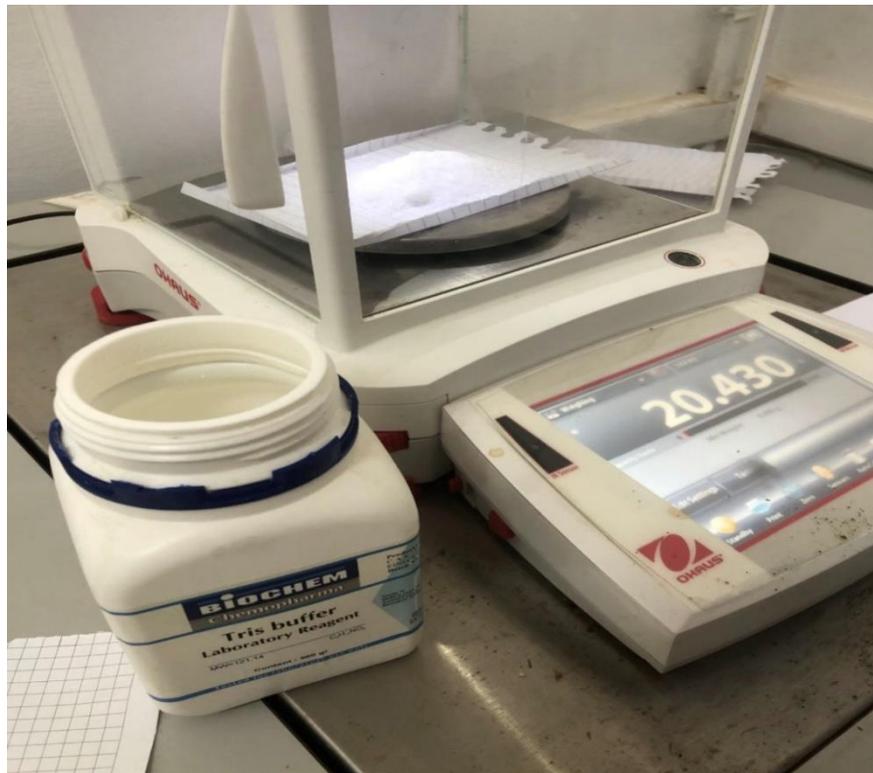
Préparation d'EDTA Dissoudre 46,53 g d'EDTA dans 125 ml d'eau distillée puis ajuster jusqu'au 250 ml, Et avec du NaOH règle qui règle le PH à 8.



Source : Prise par les étudiantes

Figure II.3 : Réglage de PH d'EDTA par NAOH

Préparation de Tris Dissoudre 60,57g de tris dans 400ml d'eau distillée puis ajuster jusqu'au 500ml, Et avec du HCl qui règle le PH 8.



Source : Prise par les étudiantes

Figure II.4 : Préparation de Tris

Chapitre 2 : Matériel et Méthode

Préparation de SDS Dissoudre 10 g de SDS dans 75 ml d'eau distillée, Puis ajuster jusqu'au 100 ml.

Préparation de NaCl Dissoudre 146,125 g de NaCl dans 250 ml d'eau distillée, Puis ajuster jusqu'au 500 ml.

Préparation de 200ml de solution de lyse des globules blancs (SLB) Ajouter 2 ml de tris-HCl (1M, pH=8), puis 40 ml d'EDTA (0.5M, pH=8), et 10 ml de SDS (%10), compléter avec 200ml d'eau distillée.

II.5 Technique utilisée

II.5.1 Extraction d'ADN par méthode de NaCl « Salting out »(annexe 2)

II.5.1.1 Principe

L'extraction et la purification des acides nucléiques et plus précisément d'ADN sont les premières étapes dans la plupart des études de biologie moléculaire et dans toutes les techniques d'ADN recombinant. Afin d'obtenir des molécules d'ADN hautement purifiés exempts de tout contaminant visibles, des méthodes d'extraction adéquates devraient être appliquées (M. ZIANI, 2021).

Les méthodes d'extraction des acides nucléiques peuvent se classer en trois principales classes en fonction du principe auquel elles font appel (T. Bienvenu & al, 1999) :

- ✓ Les méthodes utilisant des solvants organiques.
- ✓ Les méthodes utilisant des solvants non-organiques.
- ✓ Les méthodes basées sur l'utilisation de micro-colonnes de résines échangeuses d'ions.

II.5.1.2 Protocole

✓ **Solutions utilisées**

- TE 10/10 (Tris/EDTA à PH =8).
- TE 10/1 (Tris /EDTA à PH=8).
- TBE (Tris /EDTA/SDS) solution de lyse des globules blanches.
- Nacl à 5M.
- Ethanol absolu.
- Ethanol à 70%.

✓ **Etapes de l'extraction** Plusieurs étapes sont effectuées pour extraire l'ADN :

- Lyse des cellules (GR/GB).
- Elimination des protéines.
- Précipitation à l'alcool.
- Extraction.

1- La lyse des globules rouges

- Décongeler 10 à 30 ml de sang à 37°C.
- Compléter le tube avec du TE 10/10 jusqu'à 45 ml, agiter doucement et mettre dans la glace pendant 30 mn.
- Centrifuger à 2500 tours pendant 15 mn.
- Eliminer le surnageant.
- Ajouter 15 ml de TE 10/10, un retournement du tube suffit pour resuspendre le culot, puis compléter à 45 ml de TE 10/10.
- Mettre dans la glace pendant 10 mn et centrifuger à 3000 tours pendant 15 mn. Reprendre cette étape jusqu'à l'obtention d'un culot blanchâtre (culot de globules blancs).



Source : Prise par les étudiantes

Figure II. 5 : L'élimination de surnageant



Source : Prise par les étudiantes

Figure II.6 : Centrifugation à 3000 tours

2-La lyse des globules blancs et élimination des protéines

- Au culot de lymphocytes, ajouter 5 ml de solution de lyse des globules blancs et 125 μ l de protéinase K à 20 mg/ml et homogénéiser le culot.
- Incuber à 37°C toute la nuit dans un bain marie, sous agitation douce.

3- Précipitation de l'ADN

- Ajouter 2 ml de NaCl, agiter vigoureusement et centrifuger à 4000 tours/mn pendant 10 mn.
- Récupérer le surnageant dans un autre tube, ajouter 2 volumes d'éthanol absolu froid, laisser précipiter l'ADN par retournement du tube (formation de la méduse).
- Récupérer la méduse par une pipette pasteur scellée, la rincer une fois à l'éthanol à 70%, la placer dans un tube eppendorf et la laisser sécher à l'air libre.
- Dissoudre la méduse dans 200-500 μ l de TE 10/1.
- Pour une totale dissolution, laisser les tubes sur agitation lente à température ambiante pendant au moins 24 heures.



Source : Prise par les étudiantes

Figure II. 7 : Précipitation d'ADN



Source : Prise par les étudiantes

Figure II.8 : Formation de la méduse d'ADN

Dans Notre étude nous avons préparé 44 tubes pour la récupération de la méduse d'ADN.

II.5.2 Séquençage (annexe 3)

II.5.2.1 Principe

Le principe de cette méthode de séquençage est de lire l'ADN par petits fragments. À partir d'une amorce qui se fixe sur l'ADN à séquencer des brins d'ADN complémentaires sont fabriqués (polymérisation par PCR). Les arrêts aléatoires de la polymérisation à différents endroits de la séquence d'ADN permettent ensuite de lire cette séquence nucléotide par nucléotide.

II.5.2.2 Protocole

PCR (Polymerase Chain Reaction) Réaction de polymérisation en chaîne. Cette technique permet de copier rapidement des séquences précises d'ADN en de très nombreux exemplaires. Ces copies se font à partir d'une amorce d'ADN simple brin

Chapitre 2 : Matériel et Méthode

complémentaire d'une petite zone de l'ADN à séquencer et grâce à une enzyme d'ADN polymérase et des nucléotides A, T, C, G.

Le génome humain Pour séquencer le génome humain, les 3,2 milliards de paires de bases qu'il contient ont été découpées en fragments d'environ 500 à 800 paires de base.

Après avoir séquencé chaque fragment, le travail a consisté à les ordonner. Le Consortium international pour le séquençage du génome humain a réuni 20 centres de séquençage dans six pays pendant plus de 10 ans (de 1990 à 2003).

Lire l'ADN (le séquençage) L'ADN est formé de brins complémentaires composés de 4 bases différentes : A, T, C et G. Séquencer un fragment d'ADN consiste à déterminer l'ordre des bases A, T, C, et G qui le constituent.

Ingrédients de la réaction Principe de séquençage de l'ADN par la méthode de Sanger (1977) modernisée :

- Échantillon d'ADN avec la portion à séquencer de 100 à 1000 paires de bases.
- Nucléotides (A, T, C, G).
- Polymérase.
- Amorce.

En plus de la PCR Les di-désoxynucléotides (bases-stop) qui empêcheront l'addition d'autres bases une fois incorporés. Ils sont marqués par un agent fluorescent, Une couleur différente pour chaque base.

Réaction de polymérisation Si une base-stop est insérée la synthèse du fragment est interrompue. À la fin des cycles le mélange contient donc des fragments de tailles différentes.

Electrophorèse Migration des fragments en fonction de leur taille. Pour connaître le nom de la base-stop : Détection de fluorescence (si jaune, Ou d'autre fluorescent).

II.6. Analyse statistique

L'analyse statistique est effectuée à l'aide du programme Microsoft Excel 2016 pour bien organiser et traiter les informations. Les variables qualitatives sont présentées par l'effectif suivi du pourcentage, Ainsi que les variables quantitatives qui sont présentées par la moyenne \pm écart-type.

Toutes les analyses (test du khi deux, test t à deux échantillons, Mann–Whitney U, ANOVA, corrélation de Spearman, régression logistique binaire, les courbes ROC) ont été effectuées à l'aide d'IBM SPSS Statistics version 26.

Le degré de signification P-value permet de fixer à « $P < 0,05$ » :

-  Significative si $P < 0,05$.
-  Hautement significative si $P < 0,01$.
-  Très hautement significative si $P < 0,001$.
-  Non significative si $P > 0,05$.

Chapitre 3

« Résultats »

III.1 Description de la population.

III.2 Effet héréditaire sur le déclenchement du diabète de type 1.

III.3 Effet de la consanguinité sur le déclenchement du diabète de type 1.

III.4 Répartition des patients en fonction de la glycémie et l'Hb1Ac chez population entière.

III.5 Analyse de cholestérol.

III.6 Analyse du non -HDL.

III.7 Analyse de la Régression logistique binaire entre cholestérol et non-HDL.

III.8 Analyse d'urée.

III.1 Description de la population

Notre étude vise la vérification de l'association de certains paramètres anthropométriques à savoir l'âge, le sexe et le statut pondéral ainsi que le HBA1C avec les tranches d'âge dans la population de mineur atteint du DT1 de l'Ouest Algérien durant l'hiver de l'année de 2024. Notre étude a concerné 153 individus dont 77 filles et 76 garçons, cette étude est réalisée au sein de laboratoire de Chimie Analytique et d'Electrochimie à l'université de Tlemcen.

Le tableau 1 présente les caractéristiques de la population étudiée selon le sexe et les tranches d'âge :

Tableau III.1 : Distribution de la population selon les paramètres anthropométriques et socioéconomiques.

Paramètres anthropométriques		Effectif		Pourcentage (%)		Pourcentage total (%)
		Cas	Témoins	Cas	Témoins	
Sexe	<i>Garçon</i>	34	42	44.73	55.26	49.67
	<i>Fille</i>	24	53	31.16	68.83	50.33
Tranche d'âge	<i>[0-5[ans</i>	15	25	37.5	62.5	26.14
	<i>[5-10[ans</i>	18	30	27.08	62.5	31.37
	<i>[10-15[ans</i>	9	20	31.03	68.96	32.68
	<i>[15-[ans</i>	3	8	27.27	72.72	9.81
Statut Pondéral	<i>Normo-pondéral</i>	60		39.22		
	<i>Surpoids</i>	73		47.71		
	<i>Obèse</i>	20		13.07		

On remarque un équilibre entre les filles et les garçons de notre population avec des pourcentages de 50.33% et 49.67% respectivement. La moyenne d'âge de nos patients est de $8,35 \pm 4,37$, celles des filles est de $8,90 \pm 4,53$ et celle des garçons

7,88 \pm 4,30. Plus de 47.71% sont en surpoids. Alors que 39.22% sont normaux et 13.07% sont des obèses. Les résultats obtenus indiquent que parmi les patients étudiés, 47.71% présentent un surpoids ≥ 25 Kg/m².

Tableau III .2 : Les tranches d'âge des patients en fonction du sexe.

<i>Les Tranches d'âge</i>	<i>Effectifs</i>	<i>Pourcentage (%)</i>
<i>Intervalle[0-5[ans</i>	40	26.14
<i>Filles</i>	17	42.5
<i>Garçons</i>	23	57.5
<i>Intervalle[5-10[ans</i>	48	31.37
<i>Filles</i>	24	50
<i>Garçons</i>	24	50
<i>Intervalle[10-15[ans</i>	46	30.06
<i>Filles</i>	29	63.04
<i>Garçons</i>	17	36.95
<i>Intervalle[15-[ans</i>	11	7.18
<i>Filles</i>	7	63.64
<i>Garçons</i>	4	36.36

D'après le tableau 2, les patients sont classés selon 4 tranches d'âge d'amplitude d'ordre 5. Les deux tranches d'âge [0-5[ans et [5-10[ans regroupent la plupart des sujets atteints du DT1 (26.14% et 31.37% respectivement, 42% et 50% respectivement pour les filles, et 57.5% et 50% respectivement pour les garçons).

III .2 Effet héréditaire sur le déclenchement du diabète de type 1

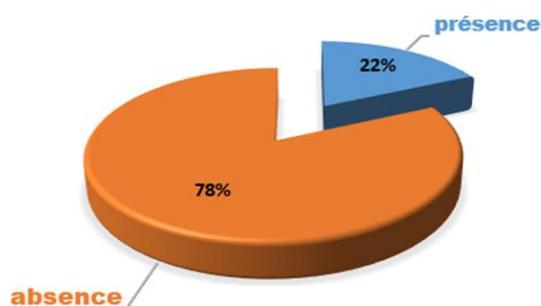


Figure III.9 : La présence et l'absence des antécédents familiaux chez les populations entières.

Chapitre 3 : Résultats

Dans cette enquête, 22% (ce qui correspond à 13 cas) de la population générale atteinte du DT1, possède des antécédents familiaux (*Figure III .3*).

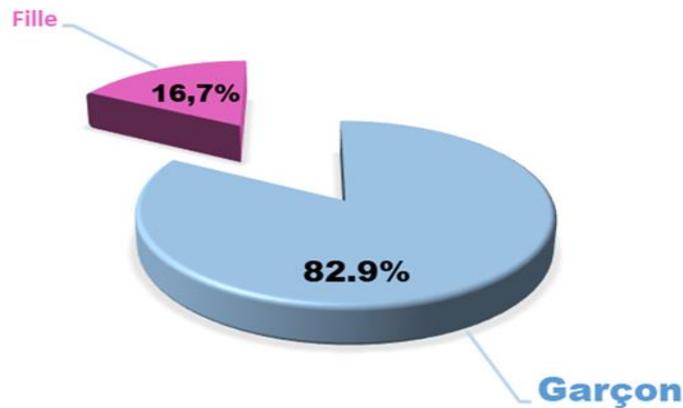


Figure III.10 : Les antécédents familiaux chez les garçons et les filles.

Chez la population féminine malade seulement 16.7% (ce qui correspond à 4 cas) présente des antécédents familiaux, et 82.9% (ce qui correspond à 34 cas) chez la population masculine malade présente des antécédents familiaux (*Figure III .4*).

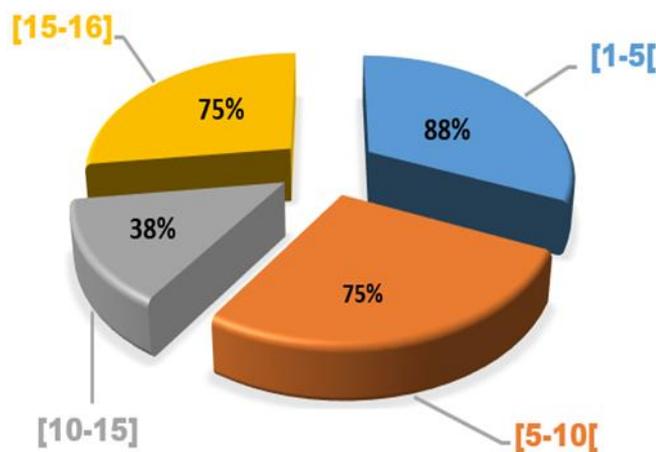


Figure III. 11 : Les antécédents familiaux chez les tranches d'âges.

On observe également que 88% (ce qui correspond à 2 cas) présentent des antécédents familiaux chez la tranche d'âge [0-5[ans, 75% (ce qui correspond à 22 cas), alors qu'il existe une présence d'antécédents familiaux de 38 % (ce qui correspond à 8

cas) pour la tranche d'âge [10-15[ans et enfin 75% (ce qui correspond à 6 cas) pour la dernière tranche d'âge observée [15-[ans (*Figure III .5*).

III .3 Effet de la consanguinité sur le déclenchement du diabète de type 1

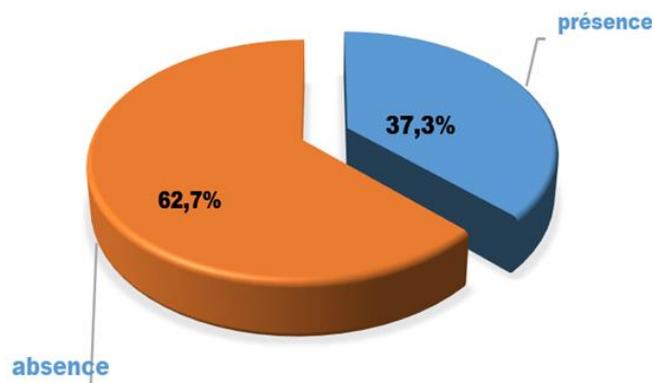


Figure III .12 : La présence et l'absence de la consanguinité chez la population entière.

Dans cette enquête, 37,3% (ce qui correspond à 22 cas) de la population générale atteinte du DT1 possède une consanguinité ,et 62,7% possède une absence de consanguinité (*Figure III .6*).

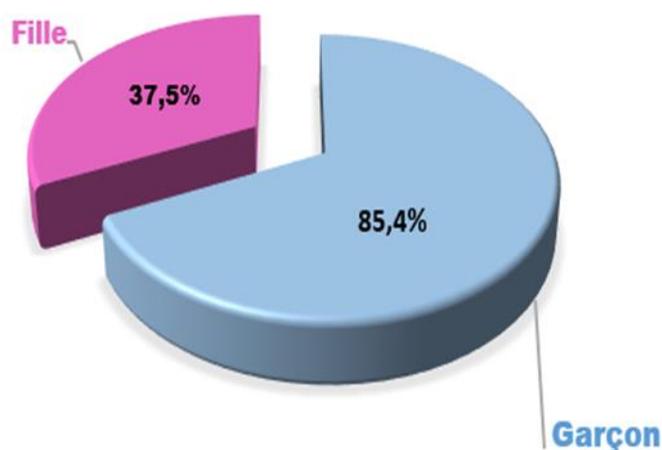


Figure III .13 : La consanguinité chez les garçons et les filles.

Chez la population féminine malade seulement 37,5% (ce qui correspond à 9 cas) présente une consanguinité alors que 85,4% (ce qui correspond à 35 cas) chez la population masculine malade présente une consanguinité (*Figure III .7*).

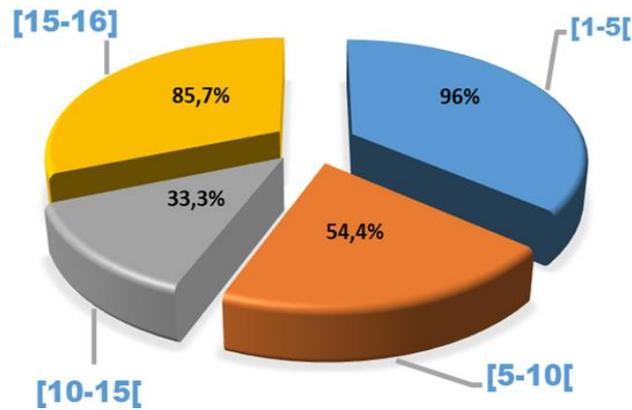


Figure III .14 : La consanguinité chez les tranches d'âges.

On observe également que 96% (ce qui correspond à 24 cas) présentent une consanguinité chez la tranche d'âge [0-5[ans, et 54,4% (ce qui correspond à 6 cas) pour les enfants de 5 ans à 10 ans, alors qu'il existe une présence de consanguinité de 33,3% (ce qui correspond à 7 cas) pour la tranche d'âge [10-15[ans et enfin 85,7% (ce qui correspond à 6 cas) pour la dernière tranche d'âge observée [15-[ans (*Figure III .8*).

III.4 Répartition des patients en fonction de la glycémie et l'Hb1Ac chez population entière.

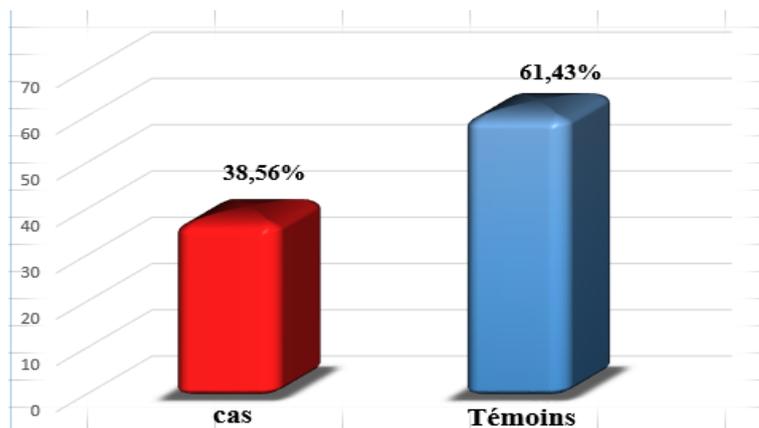


Figure III .15 : Répartition des patients en fonction de la glycémie et l'Hb1Ac chez la population entière.

Nos résultats démontrent une corrélation significative entre les niveaux d'HbA1c (9.31 ± 1.78 vs 5.35 ± 0.58 , $P=0.000$) et de glycémie (2.40 ± 0.726 vs 0.927 ± 0.19 , $P=0.000$) chez les cas (38.56%) par rapport aux témoins (61.43%) présentant des niveaux normaux d'HbA1c et de glycémie. Cette observation suggère une association étroite entre ces paramètres métaboliques et la présence de la condition étudiée.

III. 5 Analyse du cholestérol

Tableau III. 3 : Les valeurs de Cholestérol chez la population entière et les deux sexes.

Cholestérol	Moyenne		Variance		Ecart-type		Médiane	Q1	Q3
	Cas	Témoins	Cas	Témoins	Cas	Témoins			
Population entière	1.890	2.590	1.400	117.300	1.180	10.830	1.39	1.00	1.94
Filles	1.782	2.590	1.400	117.300	1.180	10.830	1.29	0.82	1.65
Garçons	1.981	4.283	1.591	266.652	1.261	16.329	1.54	1.10	2.04

- Norme de référence : <2.0 g/L

Tableau III. 4 : le test utilisé pour la Population entière et pour les filles.

<i>Cholestérol</i>	<i>P-value</i>	<i>Type du test</i>
<i>Population entière</i>	0.001	Khi deux
<i>Filles</i>	0.004	Khi deux

Nos résultats ont montré une concentration significativement inférieure du cholestérol chez les cas que chez les témoins ($1,890 \pm 1,180$ vs $2,590 \pm 10,830$, $p=0,001$). Egalement, des résultats significatifs supérieurs chez les témoins que chez les cas chez les filles ($1,782 \pm 1,180$ vs $2,590 \pm 10,830$, $p=0,004$) sont observés contrairement aux résultats observés chez les garçons avec une moyenne nettement plus élevée chez les témoins que chez les cas ($1,981 \pm 1,261$ vs $4,283 \pm 16,329$).

Bien que les niveaux du cholestérol soient généralement inférieurs chez les individus atteints de diabète de type 1 par rapport aux témoins, ces variations ne sont pas toujours statistiquement significatives chez les garçons atteints du diabète du type 1. Il est essentiel de considérer l'impact du diabète de type 1 sur le métabolisme lipidique et de procéder à des surveillances régulières.

Chapitre 3 : Résultats

Tableau III.5 : Corrélation de Spearman entre l'HbA1c et Cholestérol chez la population entière et les filles.

Population entière	Cholestérol	Coefficient de corrélation	-0,038
Filles	Cholestérol	Coefficient de corrélation	-0,038

*La corrélation est significative au niveau 0.05 (bilatéral).

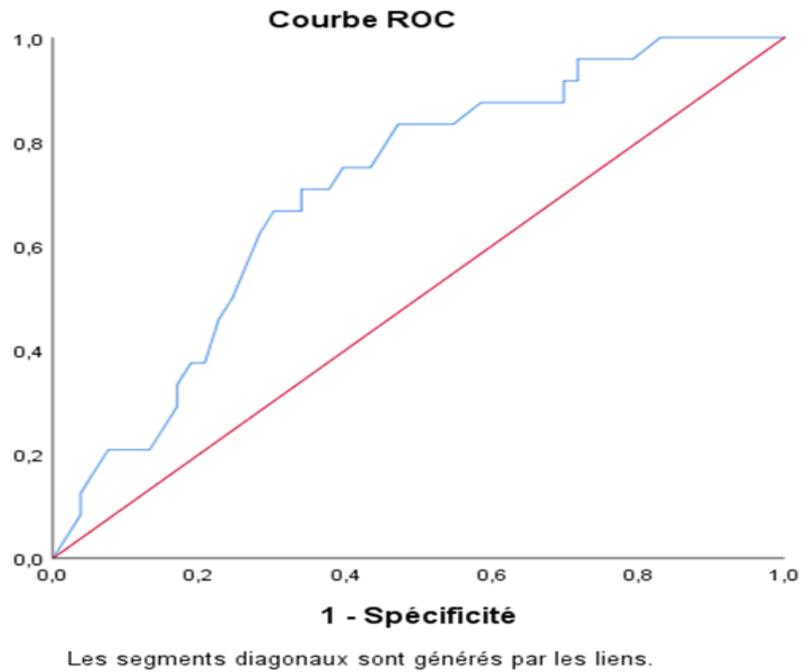


Figure III .16 : Analyse ROC pour le cholestérol pour la population entière.

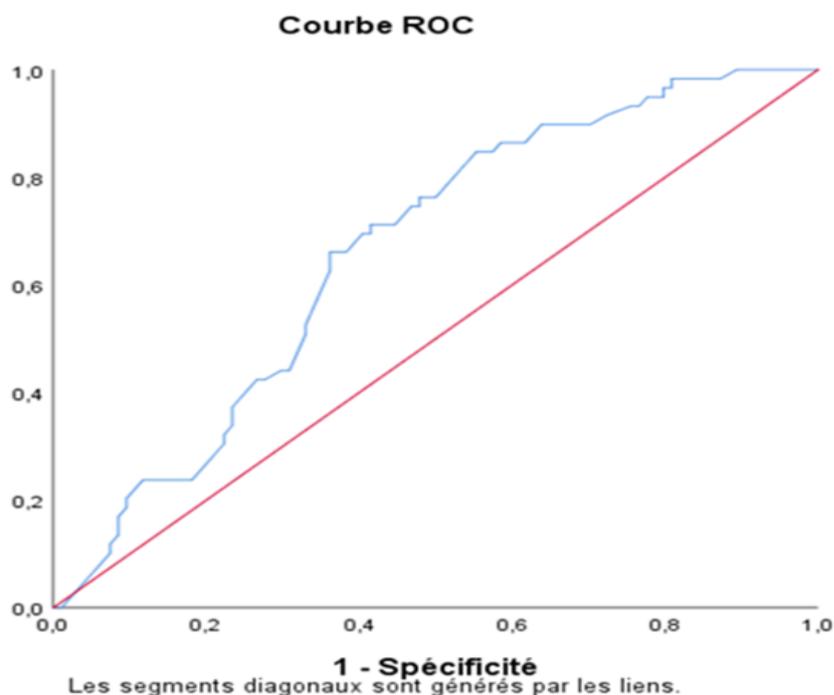


Figure III .17 : Analyse ROC pour le cholestérol pour les filles.

Tableau III .6 : Les valeurs du cholestérol chez les tranches d'âge.

Cholestérol	Moyenne		Variance		Ecart-type		Médiane	Q1	Q3
	Cas	Témoins	Cas	Témoins	Cas	Témoins			
Intervalle [0-5[ans	1.699	1.821	1.146	1.496	1.070	1.223	1.21	1.02	1.63
Intervalle [5-10[ans	2.025	1.961	0.804	0.862	0.896	0.928	1.39	1.00	1.72
Intervalle [10-15[ans	2.069	1.976	1.619	0.800	1.272	0.894	1.50	1.01	1.94
Intervalle [15-[ans	3,070	1,253	6,640	0,595	2,580	0,771	1.05	0.90	2.22

- Norme de référence : <2.0 g/L

Tableau III .7 : Le test utilisé pour les intervalles [5-10[ans, et [10-15[ans.

Cholestérol	P-value	Test
Intervalle [5-10[ans	0.046	T-Test
Intervalle [10-15[ans	0,069	Khi deux

Chapitre 3 : Résultats

Cependant, on observe une concentration significativement supérieure chez les cas que chez les témoins pour la tranche d'âge [5-10[ans ($2,025 \pm 0,896$ vs $1,961 \pm 0,928$, $p=0,046$) et une concentration à la limite de la signification pour les mineurs ayant un âge compris entre 10 et 15 ans ($2,069 \pm 1,272$ vs $1,976 \pm 0,894$, $p=0,069$). Les enfants de cette tranche d'âge atteints de DT1 ont des concentrations de cholestérol significativement plus élevées que les témoins.

Cependant, malgré que les concentrations du cholestérol soient globalement inférieures chez les enfants atteints de diabète de type 1 appartenant à la tranche d'âge [0-5[ans d'une part et que les concentrations de cholestérol soient largement supérieures chez les mineurs atteints de diabète de type 1 appartenant à la tranche d'âge [10- 15[ans d'autre part, par rapport à celles des témoins, ces différences ne sont pas toujours statistiquement significatives.

En outre, les résultats montrent aussi que les patients atteints de DT1 ont des concentrations de cholestérol qui ont tendance à se manifester à partir de l'âge de 5 ans. Cette différence est particulièrement marquée chez les adolescents appartenant à la tranche d'âge spécifique [10- 15[ans.

On remarque de plus que pour la tranche d'âge [1-5[ans, les concentrations de cholestérol chez les patients sont inférieures ($1,699 \pm 1,070$ vs $1,827 \pm 1,223$) aux normes de référence contrairement aux tranches d'âge [5-10[ans, [10-15[ans, et [15-[ans ($2,025 \pm 0,896$ vs $1,967 \pm 0,928$, $2,069 \pm 1,272$ vs $1,976 \pm 0,894$ et $3,070 \pm 2,580$ vs $1,253 \pm 0,771$). Ce qui nous mène à conclure que les patients atteints du DTI dont l'âge est inférieur à 5ans présentent des concentrations de cholestérol presque que normales, cependant avec l'âge ces concentrations ont tendance à augmenter.

Les résultats révèlent que les enfants souffrant de DT1 présentent des concentrations de cholestérol nettement plus élevées que les témoins, une disparité qui se

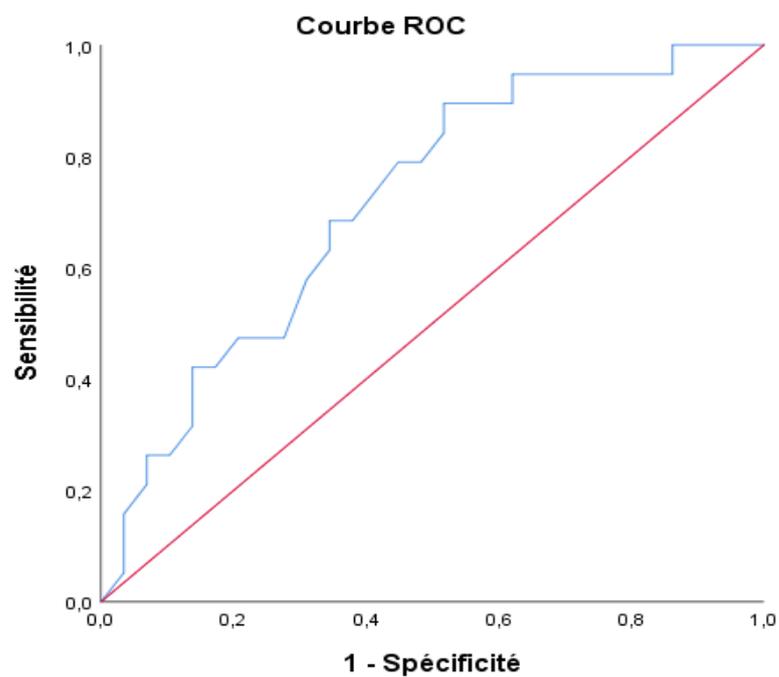
Chapitre 3 : Résultats

révèle globalement très significative. Cette disparité est particulièrement prononcée chez les garçons et dans certaines tranches d'âge spécifiques, notamment les enfants de [5-10[ans, [10-15[ans, et [15-[ans.

Tableau III .8 : Corrélation de Spearman entre l'HbA1c et le cholestérol chez les tranches d'âge.

<i>Intervalle [0-5[ans</i>	<i>Cholestérol</i>	Coefficient de corrélation	-0,083
<i>Intervalle [5-10[ans</i>	<i>Cholestérol</i>	Coefficient de corrélation	-0,083
<i>Intervalle [10-15[ans</i>	<i>Cholestérol</i>	Coefficient de corrélation	-0,094

*La corrélation est significative au niveau 0.05 (bilatéral).



Les segments diagonaux sont générés par les liens.

Figure III .18 : Analyse ROC pour le cholestérol pour l'intervalle [5-10[ans.

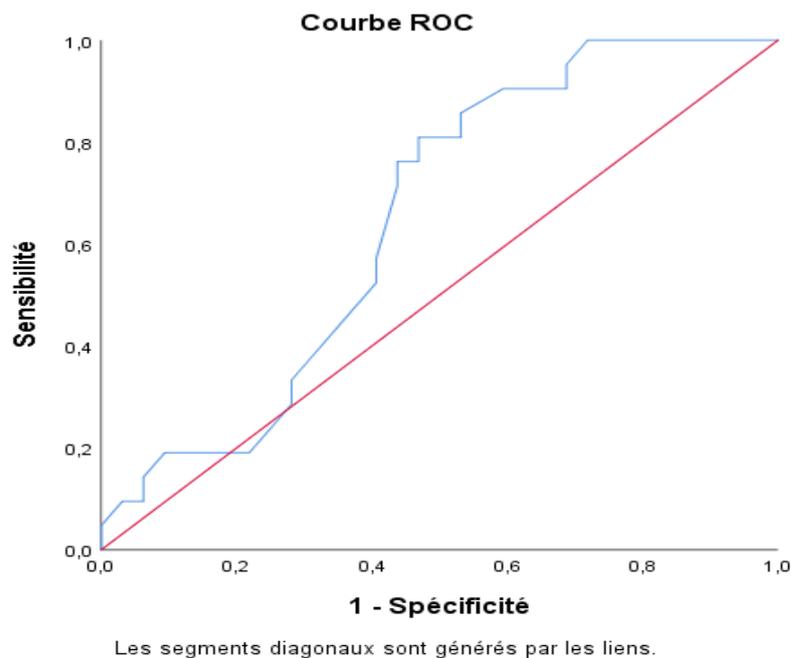


Figure III .19 : Analyse ROC pour cholestérol pour l'intervalle [10-15[ans.

III. 6 Analyse du non-HDL

Tableau III .9 : Les valeurs du non-HDL chez la population entière et chez les deux Sexes

NON-HDL	Moyenne		Variance		Ecart-type		Médiane	Q1	Q3
	Cas	Témoins	Cas	Témoins	Cas	Témoins			
Population entière	1,301	0.894	1,066	0.597	1.032	0.772	0.89	0.48	1.24
Filles	1.395	0.905	1.226	0.644	1.107	0.802	0,89	0.48	1.24
Garçons	1.240	1.028	1.192	0.756	1.091	0.869	0.91	0.51	1.33

- Norme de référence : <1.3 g/L

Tableau III .10 : Le test utilisé pour la Population entière et pour les filles.

<i>NON-HDL</i>	<i>P-value</i>	<i>Test</i>
<i>Population entière</i>	0.001	T-Test
<i>Filles</i>	0,001	Khi deux

Nos résultats ont montré une concentration significativement supérieure du non-HDL

chez les cas que chez les témoins (1,301±1.032 vs 0,894± 0,772, p=0,001). Egalement, des

résultats significatifs supérieurs chez les cas que chez les témoins chez les filles (1.395± 1.107

vs 0.905± 0.802, p=0,001) aussi on a observés chez les garçons une moyenne un peu plus élevée chez les cas que chez les témoins (1.240±1.091 vs 1.028±0.869).

Bien que les niveaux du non-HDL soient généralement supérieurs chez les individus

atteints de diabète de type 1 par rapport aux témoins.

Tableau III .11 : Corrélation de Spearman entre l'HbA1c et le non-HDL chez la population entière et chez les filles.

<i>Population entière</i>	<i>Non-HDL</i>	Coefficient de corrélation	-0,082
<i>Filles</i>	<i>Non- HDL</i>	Coefficient de corrélation	-0,118

*La corrélation est significative au niveau 0.05 (bilatéral).

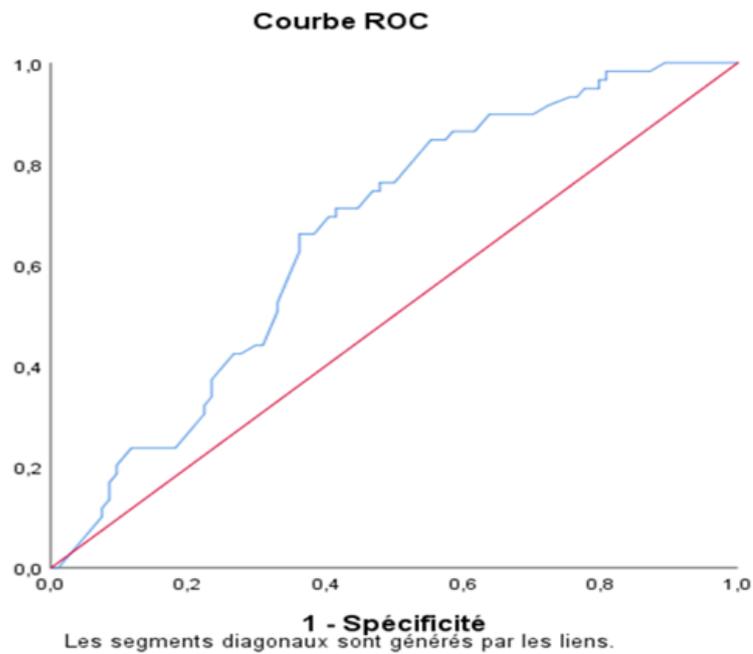


Figure III.20 : Analyse ROC pour le non-HDL pour la population entière.

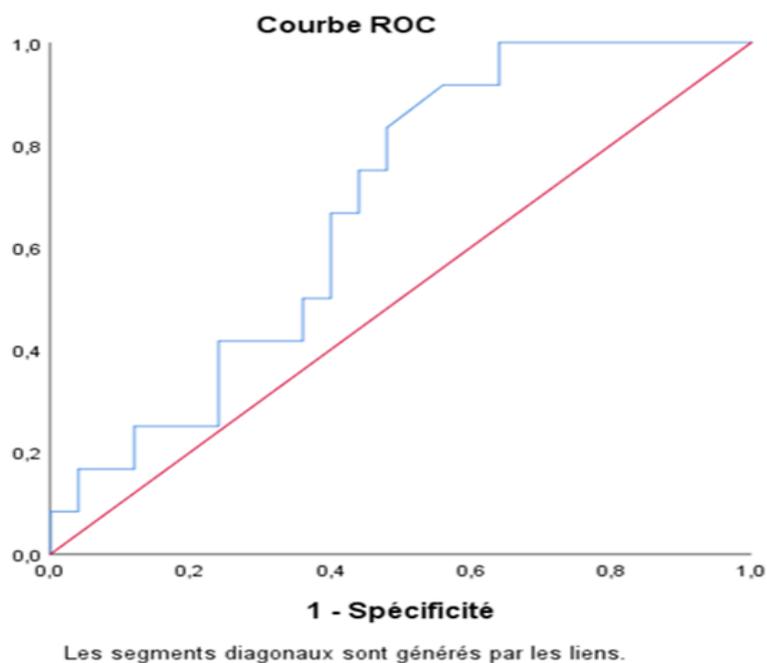


Figure III.21 : Analyse ROC pour le non-HDL pour les filles.

Tableau III .12 : Les valeurs du non-HDL chez les tranches d'âge.

<i>Non-HDL</i>	<i>Moyenne</i>		<i>Variance</i>		<i>Ecart-type</i>		<i>Médiane</i>	<i>Q1</i>	<i>Q3</i>
	<i>Cas</i>	<i>Témoins</i>	<i>Cas</i>	<i>Témoins</i>	<i>Cas</i>	<i>Témoins</i>			
<i>Intervalle [0-5[ans</i>	1.364	0.886	2.236	0.815	1.495	0.902	0.65	0.36	1.517
<i>Intervalle [5-10[ans</i>	1.446	1.496	0.994	1.053	0.996	1.026	1.06	0.557	1.24
<i>Intervalle [10-15[ans</i>	1.232	0.872	0.904	0.516	0.951	0.718	0,90	0.53	1.15
<i>Intervalle [15-[ans</i>	1,470	0,650	0,423	0,329	0,634	0,573	0,71	0.19	1.82

- Norme de référence : <1.3 g/L

Tableau III .13 : Le test utilisé pour les intervalles [10-15[ans, et [15-[ans.

<i>NON-HDL</i>	<i>P-value</i>	<i>Test</i>
<i>Intervalle [10-15[ans</i>	0,084	Khi deux
<i>Intervalle [15-[ans</i>	0,071	Khi deux

En même temps, on remarque que Les cas ont des concentrations du non- HDL plus élevé que les témoins pour la tranche d'âge [0-5[ans (1.364 ± 1.495 vs 0.886 ± 0.902), Les enfants de cette tranche d'âge [5-10[ans (1.446 ± 0.996 vs 1.496 ± 1.026) atteints de DT1 ont des concentrations du non-HDL significativement plus élevées que les témoins et bien que les non-HDL soient plus élevés chez les cas, la différence n'est pas statistiquement significative. Et pour la tranche [10-15[ans (1.232 ± 0.951 vs 0.872 ± 0.718) Les adolescents atteints de DT1 ont des concentrations du non-HDL significativement plus élevées que les témoins, alors pour les enfants [15-[ans ont concentration significativement supérieur chez les cas que chez les témoins ($1,470 \pm 0,634$ vs $0,650 \pm 0,573$).

Alors, Les résultats montrent que les patients atteints de DT1 ont des concentrations de non-HDL significativement plus élevées par rapport aux témoins, une différence globalement très significative. Cette différence est particulièrement marquée chez les filles et les garçons, et dans certaines tranches d'âge spécifiques (0-5 ans, 5-10 ans, et 10-15 ans).

III. 7 Analyse de la Régression logistique binaire entre cholestérol et non-HDL.

Tableau III. 14 : Régression logistique entre cholestérol et non-HDL.

	<i>Ddl</i>	<i>P-value</i>
<i>Cholestérol</i>	1	0,017
<i>Non-HDL</i>	1	0,041

Les résultats montrent une régression logistique significative entre le cholestérol et le non-HDL, ce qui suggère l'existence d'une relation entre ces variables. Cette constatation implique que les niveaux de cholestérol et de non-HDL exercent une influence sur dt1. Ces observations mettent en lumière le fait que les niveaux de cholestérol et de non-HDL peuvent constituer des facteurs cruciaux à prendre en compte lors de l'analyse de cette variable dépendant.

III. 8 Analyse d'urée

Tableau III.15: Les valeurs d'urée chez la population entière et chez les deux sexes.

L'urée	Moyenne		Variance		Ecart-type		Médiane	Q1	Q3
	Cas	Témoins	Cas	Témoins	Cas	Témoins			
Population entière	0,866	0.601	11,013	6.953	3,381	2.636	0.27	0.22	0.37
Filles	1.561	0.802	26.241	12.171	5.112	3.488	0.26	0.22	0.37
Garçons	0,391	0,343	0,077	0,070	0,276	0,236	0,27	0,23	0,37

- Norme de référence : 0.13-0.43 g/L

Tableau III .16 : Le test utilisé pour la Population entière et pour les deux sexes.

L'urée	P-value	Test
Population entières	0.013	T-Test
Filles	0.009	Khi deux
Garçons	0.091	T-Test

Nos résultats ont montré une concentration significativement supérieur d'urée chez les cas que chez les témoins ($0,866 \pm 3,381$ vs $0,601 \pm 2,636$; $p=0.013$). Egalement, des résultats pareils significatifs supérieurs chez les cas que chez les témoins chez les filles (1.561 ± 5.112 vs 0.802 ± 3.488 ; $p=0.009$) sont observés contrairement aux résultats observés chez les garçons avec une moyenne équilibrée chez les témoins et les cas (0.391 ± 0.276 vs 0.343 ± 0.236 ; $p=0.091$).

Bien que les niveaux d'urée soient généralement supérieurs chez les individus atteints de diabète de type 1 par rapport aux témoins, ces variations ne sont pas toujours statistiquement significatives chez les filles atteintes du diabète du type 1. Il est essentiel de considérer l'impact du diabète de type 1 sur le profil rénal.

Tableau III.17 : Corrélation de Spearman entre l'HbA1c et l'urée chez population entière et les filles.

<i>Population entière</i>	<i>L'urée</i>	<i>Coefficient de corrélation</i>	-0,068
<i>Filles</i>	<i>L'urée</i>	<i>Coefficient de corrélation</i>	-0,233

*La corrélation est significative au niveau 0.05 (bilatéral).

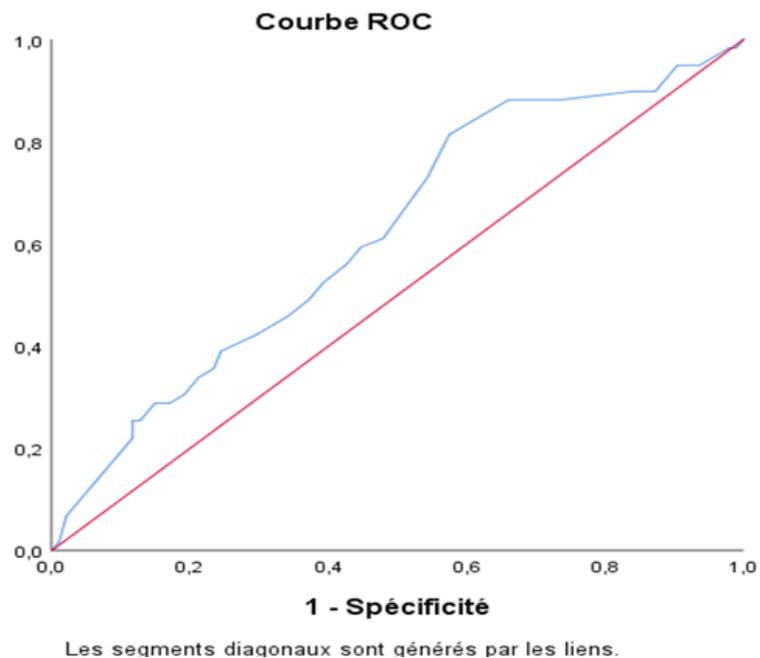


Figure III.22 : Analyse ROC pour l'urée pour la population entière.

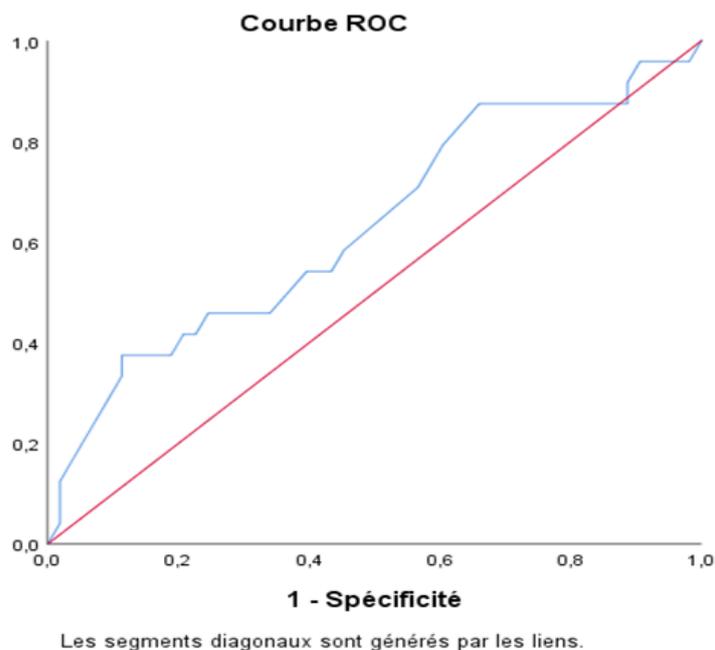


Figure III.23 : Analyse ROC pour l'urée pour les filles.

Tableau III. 18 : Les valeurs d'urée chez les tranches d'âge.

L'urée	Moyenne		Variance		Ecart-type		Médiane	Q1	Q3
	Cas	Témoins	Cas	Témoins	Cas	Témoins			
Intervalle [0-5[ans	0.441	0.336	0.065	0.052	0.253	0.228	0.27	0.22	0.45
Intervalle [5-10[ans	1.666	1.148	34.236	22.485	5.851	4.741	0.25	0.21	0.34
Intervalle [10-15[ans	0.481	0.394	0.122	0.092	0.348	0.302	0.28	0.23	0.51
Intervalle [15-[ans	0,413	0,281	0,113	0,047	0,336	0,218	0,22	0.19	0,32

- Norme de référence : 0.13-0.43 g/L

Tableau III .19 : Le test utilisé pour l'intervalle [0-5[ans.

L'urée	P-value	Test
Intervalle[0-5[ans	0.052	T-Test

Chapitre 3 : Résultats

Cependant, on observe une concentration significativement équilibrée entre les cas et les témoins pour la tranche d'âge [1-5[ans (0.441 ± 0.253 vs 0.336 ± 0.228 , $p=0.052$), et une concentration à la limite de la signification pour les mineurs ayant un âge compris entre 10 et 15 ans (0.481 ± 0.348 vs 0.394 ± 0.302).

Cependant, malgré que les concentrations d'urée soient globalement équilibrées chez les enfants appartenant à la tranche d'âge [1-5[ans d'une part et que les concentrations d'urée soient largement supérieures chez les mineurs atteints de diabète de type 1 appartenant aux tranches d'âge [5-10[ans d'autre part, par rapport à celles des témoins, ces différences ne sont pas toujours statistiquement significatives.

En outre, les résultats montrent aussi que les patients atteints de DT1 ont des concentrations d'urée qui ont tendance à se manifester à partir de l'âge de 5 ans. Cette différence est particulièrement marquée chez les enfants appartenant aux tranches d'âge spécifiques [5-10[ans.

On remarque de plus que pour les tranches d'âge [1-5[ans, et [15-[ans les concentrations d'urée chez les patients sont inférieures (0.441 ± 0.253 vs 0.336 ± 0.228 , $p=0.052$, $0,413 \pm 0,336$ vs $0,281 \pm 0,218$) aux normes de référence contrairement aux tranches d'âge [5-10[ans, [10-15[ans, (1.666 ± 5.851 vs 1.148 ± 4.741 , 0.481 ± 0.348 vs 0.394 ± 0.302). Ce qui nous mène à conclure que les patients atteints du DTI dont l'âge est inférieur à 5 ans présentent des concentrations d'urée presque que normales, cependant avec l'âge ces concentrations ont tendance à augmenter, et après l'âge de 15 ans les concentrations reviennent presque que normales.

Les résultats révèlent que les enfants souffrant de DT1 présentent des concentrations d'urée nettement plus élevées que les témoins, une disparité qui se révèle globalement très significative. Cette disparité est particulièrement prononcée chez les filles et dans certaines tranches d'âge spécifiques, notamment les enfants de [5-10[ans.

Tableau III.20 : Corrélation de Spearman entre l'HbA1c et l'urée chez les tranches d'âge.

<i>Intervalle [0-5[ans</i>	Coefficient de corrélation	-0,082
<i>Intervalle [5-10[ans</i>	Coefficient de corrélation	-0,150
<i>Intervalle [10-15[ans</i>	Coefficient de corrélation	-0,133

*La corrélation est significative au niveau 0.05 (bilatéral).

Chapitre 4
« Discussion »

Chapitre 4 : Discussion

Dans le dessein d'approfondir notre compréhension de l'étiologie du diabète de type 1 chez l'enfant, nous avons mené une étude descriptive et analytique sur les dossiers médicaux de 153 sujets du territoire ouest algérien, recrutés en 2024 au sein du service de pédiatrie A (ESH) – CHU Tlemcen.

Notre analyse vise à examiner les éventuelles associations entre le diabète de type 1 chez les enfants et les paramètres biochimiques. Nous avons obtenu de nouveaux résultats par rapport à la littérature existante.

Une étude menée par **Boitard (2017)** a estimé que près de 30% de la population mondiale était en surpoids ou obèse et présente un diabète de type 1. Ces chiffres soulignent la nécessité de mettre en œuvre des stratégies de prévention et de gestion de l'obésité à l'échelle nationale et internationale, cette étude confirme nos résultats obtenus indiquent que parmi les patients étudiés (**47.71%**) présentent un surpoids ≥ 25 Kg/m².

Nos résultats soulignent l'importance cruciale de considérer les antécédents familiaux lors de l'évaluation du risque de diabète de type 1 chez les patients. Cette constatation est solidement étayée par les recherches antérieures de **Smith (2005)**, **Noble (2011)** et **Redondo (2018)** notant que les antécédents familiaux du 1^{er} degré semblent avoir un impact plus prononcé dans l'apparition de nouveaux cas de diabète de type 1, tandis que les antécédents familiaux des 2^{èmes} et 3^{èmes} degrés peuvent également jouer un rôle significatif dans la susceptibilité à la maladie. Il est important de noter que d'autres facteurs environnementaux et génétiques peuvent également contribuer au développement du diabète de type 1. Des études ultérieures plus approfondies sont nécessaires pour mieux comprendre ces mécanismes.

Nos résultats de consanguinité présentent **37, 3%** de la population générale atteinte du DT1 sont cohérents avec l'étude de **Smith & al (2017)** dans laquelle une

faible fréquence de la consanguinité chez les patients atteints de diabète de type 1 a été rapportée.

Bien que certaines recherches comme celles **d'Al-Sheikh & al (2015) et Albishi (2022)** suggèrent une possible association entre la consanguinité et un risque accru de diabète de type 1, La grande majorité de nos patients **62,7 %** n'ont rapporté aucune consanguinité au sein de leur famille, suggérant ainsi que d'autres variables pourraient exercer une influence plus significative dans l'essor de la maladie. Par conséquent, les recherches à venir devraient se pencher sur l'exploration de ces variables afin d'approfondir notre compréhension de la relation entre la consanguinité et le diabète de type 1 chez les enfants dans l'ouest algérien.

Une corrélation importante a été observée entre l'hémoglobine glyquée et la glycémie préliminaire selon les données biochimiques. Parmi les individus atteints de diabète **38,7%** (correspond à 59 patients) présentent une glycémie supérieure à 1,10 g/l, ce qui indique une hyperglycémie, et la moyenne de l'HbA1c est très importante chez les patients atteints de diabète supérieur à 6,0 %, ces résultats renforcée par une étude multicentrique internationale menée entre avril 2006 et août 2007 afin d'établir de façon précise la relation existant entre la valeur d'HbA1c et la glycémie moyenne au cours des trois mois précédents a montré une corrélation significative entre la glycémie et le taux d'hémoglobine glyquée (**D. Nathan & al, 2008**).

Notre résultat chez les deux sexes et les tranches d'âge concorde avec l'étude de (**A. Calabria, 2022**) le diabète de type 1 survenant chez 1 à 350 enfants par âge de 18 ans l'incidence a récemment augmenté, en particulier chez les enfants de < 5 ans. Bien que le type 1 puisse apparaître à n'importe quel âge, il se manifeste typiquement entre 4 et 6 ans ou entre 10 et 14 ans.

Chapitre 4 : Discussion

Notre étude montre que la moyenne du cholestérol total chez les témoins significativement supérieurs par rapport aux diabétiques (**1,89±1,18 vs 2,59±10,83, p=0,009**). Dans l'étude de (**Guimarães & al, 1998**) Les données concernant le profil lipidique dans le diabète de type 1 sont sujettes à controverse. Les facteurs de risque étudiés incluent des niveaux élevés de cholestérol total et une diminution du HDL-cholestérol, mais les enfants diabétiques ne présentent pas un profil lipidique optimal (**Kershner & al, 2006**).

On observe dans notre analyse une concentration significativement supérieurs chez les cas que chez les témoins pour la tranche d'âge [5-10[ans (**2,025±0,896 vs 1,961±0,928 , p=0,046**). Dans l'étude de (**H. Marmouch & al, 2010**) montre que L'âge moyen de l'ancienneté de diabète est de [5-10[ans, l'HTA et la dyslipidémie étaient significativement plus fréquente dans cette tranche d'âge. Les mêmes dyslipidémies ont été retrouvées par d'autres auteurs mais à des proportions différentes étaient retrouvés une hypertriglycéridémie, l'hypercholestérolémie totale, le LDL cholestérol élevé et le HDL cholestérol bas (**N. Sawadogo & al, 2023**).

Nos résultats montrent une concentration significative un peu plus élevée de triglycéride chez les témoins que chez les cas (**1.3±1.28 vs 1.37±1.85**).

La mesure de la concentration des triglycérides (TG) sanguins est importante dans le diagnostic et le suivi de l'hyperlipidémie, facteur de risque vasculaire notamment chez les diabétiques (**A. Oulahiane & al, 2011**).

L'hypertriglycéridémie serait en rapport avec une accumulation des VLDL et IDL, due à une diminution des activités lipolytiques de la lipoprotéine lipase et de la lipase hépatique (**Jamoussi & al, 2005 et P. Gourdi, 2011**).

En revanche, dans le diabète de type 2, les taux de cholestérol normaux peuvent masquer un profil lipidique athérogène caractérisé par des niveaux élevés de lipoprotéines riches en triglycérides, des LDL modifiées et des particules de HDL dysfonctionnelles (M.Nachi & al, 2022).

La perturbation du métabolisme lipidique semble être un événement précoce dans le développement du diabète de type 2, soulignant ainsi l'importance de prendre en charge les anomalies lipidiques en raison de leur forte prévalence et de leur lien direct avec l'augmentation du risque cardiovasculaire (B. Tanguy & al, 2014).

Dans cette étude cas-témoins, nous avons tenté d'explorer le rôle du cholestérol non HDL dans le diabète pour explorer le rôle du non HDL-C dans la population diabétique. Notre étude a révélé que le taux de non HDL-cholestérol est significativement plus élevé chez les sujets diabétiques que chez les sujets non diabétiques ($1,301 \pm 1,032$ vs $0,894 \pm 0,772$, $p=0,001$). Les chercheurs n'ont pas mis en évidence l'effet du non-HDL sur diabète de type 1, mais il existe des études que sur le diabète de type 2.

Sur le plan métabolique, Le non HDL-C est facteur de risque puissant pour la survenue du DT2, comme il contribue aussi à l'association entre le DT2 et les pathologies cardiovasculaires. L'augmentation de non HDL-C et en particulier la fraction LDL-C résulte de l'altération de la sécrétion de l'insuline, d'autre part, nous avons pu conclure que les diabétiques de type 2 qui associent une baisse significative de la sensibilité à l'insuline, sont à risque de développer l'HTA (Y. Kachekouche, 2020) qui a confirmé que le non HDL-C peut contribuer au développement du DT2, cette étude a montré que les sujets avec des niveaux très élevés de non HDL-C (non HDLC > 1,90 g/L)

Chapitre 4 : Discussion

étaient deux fois plus exposés au DT2 que les sujets qui avaient des niveaux de non HDL-C entre 1,60 g/L et 1,90 g/L.

Par contre les sujets qui avaient présenté des niveaux de non HDL-C proche de l'idéal (1,30 g/L).

Les résultats de (S. Zabeen, 2012) sont similaires à ceux d'Abbasi & al (2007), Pinto & al (2007) et Peters & al (2008). Ils suggèrent que bien que LDL, la principale lipoprotéine porteuse de cholestérol, est le principal déterminant de l'athérosclérose chez les patients chez les patients diabétiques, mais l'élévation des VLDL est également associée à une augmentation des facteurs prothrombotiques et procoagulants. Facteurs prothrombotiques et procoagulants et l'inclusion des VLDL est L'inclusion des VLDL est facilement possible en déterminant le C-HDL non.

En conclusion, Le cholestérol et non-HDL peut être utile pour évaluer le risque d'athérosclérose dans le diabète de type 2. Il devrait donc être inclus dans le profil lipidique afin d'évaluer pour évaluer leur risque et guider leur traitement.

Les résultats montrent une régression logistique significative entre le cholestérol et le non-HDL, ce qui suggère l'existence d'une relation entre ces variables. Cette constatation implique que les niveaux de cholestérol et de non-HDL exercent une influence sur dt1. Ces observations mettent en lumière le fait que les niveaux de cholestérol et de non-HDL peuvent constituer des facteurs cruciaux à prendre en compte lors de l'analyse de cette variable dépendante.

Concernant le bilan rénal, (p. McFarlane & al, 2013) a montré que diverses formes de néphropathie peuvent être observées chez les personnes diabétiques, notamment une néphropathie diabétique, une atteinte ischémique dû à une maladie vasculaire et l'hypertension. Donc Le premier stade de la néphropathie diabétique est

Chapitre 4 : Discussion

l'hyper-filtration caractérisée par un débit de filtration glomérulaire (DFG) nettement plus élevé que la normale.

Bien que certaines recherches comme celles de **Servais & al (2014)** suggèrent que les déficits héréditaires du cycle d'urée sont liés au déficit de l'une des six enzymes. Ces déficits enzymatiques sont responsables d'une diminution de la production d'urée urinaire ; l'ammoniaque n'étant plus éliminé sous forme d'urée s'accumule dans le sang, entraînant une hyper-ammoniémie. Il convient de noter que nos résultats concordent avec ceux d'une étude menée par **Servais et Philip** rapportant qu'une augmentation d'urée chez les diabétiques de type 1.

En revanche, Nos résultats présents un taux élève spécifiquement chez les cas que les témoins chez filles (**1.561±5.112 vs 0.802±3.488, p=0.009**) qui sont similaire avec plusieurs études, parmi ces études (**A. Damoune & al, 2014**) affirmer que la prévalence de l'hyper-uricémie était retrouvée chez 16 % des diabétiques, dont 80,55 % de l'hyper-uricémie a été observée chez les femmes et seul 19,4 % chez les hommes. Egalement (**E. Kalifa, 2023**) a été prouvé que les filles sont exposées à des infections aux levures, qui peuvent causer des sécrétions vaginales ou des démangeaisons, pourraient aussi se développer en raison de la grande quantité de sucre dans l'urine.

D'autre part à confirmer que Le pourcentage élevé de La concentration en urée augmente de façon anormale dans diverses situations, notamment :

- En cas d'insuffisance rénale ou de lésions rénales.
- En cas d'infections, d'accident cardio-vasculaire, de choc, de stress.
- Lors de la prise de certains médicaments.

- En cas d'alimentation très riche en protéines.

En outre, La moyenne d'âge des patients hyper-uricémiques est de 32 ans, avec une durée moyenne d'évolution du diabète de 5 ans (**A. Damoune & al, 2014**) et aussi dans l'étude de (**F. O. Brien, 2023**) Il est confirmé que la néphropathie se développe souvent moins de 10 ans après le diagnostic du diabète. Les résultats de notre étude chez les enfants âgés de 5 à 10 ans sont en accord avec ces observations antérieures, ce qui concorde avec nos résultat chez la tranche d'âge [5-10[ans (1.666 ± 5.851 vs 1.148 ± 4.741) qui présentent une concentration significativement supérieure chez les cas que chez les témoins.

Conclusion

Conclusion

L'objectif principal de cette étude est d'identifier le rôle de la biochimie et de la génétique dans l'étiologie du diabète de type 1 (DT1). Ainsi, la caractérisation épidémiologique est une étape essentielle pour la sélection des sujets en vue de tester des stratégies de prévention.

Les données obtenues mettent en évidence certains facteurs tels que le profil lipidique et rénal, l'historique familial et la consanguinité.

Un contrôle glycémique inadéquat, mesuré par un taux élevé d'HbA1c, est également corrélé à des complications métaboliques, incluant des anomalies lipidiques

Le non-HDL, communément appelé "le taux de mauvais cholestérol", ainsi que le cholestérol total, sont des paramètres importants pour évaluer le risque de maladies cardiovasculaires et d'athérosclérose.

De plus, la fonction rénale est un aspect crucial à considérer chez les enfants atteints de DT1. Des complications rénales peuvent entraîner une altération de la fonction rénale, conduisant à une néphropathie sévère, notamment chez les femmes.

Il est important de noter que notre étude était basée sur un échantillon limité d'une population spécifique, ce qui pourrait restreindre la généralisation de nos résultats.

Références Bibliographiques

A

1. M.Azza. Kamel. F.Marwa .Mira .T.Gamal . A. Ebid .H.Samar . Kassem and R. Eman . R.M.Mamdouh. Maha Amin. Nora Badawy.Hafez B.A.Ibrahim and.Nermine Salah. (2019). Association of insulin gene VNTR INS -23/Hph1 A>T (rs689) polymorphism with type 1 diabetes mellitus in Egyptian children. Egyptian Journal of MedicalHumanGenetics (20, 13), 1-6.
2. Alberto Pugliese. (2005). The Insulin Gene in Type 1 Diabetes.IUBMB Life.57 (7). 463 – 468.
3. H.AMA.NA.Shah & al. (2008).Non-high density lipoprotein cholesterol and type 2 Diabetes mellitus. Pak J Physiol.3 (2).
4. MH.Al-Sheikh& al. (2015). Consanguinity and its association with type 1 diabetes mellitus in Saudi families: a multicenter cross-sectional study. Ann Saudi Med.35 (2).125-130.
5. MD.Andrew Calabria. (2022). Le diabetes Sucre chez les enfants et les adolescents.The Children's Hospital of Philadelphia.
6. A.N. Oulahiane. Z.El Haddad.H. El Mazouni. M.H.Iraqi. Gharbi. And A. Chraibi. (2011). P185 - Dyslipidémie et risque cardio-vasculaire chez le diabétique de type 2. Diabetes & Metabolism.37(1).A78.

B

7. BarbaraHeude.J.Clive. Petry. B.Marcus Pembre.B.David . Dunger and K.Ken. Ong. (2006). The Insulin Gene Variable Number of Tandem Repeat: Associations and

Références

Interactions with Childhood Body Fat Mass and Insulin Secretion in Normal Children. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 91(1). 2770–2775.

8. Basile Lebaill. (2015). Implication du gène *Arntl2* lié au rythme circadien dans le diabète de type 1. Thèse de doctorat en génétique. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI.

9. B. Vergès. (2013). Lipides et diabète de type 1 *Lipids in type 1 diabète*. *Médecine*.7(5). 437-442.

10. B. TANGUY, V. ABOYANS. (2014). Dyslipidémie et diabète. Service de Cardiologie, CHU de LIMOGES. *Cardiologiques. Revues Générales Métabolisme* .37-41.

C

11. D.Caroline .et V.Juliette. A.Philippe. Lysy. (2019). Diabète de type 1 : une maladie auto-immune, vraiment ? *Louvain medical*.185-192.

12. Callum Livingstone and Anwar Borai. (2014). Insulin-like growth factor-II: its role in metabolic and endocrine disease. *Clinical Endocrinology*. 80(6).773-781.

13. Christian BOITARD. (2017). Le diabète de type 1. Des bio-marqueurs à une prévention. *Bull AcadNatlMéd* 201(1-2-3). 297-310.

14. C.Boitard. (2017). Le diabète de type 1. Des bio marqueurs à une prévention.201 (1-3).297-310.

15. C. André.P.Moreno-Elgard. (2018). Les nouvelles techniques de séquençage. Comité de pilotage du plan diagnostique AFM-Téléthon/ Filnemus .8.

D

16. A.Damoune. LahlouH. F. El Ouahabi. O.Ajdi. . SyC and Nejjari. (2014). Acide urique et diabète type 2. *Diabètes&Métabolisme*. A83.

E

17. E. KALIFA. (2023). Dosage d'urée dans le sang.13.1499-2671.www.passeportsante.net.

18. Frank O'Brien. MD. (2023). Néphropathie à immunoglobulines A. Maladie rénale terminale. Washington University in St.

H

19. HAS. (2023). La prise en charge du diabète de type 1 chez l'enfant et l'adolescent. Vivre avec un diabète de type 1. En ligne.

20. H. Marmouche, W. Debbabi, I. Khochtali, A. Baba, H. Bchir, S. Mahjoub. (2010). La dyslipidémie au cours du diabète de type 1. *Diabètes& Metabolism*.37(1).75-174.

I

21.A.Fajardy.F. Vambergue. M.Vasseur . C.Vandersippe.J. Stuckens .J. Weill and Rousseaux. P. Fontaine. (2008). O66 Effet parental des VNTR du gène de l'insuline sur le poids de naissance dans un contexte familial de diabète de type 1. *Diabète et métabolisme*. 34 (S3). 7-104.

J

22. J-C. Philips. R.P. Radermecker. (2012). Le diabète de type 1 : de la prédisposition génétique à un contexte environnemental hypothétique. *Rev Med Liège*, 67(5-6), 319-325.

Références

23. A.Janelle & M. Ana. (2011). Genetics of the HLA Region in the Prediction of Type 1 Diabetes. *Current Diabetes Reports*, 11(6), 533–542.

24. N.Jack.Marshall. Ana Illera Lopez. Abigail L.Pfaff .SulevKoks. John P Quinn. And Vivien J Bubb. (2021). Variable number tandem repeats – Their emerging role in sickness and health, *expBiol Med (Maywood)*.246(12).1368–1376.

25. Jean Paquette. Nick Giannoukakis. Constantin. Polychronakos. Petros Vafiadis.and Cheri Deal. (1998). The INS 5 Variable Number of Tandem Repeats Is Associated with IGF2 Expression in Humans. *THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY*.273 (23).14158–14164.

K

26. E.S. Kilpatrick. (2000). Glycated hemoglobin in the year 2000.*J ClinPathol*.53 (5).335.9.

27. Y. KACHEKOUCHE. (2020). Profil des paramètres sanguins, génétiques et métaboliques chez des patients diabétiques avec ou sans pathologie cardiovasculaire. Thèse de doctorat en Biologie Moléculaire et Génétique. Université de Tlemcen.

L

28. Lyes Bouzouagh. (2021). Impact des facteurs génétiques et environnementaux sur le déclenchement du diabète de type 1. Thèse de doctorat en Sciences pharmaceutiques. Université Grenoble alpes. Faculté de pharmacie.

29. A.M Lucassen .C Julier. J.P Beressi .C Boitard .P Froguel .MLathrop and Bell JI .(1993).Susceptibility to insulin dependent diabetes mellitus maps to a 4.1 kb segment of DNA spanning the insulin gene and associated VNTR. *Nat genet*. 4(3). 305-310.

Références

30. R.RLittle .A.L Tennill . C Rohlfing and al. (2002). Can glycohémoglobin be used to assess glycemic control in patients with chronic renal failure.48.784-6.

31. L. Ahmed Albishi. A. Mahmoud. (2022). Relationships among consanguinity, family history, and the onset of type 1 diabetes in children from Saudi Arabia.Prim Care diabetes.16 (1).102-106.

M

32. Mohammad Khoshroo.Mohammad EbrahimKhamseh. Ali Akbar Amir Zargar.MojtabaMalek. Reza FalakAnd MehdiShekarabi. (2017). The Relationship between insulin variable number of tandem repeats (INS-VNTR) -23 A/T and cytotoxic T lymphocyte associated protein-4 (CTLA-4) +49 A/G polymorphisms with islet autoantibodies in persons with diabetes. Medical journal of the Islamic republic of iran, 31(83).

33. M. Mansouri. Julian Booth. MargarytaVityaz. Cedric Chauve. Leonid Chindelevitch. (2018). Accurate Approximation of the Copy Number of Tandem Repeats.WABI.20 (113).20:1, 20:13.

34. M. Bjørnvold. D.E. Undlien.GJoner. K.Dahl-Jørgensen. P.R.Njølstad.H E Akselsen. KGervin. K. S.Rønningen. L.C. Stene. (2008). Joint effects of HLA, INS, PTPN22 and CTLA4 genes on the risk of type 1 diabetes.51 (4).589-96.

N

35. N. Zhang. W. huangHuang. F. Dong.Yang Liu. B.Zhang. LipengJing. Man-Wang. GuangYang. Chunxia Jing. (2015). Insulin gene VNTR polymorphisms 22221MspI and 223HphI are associated with type 1 diabetes and latent autoimmune diabetes in adults: a meta-analysis.coss mark.52. 1143–1155.

Références

36. J.A. Noble, & al. (2011). Genetics of the HLA region in the prediction of type 1 diabetes. *CurrDiabRep*.11 (6).533-542.

37. D.M. Nathan, Kuenen J, Borg R, Zheng H, Schoenfeld D, J.Heine .(2008). Translating the A1C Assay into Estimated Average Glucose Values. *Diabetes Care*.31 (8).1473–8.

O

38. B.N.Oindrilaraha. sarkar. B.haskar. p.Veerraju. & al. (2011). insulin (INS) promoter vnr polymorphisms: interactions and association with type 1 diabetes mellitus in bengali speaking patients of eastern india. *Diabetologia croatica* .40(4).1-8.

P

39. P. Bougnères, P. Chanson. (2002). La transmission paternelle d'allèles très fréquents (INS VNTR de classe 1) prédispose à l'obésité de l'enfant. *Médecine thérapeutique / Endocrinologie* .3(6).

40. P. Vafiadis, G. Rosemarie Grabs Cindy. Goodyer, Eleanor Colle, and Constantin Polychronakos. (1998). A Functional Analysis of the Role of I G F 2 i n I D D M 2-Encoded Susceptibility to Type 1 Diabetes. From the Endocrine Genetics Laboratory.47.1-6.

41. X.Pinto, E. Corbella, R. Figueras &al. (2007). 'Factors predictive of cardiovascular disease in patients with type 2 DM and hypercholesterolemia.' *Rev Esp Cardiol*. 60. 251-258.

42. A.L. Peters. (2008). 'Clinical relevance of non-HDL cholesterol in patients with diabetes.' *Clinicaldiabetes*.26.

Références

43.P. McFarlan. MD.FRCPC. E. RICHARD. Gilbert, MBBS.PHD.FACP. FRACP &al. (2013). La néphropathie chronique en présence de diabète.37(5).504-512.

44. P. Gourdy, V. Melki, L. Cazals, C. Gaujoux, C. Sanz, F. Labrousse, V. Tognini, C. Marcouyeux, and V. Benat, H. Hanaire. (2011).P296 - Évolution des doses d'insuline lors de l'initiation d'un traitement par pompe externe chez des diabétiques de type 1 et 2. Diabètes & Metabolism.37(1).A104.

R

45.R. Mallone. (2017). Le diabète de type 1 : une maladie auto-immune et de la cellule bêta. INSERM U1016.

46. M.J. Redondo, A.K. Steck, A. Pugliese. (2018). Génétique du diabète de type 1. Pediatricdiabetes.19 (3).346-353.

S

47.J. Story, D.F. Steiner, S.Y. Park, Ye H, L.H Philipson, G.L. Bell. (2010). Clinical and molecular genetics of neonatal diabetes due to mutations in the insulin gene. RevEndocrMetabDisord 11: 205–215.

48. N. Sawadogo, S. Ouedraogo, J. Bamouni, W.M.E. Ouedraogo, W.J. Kabre, O. Guira. (2023). Profil Lipidique des Patients Diabétiques et Obèses au Centre Hospitalier Universitaire Régional d'Ouahigouya. Health science et disease. 24(4)23-27.

49. J. Smith, & al. (2017). Consanguinity and type 1 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. Diabetologia. 60(3). 457-464.

T

50. T. LEMOINE. (2020). Etude descriptive d'une cohorte d'enfants apparentés à des sujets diabétiques de type 1. Thèse de doctorat en médecine. Université de Lille. Faculté de médecine henri warembourg.

51. T. Bienvenu, C. Meunier, S. Bousquet, S. Chiron, L. Richard. & al. (1999). Les techniques d'extraction d'ADN à partir d'un échantillon sanguin.57(1).77-84.

V

52. M. Victoria. (2022). Diabète de type 1 et perspectif de nouveaux traitements. Thèse de doctorat en Sciences pharmaceutiques. Université d'Aix-Marseille – Faculté de Pharmacie.

Y

53. Yusuke. Nakamura.Kumiko. Koyama. Mieko Matsushima. (1998). VNTR (variable number of tandem repeat) sequences as transcriptional, translational, or functional regulators. Hum Genet and Springer-Verlag.43 (1).49-152.

54. Y. Simoni. (2013). L'immunité innée dans le diabète sucré. Thèse de doctorat en immunologie. Université Paris 5 René Descartes.

Z

55.S.Zabeen,M.R .Rahman, , T.G Mustafa, N.H . Eusufzai, and S.Shermin. (2012). Non-HDL Cholesterol and Type 2 Diabetes Mellitus.Anwer Khan Mod. Med. Coll. J. 3, 15–18.

Références

56. Z. Mouna. (2021). Les techniques de Biologie Moléculaire. Cour 3eme année
Licence de Biologie moléculaire.1-58.

ANNEXES

Annexe 1

Questionnaire

Date :
.....

Code :

Nom et Prénom :

.....

Age : ans

Sexe : Fille

Garçon

Localité :
.....

Jumeaux : oui

Non

Si oui : Dizygote

Monozygote

Groupe sanguin :

Poids :Kg

Taille :Cm

Tour de Crâne :Cm

Maturité osseuse :

Le poids à la naissance :Kg

Le type d'allaitement : Maternelle

Artificielle

Mixte

Facteurs de risque :

Consanguinité : oui non

Degré de Consanguinité : 1^{er}

2^{eme}

3^{eme}

Antécédent familiaux du diabète type 1 ou type 2 : oui

non

D'autre Maladie : oui

non

Les marqueurs Biologiques et Biochimiques :

✓ Bilan Glucidique :

– HbA1c :%

-
- Glycémie à jeun :.....(g/l)
 - Hyperglycémie provoqué :.....(g/l)
 - ✓ Bilan Lipidique (g /l) :
 - Cholestérol :.....(g/l)
 - Triglycéride:(g/l)
 - HDL :.....(g/l)
 - LDL :.....(g/l)
 - Non HDL :(g/l)
 - ✓ bilan rénal :
 - Urée(g/l)
 - Créatinine.....(g/l)
 - ✓ Vitamine D :.....(ng /mg)
 - ✓ Bilan Hématologique .

Annexe 2

Extraction de l'ADN génomique à partir du sang Congelé par la méthode de « Salthing out »

✓ **Solutions utilisées**

- TE 10/10 (Tris/EDTA a PH =8).
- TE 10/1 (Tris /EDTA a PH=8).
- TBE (Tris /EDTA/SDS) solution de lyse des globules blanches.
- Nacl à 5M.
- Ethanol absolu.
- Ethanol à 70%.

✓ **Etapes de l'extraction** Plusieurs étapes sont effectuées pour extraire l'ADN :

- Lyse des cellules (GR/GB).
- Elimination des protéines.
- Précipitation à l'alcool.
- Extraction.

1- La lyse des globules rouges

- Décongeler 10 à 30 ml de sang à 37°C.
- Compléter le tube avec du TE 10/10 jusqu'à 45 ml, agiter doucement et mettre dans la glace pendant 30 mn.
- Centrifuger à 2500 tours pendant 15 mn.
- Eliminer le surnageant.
- Ajouter 15 ml de TE 10/10, un retournement du tube suffit pour resuspendre le culot, puis compléter à 45 ml de TE 10/10.

-
- Mettre dans la glace pendant 10 mn et centrifuger à 3000 tours pendant 15 mn. Reprendre cette étape jusqu'à l'obtention d'un culot blanchâtre (culot de globules blancs).

2-La lyse des globules blancs et élimination des protéines

- Au culot de lymphocytes, ajouter 5 ml de solution de lyse des globules blancs et 125 µl de protéinase K à 20 mg/ml et homogénéiser le culot.
- Incuber à 37°C toute la nuit dans un bain marie, sous agitation douce.

3- Précipitation de l'ADN

- Ajouter 2 ml de NaCl, agiter vigoureusement et centrifuger à 4000 tours/mn pendant 10 mn.
- Récupérer le surnageant dans un autre tube, ajouter 2 volumes d'éthanol absolu froid, laisser précipiter l'ADN par retournement du tube (formation de la méduse).
- Récupérer la méduse par une pipette pasteur scellée, la rincer une fois à l'éthanol à 70%, la placer dans un tube eppendorf et la laisser sécher à l'air libre.
- Dissoudre la méduse dans 200-500 µl de TE 10/1.
- Pour une totale dissolution, laisser les tubes sur agitation lente à température ambiante pendant au moins 24 heures.

PCR : Polymerase Chain Reaction

Ou réaction de polymérisation en chaîne. Cette technique permet de copier rapidement des séquences précises d'ADN en de très nombreux exemplaires. Ces copies se font à partir d'une **amorce**, un morceau d'ADN simple brin complémentaire d'une petite zone de l'ADN à séquencer, et grâce à une enzyme, l'**ADN polymérase** et des **nucléotides A, T, C, G**.

Le génome humain

Pour séquencer le génome humain, les 3,2 milliards de paires de bases qu'il contient ont été découpées en fragments d'environ 500 à 800 paires de base. Après avoir séquencé chaque fragment, le travail a consisté à les ordonner. Le Consortium international pour le séquençage du génome humain a réuni 20 centres de séquençage dans six pays pendant plus de 10 ans (de 1990 à 2003).

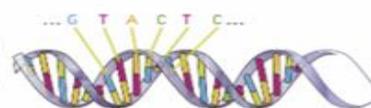
Séquencer l'ADN 2
 Les différentes techniques de séquençage 3
 Les questions posées par le séquençage de nouvelle génération 5

Le séquençage par la méthode de Sanger

Le principe de cette méthode de séquençage est de lire l'ADN par petits fragments. À partir d'une amorce qui se fixe sur l'ADN à séquencer, des brins d'ADN complémentaires sont fabriqués (polymérisation par PCR). Les arrêts aléatoires de la polymérisation à différents endroits de la séquence d'ADN permettent ensuite de lire cette séquence, nucléotide par nucléotide.

Lire l'ADN : le séquençage

L'ADN est formé de brins complémentaires composés de 4 bases différentes : **A, T, C, G**.
Séquencer un fragment d'ADN, consiste à déterminer l'ordre des bases A, T, C, et G qui le constituent.



1 - Ingrédients de la réaction

Principe de séquençage de l'ADN par la méthode de Sanger (1977) modernisée :

- Échantillon d'ADN avec la portion à séquencer de 100 à 1000 paires de bases.
- Nucléotides (A, T, C, G)
- Polymérase
- Amorce

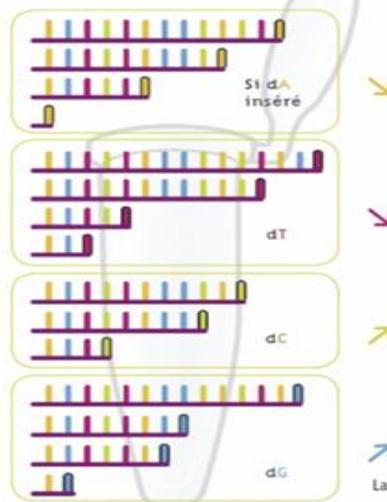
• En plus de la PCR :

Les didésoxynucléotides (bases-stop) qui empêcheront l'addition d'autres bases une fois incorporés. Ils sont marqués par un agent fluorescent, une couleur différente pour chaque base.



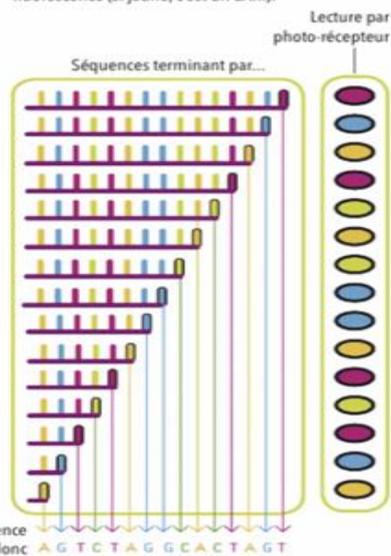
2 - Réaction de polymérisation

Principe de la PCR. Si une base-stop est insérée, la synthèse du fragment est interrompue. À la fin des cycles, le mélange contient donc des fragments de tailles différentes.



3 - Électrophorèse :

Migration des fragments en fonction de leur taille. Pour connaître le nom de la base-stop : détection de fluorescence (si jaune, c'est un dA...).



La séquence est donc **A G T C T A G G C A C T A G T**

Limite de la technique : entre 600 et 1000 paires de bases séquencées par réaction.

Résumé

Une étude menée sur 153 sujets a examiné les profils biochimiques, en mettant en avant le cholestérol et le non-HDL dans le contexte du diabète de type 1 chez les enfants. Les conclusions ont révélé une corrélation significative entre ces paramètres et le diabète de type 1, ainsi qu'une association marquée avec le taux d'urée, en particulier chez les sujets de sexe féminin. De plus, l'étude a intégré une analyse génétique visant à confirmer l'implication du gène VNTR dans l'apparition du diabète de type 1. Les résultats indiquent une relation entre ce gène et le développement de la maladie, mettant en lumière l'impact des facteurs génétiques dans l'émergence du diabète de type 1 chez les enfants.

Mot clés : Diabète, cholestérol, urée, non-HDL, étude génétique VNTR.

Abstract

A study of 153 subjects examined biochemical profiles, focusing on cholesterol and non-HDL in the context of type 1 diabetes in children. The findings revealed a significant correlation between these parameters and type 1 diabetes, as well as a marked association with urea levels, particularly in female subjects. In addition, the study included a genetic analysis to confirm the involvement of the VNTR gene in the development of type 1 diabetes. The results indicate a relationship between this gene and the development of the disease, highlighting the impact of genetic factors in the emergence of type 1 diabetes in children.

Key words : Diabetes, cholesterol, urea, non-HDL, VNTR genetic study.

ملخص

دراسة أجريت على 153 شخصًا بفحص الملامح البيوكيميائية، مع التركيز على الكوليسترول و غير HDL في سياق مرض السكري من النوع الأول لدى الأطفال. وكشفت النتائج عن وجود علاقة كبيرة بين هذه العوامل ومرض السكري من النوع الأول، فضلًا عن ارتباط ملحوظ مع مستويات اليوريا، وخاصة في الإناث. بالإضافة إلى ذلك، تضمنت الدراسة تحليلًا جينيًا لتأكيد تورط جين VNTR في تطور مرض السكري من النوع الأول. وتشير النتائج إلى وجود علاقة بين هذا الجين وتطور المرض، مع إبراز تأثير العوامل الوراثية في ظهور مرض السكري من النوع الأول لدى الأطفال.

الكلمات المفتاحية : مرض السكري، الكوليسترول، اليوريا، غير HDL، دراسة وراثية VNTR
