

UNIVERSITE DE TLEMECEN – ABOU-BEKR BELKAID

FACULTE SNV/STU-DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et Immunologie



Mémoire

Inscrit Sous le No.	
Date le	7638
Cote	

Présenté pour obtenir le grade

DE MASTER II EN ALIMENTATION ET NUTRITION

par

MAHI Mohammed Nassim

Soutenu le

13/10/2013



Intitulé :

ACTIVITE ANTIOXYDANTE TOTALE CHEZ LES PERSONNES ATTEINTES
DE DIABETE DE TYPE 1

JURY :

Dr. HADDOUCHE Mustapha

Dr ARIBI Mourad

Mme. BRAHAMI Nabila

Maître de Conférences B

professeur

Maître Assistante A

Président

Encadreur

Examinatrice

13 Octobre 2013

UNIVERSITE DE TLEMECEN – ABOU-BEKR BELKAID

FACULTE SNV/STU-DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et Immunologie



Mémoire

Présenté pour obtenir le grade

DE MASTER II EN ALIMENTATION ET NUTRITION

par

MAHI Mohammed Nassim

Soutenu le

13/10/2013

Intitulé :

ACTIVITE ANTIOXYDANTE TOTALE CHEZ LES PERSONNES ATTEINTES
DE DIABETE DE TYPE 1

JURY :

Dr. HADDOUCHE Mustapha

Dr ARIBI Mourad

Mme. BRAHAMI Nabila

Maître de Conférences B

professeur

Maître Assistante A

Président

Encadreur

Examinatrice

13 Octobre 2013

RESUME

Introduction	Le diabète de type 1 est la conséquence de la destruction spécifique des cellules β des îlots pancréatiques par un processus auto-immun.
Objectif	étudier l'activité antioxydante chez les personnes atteintes du diabète de type 1.
But	Montrer que le diabète de type 1 est impliqué dans la diminution de la défense antioxydante totale.
Matériels et méthodes	15 échantillons de plasma d'enfants diabétiques de type 1 et 15 autres d'enfants sains de tranche d'âge qui varie entre 7 à 16 ans, ont été soumis aux mesures de la capacité antioxydante totale.
Résultats	une diminution hautement significative de l'activité antioxydante totale chez les diabétiques de type 1 par rapport aux témoins ($p < 0,01$, $p < 0,05$).
Conclusion	Les diabétiques de type 1 ont une faible capacité antioxydante plasmatique totale, comparé à celle des contrôles.
Mots clés	Diabète type 1, Stress oxydatif, Défense antioxydante.

ABSTRACT

- Introduction** Type 1 diabetes is the result of the specific destruction of β islet cells by an autoimmune process.
- Objectif** Study the antioxidant activity in people with type 1 diabetes.
- Aim** Show that type 1 diabetes is involved in the decrease in total antioxidant defense.
- Materials and Methods** 15 plasma samples of type 1 diabetic children and 15 healthy children of age group ranging between 7 and 16 years, were subjected to measurements of total antioxidant capacity.
- Results** A highly significant decrease in the total antioxidant activity in type 1 diabetic patients compared to controls ($p < 0.01$, $p < .05$).
- Conclusion** The type 1 diabetes have low total plasma antioxidant capacity, compared to the controls.
- Keywords** Type1 diabetes, oxidative stress, antioxidant defense.

AVANT-PROPOS

Je commence par exprimer ma profonde reconnaissance et mes vifs remerciements à Docteur Mourad ARIBI le directeur du laboratoire BIOMOLIM, UABT qui m'a honoré en acceptant de diriger ce travail, pour ses conseils, sa disponibilité et surtout pour sa patience dans la correction de ce mémoire. Je ne peux que sincèrement vous exprimer mon respect et ma gratitude.

Je tiens à remercier professeur HADDOUCHE Mustapha pour avoir accepté la présidence du jury de soutenance, qu'il trouve ici toutes mes expressions respectueuses, ainsi que Madame BRAHAMI Nabila pour avoir accepté de faire partie des membres du jury.

Il me faut remercier également Mlles Hadjidj Zinab, Meziane Warda, Ysmail-Dahlouk Lamia, Nouari Wafâa, Nessrine REMLA, ainsi que toute personne qui n'a pas lésiné pour m'aider à accomplir ce travail.

Ce travail a pour objectif d'étudier le pouvoir antioxydant total chez les personnes atteintes du diabète de type 1. Il a été réalisé au Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et Immunologie, sous la direction du docteur Mourad ARIBI. Que je remercie chaleureusement.

Le présent mémoire est structuré en six chapitres : Revue de la littérature, Matériels et méthodes, résultats et interprétation, Discussion, Conclusions et Perspectives, Bibliographie. Il s'inscrit dans le cadre de ma formation universitaire pour l'obtention du grade de Master II d'Alimentation et Nutrition.

Je dédie ce modeste travail à mon très cher père, sans lui ce travail n'aurait jamais pu être réalisé, à ma très chère mère, à mes sœurs Naila, Nyhel et Nessrine, à mon petit frère Nadir, mes amis Hassen, Seif-eddine, Bachir, Imane, Nouria, Kawther, Nessrine et à toutes les personnes que j'estime.

En essayant continuellement on finit par réussir. Donc : plus ça rate, plus on a de chances que ça marche.

Jacques Rouxel, Les Shadoks

Quand on ne fait pas tout pour être le premier, le devenir ou le rester, on ne demeure pas le deuxième. On tombe fatalement le dernier.

Louis Hubert Lyautey

TABLE DES MATIERES

Résumé.....	III
Abstract.....	IV
Avant-propos.....	V
Table des matières.....	VI
Liste des figures.....	VII
Liste des tableaux.....	VIII
Liste des abréviations.....	IX
Introduction.....	1
Chapitre 1. Revue de la littérature	
1.1 Diabète de type 1.....	2
1.1.1 Définition.....	2
1.1.2 Epidémiologie.....	5
1.1.3 Pathogénie.....	6
1.1.3.1 Predisposition génétique.....	7
1.1.3.2 Aspect immunologique.....	10
1.1.3.3 Facteurs environnementaux.....	14
1.2 Le Stress oxydant.....	16
1.2.1 Définition.....	16
1.2.2 Les espèces réactives et les radicaux libres de l'oxygène.....	17
1.2.3 Les origines du stress oxydant.....	22
1.2.3.1 Généralités.....	22
1.2.3.2. Les sources de production d'espèces réactives de l'oxygène.....	23
1.2.4 Le Rôle du stress oxydatif dans le développement des maladies chroniques.....	24
1.2.5 Stress oxydant et diabète.....	25
1.2.6 Marqueurs du stress oxydant et diabète.....	25
1.2.6.1 Les marqueurs de la peroxydation lipidique.....	25
1.2.6.2 Pouvoir anti-oxydant total du plasma.....	26
1.2.6.3 Les systèmes de défense anti-oxydants.....	26
Chapitre 2. Matériels et méthodes.....	28
Chapitre 3. Résultats et interprétations.....	32
Chapitre 4. Discussion.....	34
Chapitre 5. Conclusion et perspectives.....	37
Chapitre 6. Bibliographie.....	38
Annexes.....	48

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1 Risque absolu de diabète pour un apparenté de premier degré d'un sujet diabétique.....	9
Tableau 1.2 Radicaux libres du stress oxydant.....	19
Tableau 1.3 Caractéristiques des patients et témoins.....	32

LISTE DES FIGURES

Figure1.1. Pathogénie du diabète de type 1	3
Figure1.2. Coupe transversale de pancréas montrant des îlots de Langerhans au milieu du compartiment exocrine (10 ⁶ chez l'homme adulte)	4
Figure 1.3. La prévalence mondiale du diabète en 2012.	5
Figure1.4. histoire naturelle du diabète de type 1	7
Figure 1.5. Bras court du chromosome 6	9
Figure 1.6. Les auto-antigènes des cellules β pancréatiques impliqués dans DT1	10
Figure1.7. La pathogénie de la destruction des îlots de Langerhans	12
Figure 1.8. Implication des cytokines dans la pathogénie du diabète de type 1	13
Figure 1. 9. Nature et relations entre les principaux radicaux libres	17
Figure 1.10. Le transfert d'électrons à travers les trois complexes enzymatiques respiratoires de la membrane mitochondriale interne	23
Figure 3.1. Pouvoir antioxydant totales chez les patients atteints de diabète de type 1 et chez les sujets contrôles	33
Figure 3.2. Capacité antioxydante totales chez les patients atteints de diabète de type 1 et chez les sujets contrôles.	33

LISTE DES ABREVIATIONS

ATP : L'adénosine-5'-triphosphate

CD4 : cluster de différenciation 4

CD8 : cluster de différenciation 8

Cellules β : Cellules bêta

CoQH2: Coenzyme Q – cytochrome c reductase

CTLA4: cytotoxic T lymphocyte antigen-4

DO : densité optique.

DID : Diabète insulino-dépendant

DT1 : diabète de type 1

DT2 : diabète de type 2

EHS: établissement hospitalier spécialisé

ERO : espèces réactives de l'oxygène

FADH2 : Flavin adenine dinucleotide

HLA : human leukocyte antigen (les antigènes des leucocytes humains)

ICA: les anticorps anti-îlots (islet cell antibody)

L: litre.

Mmol: milimol

NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide

OMS : organisation mondiale de santé.

ORAC : Oxygen Radical Absorbance Capacity

PTPN22 : protein tyrosin phosphatase 22

TBARS :thiobarbituric acid reactive substances

TCR : Récepteur des cellules T

TH1 : T helper type 1

VNTR : Variable Number Tandem Repeat.

Introduction

Le système immunitaire de l'organisme doit assurer une immunité efficace contre les agents pathogènes tout en maintenant la tolérance aux antigènes du soi. Une rupture dans les mécanismes de tolérance immunitaire peut conduire à des maladies auto-immunes, telles que diabète de type 1 (DT1) (Bach et Chatenoud, 2001).

Le DT1, diabète juvénile est une maladie auto-immune chronique caractérisée par la destruction progressive des cellules-bêta pancréatiques, qui entraîne une carence permanente en insuline (ADA, 2012) et se manifeste principalement par une hyperglycémie (Bingley et Thrower, 2010). La maladie se manifeste cliniquement lorsque plus de 90 % de la masse des cellules Bêta pancréatiques est détruite (Anderson et Bluestone, 2005).

Des facteurs environnementaux et une prédisposition génétique contribuent à l'apparition de la maladie. Dans environ 40 % des cas, le diabète de type 1 apparaît avant l'âge de 20 ans. La maladie varie en fonction, de l'âge, du sexe, de l'origine ethnique de la période et de la localisation géographique. (Woo *et al.*, 2004). D'après l'OMS le nombre de diabétiques dans le monde était de 110.4 million ce chiffre passera en 2010 à 22 million et 300 million en 2025, ainsi le diabète en Algérie est en augmentation considérable avec un taux de mortalité de 9.1% et une prévalence du DT1 à Tlemcen de 3.7%.

Parallèlement, le diabète sucré pose actuellement un problème majeur de sante publique de part sa prévalence sans cesse croissante et sa gravite. Il est la 4ème cause de mortalité mondiale. Selon de récentes estimations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), il y aurait près de 346 millions de diabétiques dans le monde dont 10 % seraient diabétiques de type I (OMS, 2012). Le nombre de personnes atteintes d'un DT1 est en augmentation annuelle modérée, touchant surtout les plus jeunes enfants (<5 ans).

Le stress oxydatif est un processus par lequel les facteurs de l'environnement surchargent les systèmes de régulation d'un individu et perturbent son état d'adaptation (Bruyere, 1991). C'est un déséquilibre de la balance oxydants-antioxydants en faveur des oxydants (Atamer *et al.*, 2008). La cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques appelés radicaux libres. Ce phénomène est alors néfaste, notamment pour les membranes biologiques (Grandjean, 2005).

Un dommage oxydatif peut, théoriquement, contribuer au développement d'une maladie (Dalle-Donne *et al.*, 2006). Une quantité croissante d'évidences scientifiques suggère que le stress oxydatif soit relié aux mécanismes pathophysiologiques primaires ou secondaires d'une multitude de maladies auto immune. Cette relation est appuyée par des

expérimentations qui ont démontré, *in vitro*, qu'il était possible de créer un processus dégénératif par le stress oxydatif (Willcox *et al.*, 2004).

Il a été également rapporté que le plasma contient un grand nombre de substances douées d'un pouvoir anti-oxydant ; elles sont d'ailleurs présentes à des concentrations extrêmement variables. Toutefois, leur activité dans le plasma est faible et leur importance à ce niveau est toute relative (Brasseur *et al.*, 1995).

Problématique :

Le diabète de type 1 (diabète juvénile) est une maladie auto-immune qui résulte de la destruction progressive et sélective des cellules bêta des îlots de Langerhans par les cellules mononuclées et se manifeste cliniquement par une hyperglycémie suite à une carence en insuline. Des études réalisées par vagues successives ont montré le processus autodestructif des cellules pancréatiques qui implique à la fois une réponse immunitaire et inflammatoire.

Récemment il a été constaté qu'une quantité croissante d'évidences scientifiques suggère que le stress oxydatif soit relié aux mécanismes pathophysiologiques primaires ou secondaires d'une multitude de maladies auto immunes, par ailleurs, plus le stress oxydatif est important, moins est la capacité des substances anti-oxydantes à intercepter les radicaux libres. Sachant, que la vitamine E, est considérée comme un antioxydant, certaines études font mention d'un taux abaissé au niveau des plaquettes des diabétiques de type 1.

A cet égard nous essayerons de mettre en évidence la relation qui peut exister entre la capacité antioxydante et le diabète de type 1 à travers une étude rétrospective cas-témoin au sein du Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et Immunologie de l'Université de Tlemcen sous la direction du Docteur ARIBI Mourad, Maître de Conférences Classe A.

L'objectif de ce travail est d'étudier l'activité antioxydante chez les personnes atteintes du diabète de type 1.

Le but est de montrer que le diabète de type 1 est impliqué dans la diminution de la défense antioxydante totale.

Chapitre 1. Revue de la littérature

1.1 Diabète de type 1

1.1.1 Définition

Le diabète chez l'enfant, comme chez l'adulte, est défini par une glycémie à jeun ≥ 7 mmol/L ou $\geq 11,1$ mmol/L à n'importe quel moment de la journée, à au moins deux reprises (OMS, 2012). Le diabète le plus fréquemment rencontré chez l'enfant est le diabète de type 1 (DT1). Le diabète de type 1 correspond à la destruction des cellules β aboutissant habituellement à une carence absolue d'insuline. Il est divisé en 2 sous types (ADA, 2012).

Le diabète de type 1 (précédemment insulino-dépendant) est une maladie auto-immune spécifique d'organe déclenchée par un ou plusieurs facteurs liés à l'environnement qui survient chez un sujet génétiquement prédisposé (Figure 1.1). Ce diabète résulte de la destruction sélective des cellules β , insulino-sécrétrices, des îlots de Langerhans (figure 1.2). Ce processus a pour conséquence une insulinopénie progressive qui se manifeste, lorsque plus des 2/3 des cellules β sont détruites, par une hyperglycémie permanente et des signes cliniques. (Rodier, 2001),

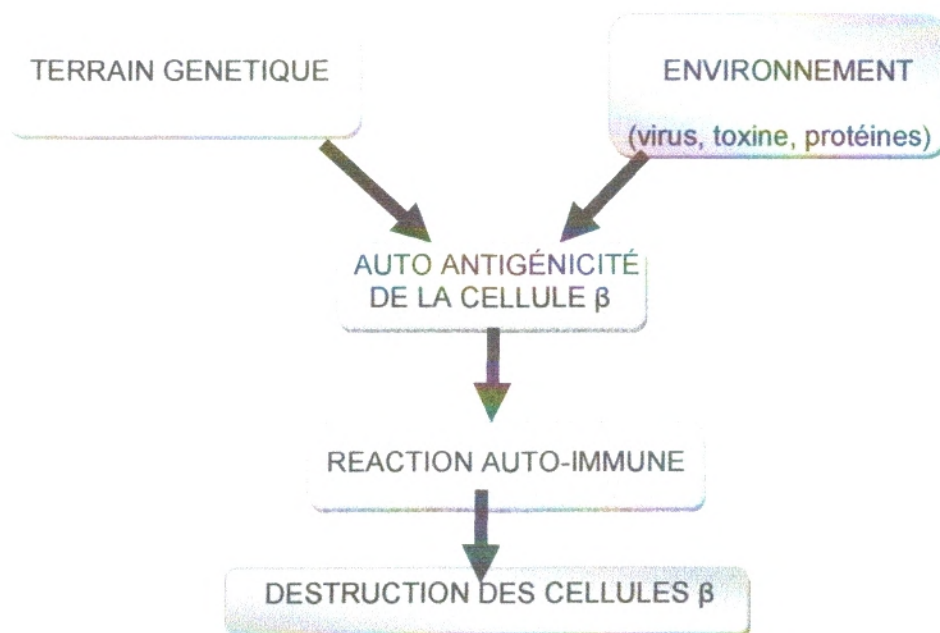


Figure 1.1 Pathogénie du diabète de type 1 (RODIER, 2001).

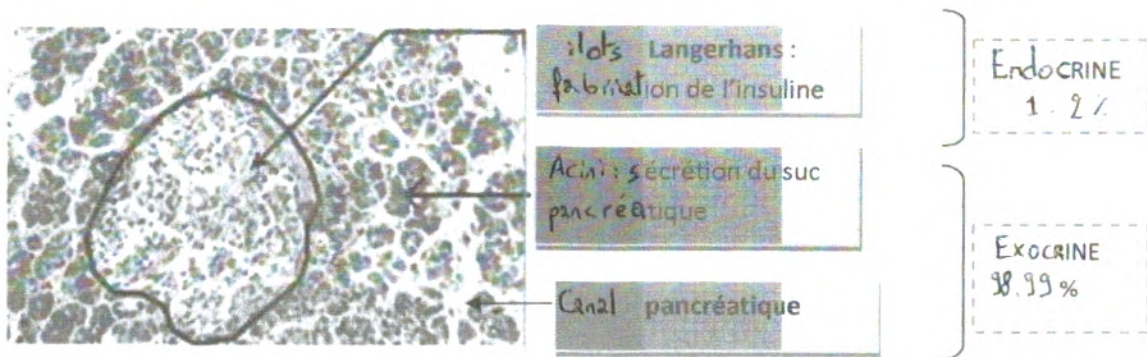


Figure 1.2 Coupe transversale de pancréas montrant des îlots de Langerhans au milieu du compartiment exocrine (10⁶ chez l'homme adulte) (Grimaldi, 2009).

1.1.1.1 Diabète de type 1 auto-immun

La destruction de la cellule β est essentiellement due à une infiltration des îlots par des lymphocytes T helper CD4 et des lymphocytes T cytotoxiques CD8 (Grimaldi, 2009). La maladie peut se manifester quelques mois après le début de la destruction des îlots comme elle peut apparaître des années plus tard (Knip *et al.*, 2005). Au cours de cette réaction sont produits 4 types d'auto-anticorps dirigés contre certains antigènes pancréatiques. Ces autoanticorps sont des marqueurs fiables du déroulement du processus auto-immun pathologique (Knip, 2002).

Ces anticorps sont:

- Les anticorps anti-îlots (islet cell antibody: ICA)
- Les anticorps anti-GAD (glutamate acide décarboxylase). Ces anticorps sont dirigés contre une enzyme ubiquitaire mais qui est exprimée uniquement au niveau pancréatique. Leur présence traduit l'existence d'un processus autoimmun dirigé contre les cellules β du pancréas.
- Les auto-anticorps anti-insuline, retrouvés surtout chez l'enfant
- L'anticorps anti-IA2 : c'est un anticorps dirigé contre une phosphatase membranaire des cellules β .

1.1.1.2 Diabète de type 1 idiopathique

Certains présentent une insulinopénie permanente avec céto-acidose d'origine inconnue ; cette forme à forte composante héréditaire est plus fréquente chez les sujets d'origine africaine ou asiatique. Chez les Africains, une forme voisine se caractérise par une céto-acidose révélatrice après laquelle l'insulinothérapie n'est pas indispensable (ADA, 2012).

Tout sujet dont le diabète a été découvert avant 15 ans et traité d'emblée par insuline est défini comme diabétique de type 1 dans l'étude DERI, la limite supérieure d'âge au moment du diagnostic allait jusqu'à 17 ans inclus (Diabète Epidemiology Research International Group, 1988). Ce mode de classification du diabète est un peu approximatif car il peut y avoir un certain degré de confusion avec le diabète de type 2 de l'adolescent (Fagot-Campagna, 2000).

1.1.2 Épidémiologie

Selon les récentes estimations de l'OMS, il y aurait près de 346 millions de diabétiques dans le monde dont 10 % seraient diabétiques de type 1 (OMS, 2012). Le DT1 affecte jusqu'à 20 millions de personnes dans le monde. L'incidence de la maladie a augmenté rapidement au cours des dernières décennies. Des prévisions plus récentes montrent que, si les tendances actuelles se poursuivent, le nombre de nouveaux cas de diabète de type 1 sera doublé chez les enfants européens de moins de 5 ans entre 2005 et 2020, et les cas prévalents moins de 15 ans augmentera de 70 % (Patterson *et al.*, 2009).

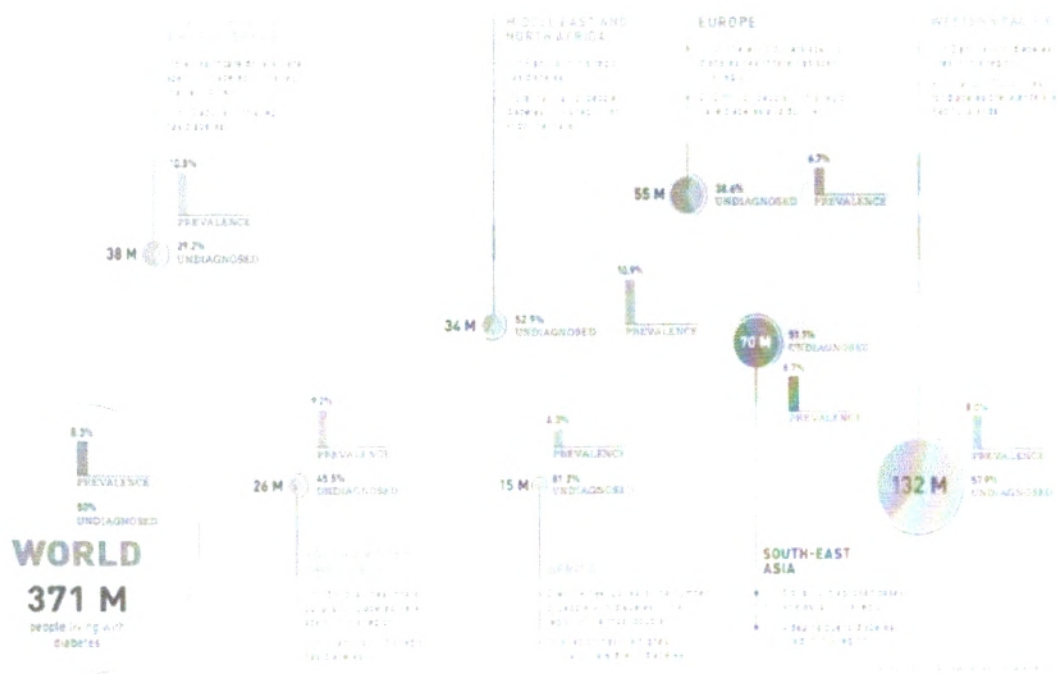


Figure 1.3 : La prévalence mondiale du diabète en 2012.

En 2012, environ 510 000 enfants de 0 à 14 ans sont atteints de DT1, avec une augmentation annuelle de l'incidence de 3.2 %, soit environ 78 000 nouveaux cas par an, mais avec de grandes différences selon les régions (IDF, 2012).

Les études épidémiologiques montrent que l'incidence du DT1 est inégalement répartie dans la population mondiale, avec un taux d'incidence élevé chez les caucasiens (40/100 000/an en Finlande) et un taux extrêmement faible chez les asiatiques et les populations sud-américaines (0.1/100 000 par an) (Karvonen *et al.*, 2000).

Les données épidémiologiques sur DT1 sont souvent incomplètes car des nombreux pays et en particulier les pays en voie de développement n'enregistrent pas l'incidence exacte de cette maladie (Soltesz *et al.*, 2007).

De même, l'Algérie est considérée comme un pays à moyenne risque pour le DT1 (DIAMOND Project Group 2006). Selon le registre national du diabète en 2005, l'incidence de diabète de type 1 chez les enfants et les adolescents a été estimée à 9 pour 100 000 (Boudiba et Mimouni-Zerguini, 2008).

A Tlemcen, l'étude du profil épidémiologique et thérapeutique du diabète type I chez les enfants de moins de 5 ans au sein du service de pédiatrie de l'EHS TLEMEN allant du 1er JANVIER 2008 au 31 DECEMBRE 2012 a révélée une fréquence hospitalière de 3,97 % dont 1,66 % des enfants de moins de 5 ans. 276 enfants diabétiques ont été diagnostiqués ces 5 années dont 79 ont moins de 5 ans. L'incidence du DT1 chez les moins de 5 ans est de 75,25 par 100000 habitants durant ces 5 ans et de 26,19 par 100000 habitants pour l'année 2012 (Service Pédiatrique, EHS TLEMEN, 2012).

Le diabète de type 1 est une maladie relativement rare et même si elle est en légère augmentation, c'est avant tout le DT2 qui fait peser la menace (Grimaldi, 2009) ; Mais les connaissances épidémiologiques sur le DT1 ont beaucoup progressées depuis une quinzaine d'années grâce à la mise en place d'études internationales « collaboratives » (Green *et al.*, 1992).

1.1.3 Pathogénie

Au cours du diabète de type 1 les îlots de Langerhans sont infiltrés principalement par les cellules mononuclées (insulite). Dans ces infiltrats sont retrouvés principalement des lymphocytes T CD8 dirigé contre les antigènes des cellules β avec les quels coexistent des lymphocytes TCD4, des lymphocytes B et des macrophages. Le processus de la destruction implique essentiellement l'immunité à médiation cellulaire de type TH1 et pourrait passer en autre au mécanisme d'apoptose (Bouhours et Coutant, 2011).

L'histoire naturelle du diabète de type 1 est classiquement décrite en trois phases : Une phase de latence, définie par une prédisposition génétique, une phase préclinique silencieuse (prédiabète) caractérisée par l'activation du système immunitaire contre les cellules d'îlot, au cours de laquelle les autoanticorps et les lymphocytes T autoréactifs sont

déTECTABLES et une phase clinique, hyperglycémique survenant lorsque 80 % des cellules β ont été détruites (Dubois, 2010).

Les causes exactes de la maladie restent encore aujourd'hui mal connues. Selon le modèle traditionnel le diabète de type 1 est l'aboutissement clinique d'une cascade d'événements immunologiques survenant chez un individu prédisposé et déclenché par des facteurs environnementaux hypothétiques, aboutissant à terme de destruction complète des cellules β (Bouhours, 2011).

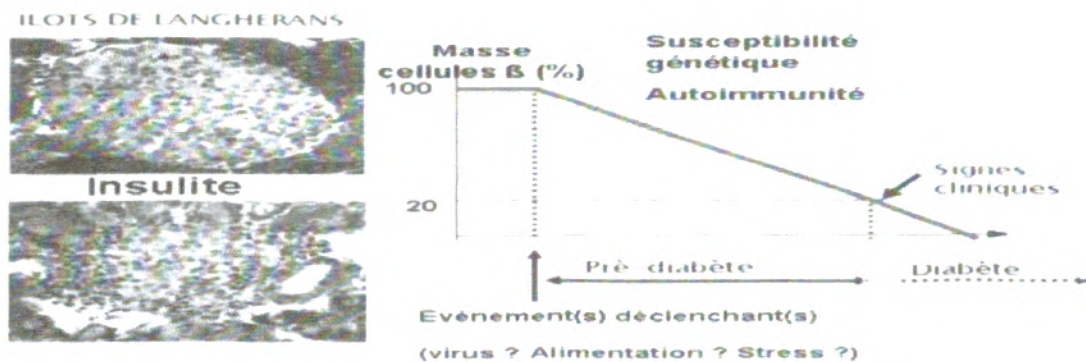


Figure 1.4. histoire naturelle du diabète de type 1 (Bouhours, 2011).

1.1.3.1 Prédisposition génétique

Le diabète de type 1 est une maladie hétérogène dont l'hérédité est polygénique. Ce caractère héréditaire se traduit par un risque accru de la maladie chez les apparentés au premier degré d'un sujet diabétique de type 1 par rapport à la population générale. Environ 10 à 13 % chez les quels un diabète de type 1 vient d'être diagnostiqué ont déjà un apparenté au premier degré. (Bouhours et Coutant, 2011), ainsi le taux de concordance entre jumeaux monozygotes a été estimée de 30 à 50% comparativement à 10 % chez les jumeaux dizygotes. Ces données suggèrent que des facteurs génétiques sont impliqués dans le développement de la maladie (Hytinen *et al.*, 2003).

À l'heure actuelle, il est prouvé que plus de 20 régions du génome peuvent être impliqués dans la susceptibilité génétique de DT1. Plus de 40 gènes et loci ont été associés et ont été qualifiés de IDDM1 à IDDM18. Cependant, Les gènes du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (HLA II) sont les principaux impliqués dans la prédisposition au diabète (Barett *et al.*, 2009; Moussavou *et al.*, 2009).

1.1.3.1.1 Gènes HLA de classe II

La majeure susceptibilité au DT1 est représentée par les gènes HLA de classe II (Human Leucocyte Antigen), situé sur le bras court du chromosome 6 (6p21). Cette région

expliquerai de 40 à 50 % de susceptibilité au diabète de type 1 (Jahromi *et al.*, 2010). Elle contient des gènes codant pour des molécules DR et DQ dont la fonction est de présenter les peptides antigéniques au lymphocytes TCD4 (Appleman *et al.*, 2000).

Deux haplotypes sont associés au diabète de type 1 : DR3 (DRB1*03-DQB1*0201) et DR4 (DRB1*04-DQB1*0302), avec un risque maximal lorsque les deux sont présents. Chez les caucasiens, 80 à 95 % des patients portent l'un ou l'autre de ces haplotypes (contre 40 % dans la population générale). À l'inverse, les haplotypes DR2 et DR15 exercent un effet protecteur (Dubois-Laforgue, 2010; Jaïdane et Hober, 2008). En Algérie, des études bien documentées ont montré que le risque d'apparition est associé principalement avec les antigènes DR4 (Aribi, 2004).

Le séquençage de tous ces allèles a permis ultérieurement de mettre en évidence que les allèles de susceptibilité présentent une arginine en position 52 sur la chaîne α et l'absence d'acide aspartique en position 57 sur la chaîne β . À l'opposé, les allèles de non-susceptibilité n'ont pas d'arginine en position 52 sur la chaîne α , mais un aspartate en position 57 sur la chaîne β (Chevenne et Porquet, 1999).

1.1.3.1.2 VNTR du gène de l'insuline

Un deuxième variant de susceptibilité se situe dans la région du gène de l'insuline, appelé IDDM2, qui est connu sous le nom du polymorphisme 5' du gène de l'insuline (VNTR-INS) (Hermann *et al.*, 2005). Le variable number tandem repeat (VNTR, ou nombre variable de répétitions en tandem) du gène de l'insuline contribue pour 10 % à la susceptibilité génétique au diabète de type 1, situé dans la région promotrice du gène, il est composé d'un nombre variable de répétitions de bases nucléotidiques en tandem, distinguant deux types d'allèles : courts (ou de classe I) et longs (ou de classe III) (Cai *et al.*, 2001).

Les allèles de classe I ont été associés au diabète de type 1, avec un risque relatif de 3 à 5, les allèles de classe III conférant à l'inverse une protection dominante. La susceptibilité induite par le VNTR a été rapportée à son rôle régulateur dans l'expression du gène de l'insuline : les allèles de classe I, associés à une faible expression de l'insuline au niveau du thymus, favoriseraient la sélection et le passage en périphérie de lymphocytes T dirigés contre l'insuline (Dubois-Laforgue, 2010).

L'effet de l'INS semble varier selon l'origine ethnique, avec moins d'effets dans les populations non caucasiennes (Undlien *et al.*, 1994). En plus la présence de l'allèle à risque du VNTR-INS augmente le risque de DT1, en particulier chez les personnes qui n'expriment pas le locus HLA de susceptibilité (Hermann *et al.*, 2005).

Par ailleurs, il a été remarqué depuis une quinzaine d'années qu'un père diabétique de type 1 avait, par rapport à une mère diabétique de type 1, un risque 2 à 3 fois plus élevé de transmettre cette affection à son enfant (environ 6% contre 2.5%) (Dahlquist *et al.*, 1989). Cette différence est expliquée non pas par un mécanisme génétique mais par une transmission d'anticorps protecteurs vis-à-vis du DT1 par le placenta puis par le lait maternel (Simon *et al.*, 2009).

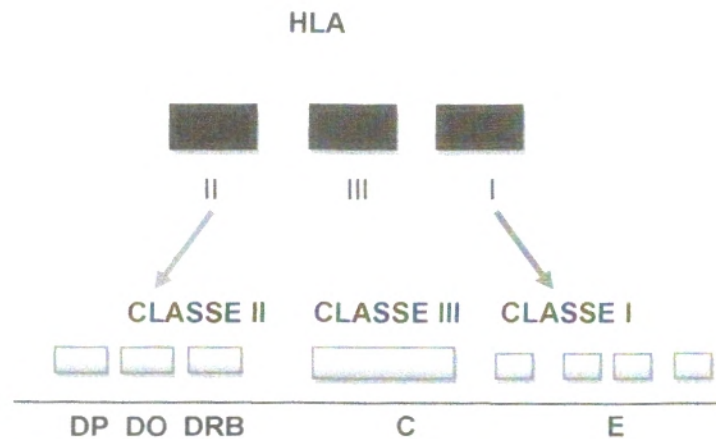


Figure 1.5 Bras court du chromosome 6 (Rodier, 2001)

Patient diabétique	Risque
Père	6 % (pour son enfant)
Mère	2 % (pour son enfant)
Père et mère	30 % (pour leur enfant)
Frère ou sœur	5 % (pour le frère ou la sœur)
Jumeau monozygote	33 % (pour son jumeau)
Deux personnes atteintes	30 %
Population générale	0,3 %

Tableau 1. 1 Risque absolu de diabète pour un apparenté de premier degré d'un sujet diabétique (Eisenbarth *et al.*, 1994)

1.1.3.1.3 Autres gènes

Les gènes CTLA4 (cytotoxic T lymphocyte antigen-4) et PTPN22 (protein tyrosin phosphatase 22) contribuent respectivement pour 3 % et 1 % à la prédisposition génétique au diabète de type 1. Impliqués dans les phénomènes d'activation lymphocytaire, ils sont associés à une immunité plus diffuse (thyroïdites). Des polymorphismes des gènes du récepteur de la vitamine D, de l'interleukine-12 et du récepteur de l'interleukine 1 ont également été associés au diabète de type 1 (Dubois-Laforgue, 2010).

1.1.3.2 Aspect immunologique

Une série d'arguments suggère l'intervention du système immunitaire dans la physiopathologie du DT1. L'insulite, l'infiltrat des cellules de langerhans par les cellules mononucléées au sein du pancréas est la caractéristique anatomique de la maladie. Des marqueurs de l'auto-immunité sont présents chez les sujets diabétiques et prédiabétiques (Dubois-Laforgue, 2007).

L'activation anormale de l'immunité à médiation cellulaire de type TH1 (lymphocyte T) entraîne chez les individus prédisposés une réaction inflammatoire à l'intérieur des îlots (l'insulite). L'immunité à médiation humorale de type TH2 est activée secondairement aboutissant à la formation d'anticorps dirigés contre les antigènes détectables chez la majorité des sujets diabétiques au début de la maladie (Bouhours et Coutant, 2011).

Plusieurs autoantigènes sont la cible des autoanticorps et des lymphocytes T autoréactifs détectés au cours du DT1, en particulier l'insuline et la pro-insuline, la glutamate décarboxylase-65 (GAD65), la tyrosine-phosphatase (IA-2), les antigènes intracytoplasmiques (ICA) et le transporteur de zinc (ZnT8) (Arvan et al., 2012).

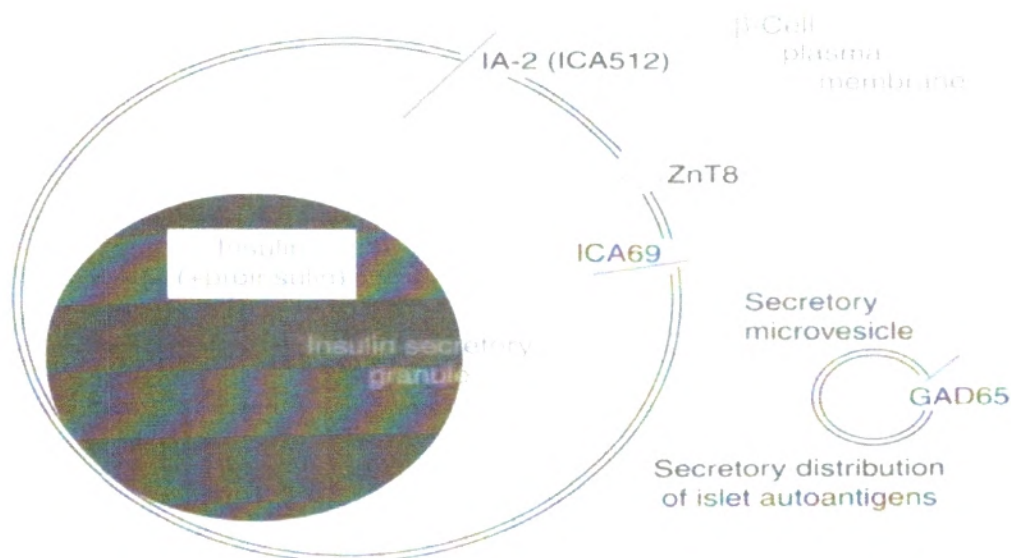


Figure 1.6. Les auto-antigènes des cellules β pancréatiques impliqués dans DT1 (Arvan et al., 2012).

1.1.3.2.1 Immunité cellulaire

DT1 est une maladie auto-immune spécifique d'organe dans laquelle les lymphocytes T autoréactifs, activés par un auto-antigène, détruisent les cellules β productrices d'insuline dans les îlots pancréatiques. La destruction progressive des cellules β se produit, à travers des

réponses immunitaires cellulaires par lymphocytes T CD8 et CD4 autoréactifs (Knip et Siljander, 2008).

Chez les sujets sains, lymphocytes T avec une forte affinité pour les auto-antigènes sont éliminés ou leur activité est contrôlée par un certains nombres de mécanismes complémentaires, ce qui entraîne une tolérance immunitaire, or que DT1 résulte de la défaillance de ces mécanismes. Au contraire la Progression de la maladie peut être retardée par des médicaments immunosuppresseurs qui inhibent la fonction des lymphocytes T effecteurs (Thrower et Bingley, 2011).

1.1.3.2.2 Immunité humorale

Des anticorps se développent de manière séquentielle, apparaissent généralement dans l'enfance, et peuvent être présent pendant de nombreuses années avant la manifestation clinique du DT1. Même si le rôle de ces anticorps dans la pathogénie de la maladie reste incertaine car ils ne sont pas clairement impliqués dans la destruction des îlots de cellules β . Ils peuvent cependant être cliniquement importants pour prédire le risque individuel de développer DT1.

Les quatre auto-anticorps sont des anticorps dirigé contre l'insuline (IAA), l'acide glutamique décarboxylase-65 (GADA), la tyrosine phosphatase antigène d'îlot 2 (IA2A) et des anticorps anti-îlots (ICA) dirigé contre les plusieurs spécificités antigéniques intra cytoplasmique (Bingley, 2010).

Plus le nombre d'auto-anticorps îlots est présent plus le risque de développer un DT1 est élevé. Le risque est de 50 % lorsque le patient est positif pour les 4 auto-anticorps, de 40,3% lorsqu'il est positif pour 3 auto-anticorps et de 16,1% quand les deux auto-anticorps sont présents, un risque minimale s'exprime à 3.1% lorsque le patient est positif pour un seul auto-anticorps (Winter et Schatz, 2011).

1.1.3.2.3 Mécanisme de la réaction auto-immune dans le DT1

L'analyse histologique du pancréas de patients atteints d'apparition récente diabète de type 1 révèle insulite, avec une infiltration des îlots de Langerhans par les cellules mononuclées, y compris les lymphocytes T et B, les cellules dendritiques, les macrophages et les cellules tueuses naturelles (NK) (Hanninen *et al.*, 1992) et que le processus auto-immun au cours du diabète de type 1 est Médie principalement par des lymphocytes T auto réactifs (Tang *et al.*, 2003).

Les macrophages ou les cellules dendritiques sont les premières cellules à infiltrer les îlots de Langerhans et semblent être impliqués à un stade précoce dans la pathogenèse du

diabète de type I (Yoon *et al.*, 1998). La présentation des auto-antigènes des cellules β par les macrophages ou cellules dendritiques aux cellules lymphocytes LT auxiliaire CD4⁺ en association avec les molécules CMH-II est considérée comme l'étape initiale dans le développement du diabète auto-immun. Les CPA activés sécrètent l'IL-12 qui stimule les cellules LT CD4⁺ de type TH1 (Yoon, 2005).

Les cellules LT CD4⁺ sécrètent de l'IFN γ et l'IL-2. L'IFN γ active les macrophages quiescents, qui à leur tour libèrent l'IL1 β , le TNF α et des radicaux libres toxiques (cytotoxique) pour les cellules β . L'IL-2 et d'autres cytokines induisent la migration de lymphocytes T CD8⁺ périphériques vers les foyers inflammatoires au niveau des îlots de Langerhans. Les cellules LTCD8⁺ spécifiques des auto-antigènes des cellules β se différencient en lymphocytes cytotoxiques par reconnaissance des ces auto-antigènes liés aux molécules CMH-II en présence cellules LT CD4⁺. Les cellules cytotoxiques provoquent une destruction cellulaire par libération de perforine et granzyme et une apoptose médiée par Fas CD95 (Yoon, 2005). Par ailleurs, les autoanticorps n'ont pas de rôle cytolytique direct, mais participent à l'expansion du processus auto-immun en favorisant la présentation antigénique (Dubois, 2010).



Figure1.7. La pathogénie de la destruction des îlots de Langerhans (Yoon, 2005).

1.1.3.2.4 Cytokines, inflammation et immunomodulation au cours de diabète de type 1

L'auto-immunité au cours de DT1 est médiée principalement par cellules T autoréactifs qui induisent l'inflammation et la destruction des cellules bêta des îlots au cours une longue phase préclinique asymptomatique. Des nombreuses preuves dérivées principalement à partir des modèles animaux suggèrent que lymphocytes T CD4 de type TH1 caractérisés par leur sécrétion des cytokines pro-inflammatoires, tel que l'interleukine-2 (IL-2) et l'interféron γ (IFN γ). Ces derniers sont les principaux médiateurs de la réponse immunitaire au cours de DT1 (Micha *et al.*, 2005), tandis que les cytokines antianflammatoires de type Th2 (IL-4 et IL-10), Th3 (TGF β) sont en corrélation avec la protection de DT1 (Rabinovitch et Pinzon 2007).

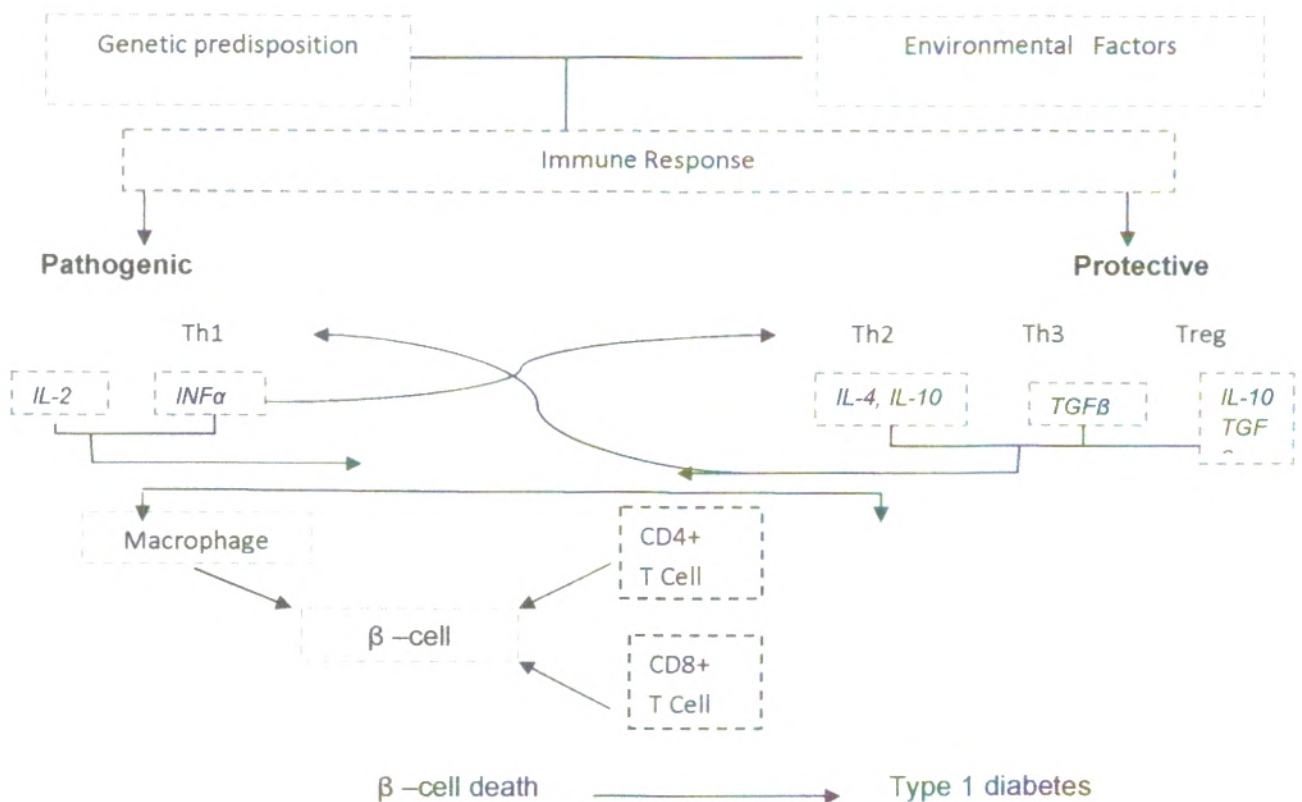


Figure 1.8. Implication des cytokines dans la pathogénie du diabète de type 1: la destruction des cellules β est médiée par les lymphocytes T auto réactifs de type TH1 qui secrète les IL-2 et INF α dont le rôle est l'activation des macrophages et des cellules T CD4+ et CD8+ qui sont cytotoxique pour la cellule β . Au contraire les lymphocytes de type TH2, TH3 et les Treg secrètent IL-4, IL-10 et TGF β qui inhibent la production des cytokines de type TH1 (Rabinovitch et Pinzon 2007).

Récemment, des études ont montrées que les cellules T chez les patients diabétiques de type 1 exposent une extrême polarisation vers le sous-type Th1 alors que les témoins ont

une dominance des cellules Th2 et Treg (Rabinovitch et Pinzon 2007). De plus, Monika Ryba et al, indique que le TNF β réduit le nombre et la fréquence des lymphocyte Treg CD4 + Foxp3 + chez les enfants atteints de diabète de type 1 et que le traitement in vitro avec des anticorps anti-TNF β semble avoir un rôle protecteur (Ryba et al., 2011).

Les cellules Treg CD4+ CD25+ sont les principales régulatrices de la réponse auto-immune en empêchant l'activation et la prolifération des lymphocytes T autoréactifs qui ont échappés de la suppression du thymus (Sakaguchi, 2000). Les cellules de régulation peuvent intervenir dans différentes stades de la maladie auto-immune (Costantino et al., 2008).

1.1.3.3 Facteurs environnementaux

La variation géographique de l'incidence de diabète de type 1, la faible concordance chez les jumeaux monozygote et le fait que beaucoup d'enfants avec une prédisposition génétique ne développent pas la maladie expliquent le rôle important des facteurs environnementaux (Harris, 2005; Knip, 2003).

Les facteurs environnementaux interviennent dans différentes stades de la maladie, avec des effets variables selon le stade d'intervention. Ces facteurs pourraient déclencher ou au contraire bloquer le processus auto-immun (Dubois-Laforgue, 2007).

Les facteurs les plus importants sont considérés comme infectieux, diététique, périnatale et psychosocial. Les entérovirus (en particulier virus Coxsackie B), l'allaitement maternel, la présence ou l'absence de certains aliments, le poids de naissance et la surnutrition au cours de l'enfance présentent un risque pour la maladie (Peng et Hagopian, 2007).

1.1.3.3.1 Infection virales

Le rôle des infections dans la survenue du diabète est évoqué du fait de la saisonnalité du début de la maladie. En effet le diabète débute souvent en automne ou en hiver, période où les infections sont plus fréquentes (Dahlquist, 2006).

La relation entre les infections virales et la pathogenèse du DT1 a été lentement bien établie (Fujinami et al., 2006). Une observation au début était l'association des rubéoles congénitale avec DT1 (Ginsberg et al., 1984). Par la suite, d'autres virus humains étaient rapportés comme étant associés avec la maladie, y compris, Coxsackie B (Jenson et al., 1980), échovirus (Cabrera Rode et al., 2003), le cytomégalo virus (Yasumoto et al., 2000), rétrovirus (Conrad et al., 1997), le rotavirus et parvovirus B19 (Munakata et al., 2005).

Les entérovirus humains (HEV), en particulier Coxsackie B4 et les échovirus, sont le plus étudié (Roivainen *et al.*, 2000). Il a été démontré que les infections à entérovirus étaient significativement plus fréquentes chez les sujets à risque tels que les frères et sœurs de patients diabétiques, lorsqu'ils ont développé des auto-anticorps dirigés contre les cellules Bêta et/ou un DT1, et chez les patients diabétiques récemment diagnostiqués, que chez les sujets sains (Jaïdane et Hober, 2008).

1.1.3.3.2 Facteurs nutritionnels

Les facteurs alimentaires pourraient lancer et accélérer la pathogenèse du DT1 ou freiner sa progression (Peng et Hagopian., 2006). La preuve que les facteurs alimentaires jouent un rôle important dans l'étiologie de DT1 chez l'homme provient d'études d'alimentation infantile (Knip *et al.*, 2010; Norris, 2010).

Il a été également proposé qu'une exposition rapide aux protéines animales ou un allaitement maternel raccourci cause une tolérance déficiente aux auto-antigènes pancréatiques et un transfert passif inadéquat de l'immunité maternelle (Norris, 2010).

Le mécanisme proposé expliquant l'activation des lymphocytes T serait un mimétisme moléculaire par une réaction croisée entre les protéines laitières bovines, essentiellement l'insuline, et les auto-antigènes des îlots (Vaarala *et al.*, 1998).

Par ailleurs, l'introduction précoce de céréales pour nourrissons à faible taux sériques de vitamine D et une exposition prématurée de système immunitaire intestinale aux protéines étrangères tel que le gluten dans les 3 premiers mois de la vie a également été associée avec un risque accru de DT1 chez les enfants présentant un risque génétique élevé pour la maladie (TEDDY Study Group, 2007). De plus les sources alimentaires qui contiennent les nitrites et les nitrates peuvent jouer un rôle dans l'étiologie du diabète de type 1 (Virtanen et Knip, 2003).

D'autres facteurs nutritionnels et notamment les micronutriments et les vitamines C, D, et E, considérés comme des antioxydants peuvent avoir un rôle protecteur. Ainsi, Récemment beaucoup d'attentions ont été accordée au rôle des vitamines lors du DT1 (Peng et Hagopian., 2007). Une étude réalisée sur des cellules endothéliales d'origine humaine, montre que des concentrations élevées en glucose augmentent les activités des enzymes anti-oxydantes (superoxyde dismutase à Cu, Zn, catalase, glutathion-peroxydase) ainsi que l'expression des ARNm de ces enzymes. Selon les auteurs de cette étude, la surexpression cellulaire de ces enzymes anti-oxydantes constitue une réponse au stress oxydant consécutif à des taux de glucose élevés (Ceriello *et al.*, 1996).

1.1.3.3.3 Autres facteurs de risque

Le climat froid augmente les besoins en insuline et pourrait expliquer le classique gradient Nord-Sud du diabète de type 1 en Europe et aux États-Unis. Cependant les autres maladies auto-immunes présentent ce même gradient (Dahlquist, 2006). Les facteurs psychosociaux, la macrosomie, la surcharge pondérale dans l'enfance et l'hygiène de vie semblent jouer un rôle dans le risque au diabète (Knip, 2003).

1.2 Le Stress oxydant

1.2.1 Définition

Le stress est un processus par lequel les facteurs de l'environnement surchargent les systèmes de régulation d'un individu et perturbent son état d'adaptation (Bruyere, 1991). Le stress oxydatif, parfois appelé stress oxydant, se définit comme étant un déséquilibre de la balance oxydants-antioxydants en faveur des oxydants (Atamer et al., 2008). La cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques appelés radicaux libres. Ce phénomène est alors néfaste, notamment pour les membranes biologiques (Grandjean, 2005). Il se développe lorsque les radicaux libres, des molécules oxydantes, sont produits plus rapidement qu'ils ne peuvent être neutralisés par l'organisme. Un radical libre est une molécule très réactive contenant un ou plusieurs électrons non paillés dans ses orbitales. Il retrouvera sa stabilité en participant à des réactions chimiques dont la conséquence est l'oxydation des lipides membranaires, l'oxydation des acides aminés composant les protéines et l'oxydation des glucides composant les acides nucléiques (Tremellen, 2008). De façon générale, les radicaux libres contribuent au stress oxydatif par une série de réactions en chaîne.

Bien que les radicaux libres aient la capacité d'infliger des dommages irréversibles aux macromolécules, ils ont un rôle essentiel à jouer dans certaines fonctions biologiques telles la phagocytose, la régulation de la croissance cellulaire et des signaux intercellulaires et la synthèse d'importants composés organiques. Toutefois, en concentrations élevées, ils deviennent hautement cytotoxiques en engendrant de sérieuses altérations aux cellules pouvant mener à la mort cellulaire (Zou et al., 2008).

Les radicaux libres impliquant un ou des atomes d'oxygène se nomment espèces réactives de l'oxygène (ERO). L'anion superoxyde (O_2^-) est la forme primaire des ERO et est formée par l'addition d'un électron à l'oxygène moléculaire (O_2). L'anion superoxyde peut ensuite être converti en ERO secondaires telles que le radical hydroxyle (OH), le radical peroxyde ($ROO^\cdot$) ou le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), ce dernier n'étant toutefois pas un radical libre

puisque'il ne contient pas d'électrons non pairés. Les radicaux libres impliquant plutôt un atome d'azote se nomment espèces réactives de l'azote, le monoxyde d'azote (NO) et le peroxydinitrite (ONOO-) étant deux espèces bien connues (Tremellen, 2008). Alors que les espèces réactives de l'oxygène induisent un stress oxydatif, les espèces réactives de l'azote induisent pour leur part un stress azoté.

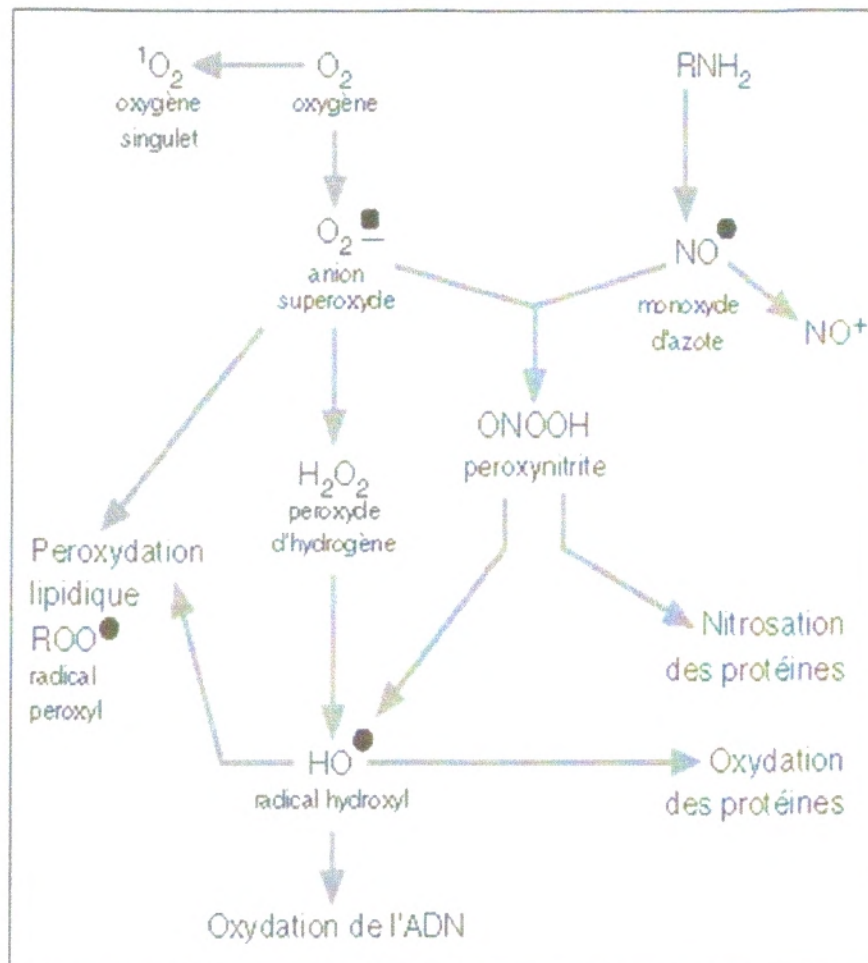


Figure 1. 9. Nature et relations entre les principaux radicaux libres (dont l'électron non apparié est figuré par le symbole "rond noir") et espèces réactives de l'azote et de l'oxygène intervenant dans le phénomène de stress oxydant (Fevier, 1997).

1.2.2 Les espèces réactives et les radicaux libres de l'oxygène

La quasi totalité de l'oxygène consommé par l'organisme est utilisé au niveau mitochondrial pour la production d'ATP et est réduit en eau. Cependant, une petite fraction de cet oxygène (1 à 4%) peut être convertie en intermédiaires qualifiés d'espèces réactives de l'oxygène. Parmi les espèces réactives de l'oxygène, on distingue les espèces radicalaires appelées radicaux libres et les espèces non radicalaires (Abuja et Albertini, 2001).

1.2.2.1. Définition des radicaux libres

Les radicaux libres sont définis comme des espèces chimiques capables d'une existence indépendante et possédant une orbitale dont un électron au moins est non apparié ou célibataire. Un électron apparié occupe une orbitale atomique ou moléculaire par lui-même. Les radicaux libres, par la présence en leur sein, d'un ou plusieurs électrons non appariés, sont sensibles à un champ magnétique. C'est la raison pour laquelle ils sont qualifiés d'entités paramagnétiques (Halliwell et Gutteridge, 2007).

Les radicaux libres sont des sous produits des réactions cellulaires d'oxydoréduction, des éléments hyperactifs capables d'extraire un électron des molécules voisines pour combler la valence de leur orbitale. Ils auront tendance à « arracher » des atomes aux molécules pour reconstituer une paire d'électrons assurant une liaison stable (Chandan, 1995)

(GRANDJEAN, 2001). En effet, les liaisons entre atomes sont principalement réalisées par la mise en commun de deux électrons. Les radicaux libres peuvent être formés suite à la perte ou le gain d'un électron à partir d'une entité non radicalaire; ils vont donc agir en tant qu'agent oxydant (cas le plus fréquent) ou réducteur (Halliwell et Gutteridge, 2007 ; Steven, 2006).

Les radicaux libres peuvent également être produits par fission homolytique, c'est-à-dire par rupture symétrique d'une liaison covalente, à l'issue de laquelle chaque atome conserve un électron (Jungbluth, 2008).

Le caractère radicalaire de ces espèces leur confère généralement une grande instabilité énergétique. En effet, elles ont tendance, pour satisfaire à la règle de l'octet, à revenir à leur état stable en captant un électron pour combler leur orbitale, à partir d'une molécule (espèce non radicalaire) ou d'un autre radical libre (Jungbluth, 2008).

Les radicaux libres de l'oxygène sont des molécules oxygénées plus réactives que l'oxygène que l'on retrouve dans l'air (Soffler, 2007). Il existe d'autres molécules réactives contenant de l'oxygène, non radicalaires (Abuja et Albertini, 2001]. En effet, la littérature anglo-saxonne distingue les radicaux libres de l'oxygène et les espèces réactives de l'oxygène (ROS pour reactive oxygen species). Ces dernières incluent des espèces non radicalaires de l'oxygène telles que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et l'ozone (O_3) qui sont capables d'induire des lésions tissulaires oxydantes (Deaton et Marlin, 2003 ; Chandan, 1995). Ainsi, tous les radicaux libres de l'oxygène sont des espèces réactives de l'oxygène mais toutes les espèces réactives de l'oxygène ne sont pas des radicaux libres (Halliwell et Gutteridge, 2007).

En résumé, les espèces réactives de l'oxygène regroupent ;

- les radicaux libres de l'oxygène,
- les espèces non radicalaires de l'oxygène à potentialités oxydantes.

$O_2^{\bullet}$: radical superoxyde

$HO_2^{\bullet}$: radical perhydroxyle

$^{\bullet}OH$: radical hydroxyl

$RO_2^{\bullet}$: radical peroxyde

$RO^{\bullet}$: radical alkoxyde

Pour les radicaux peroxyde et alkoxyde, R désigne un substrat organique

Tableau 1.2 Radicaux libres du stress oxydant (Gauche, 2006)

1.2.2.2. Les espèces radicalaires ou radicaux libres dérivés de l'oxygène

- **Le radical libre superoxyde $O_2^{\bullet-}$**

Parmi les espèces réactives de l'oxygène, le radical libre superoxyde est celui qui possède la réactivité la plus faible vis-à-vis des substrats bio-organiques ((Jungbluth, 2008). Il possède un électron de plus que le dioxygène dans sa forme stable (Halliwell et Gutteridge, 2007).

- **Le radical hydroperoxyde $HO_2^{\bullet}$**

Il s'agit de l'acide conjugué de l'anion superoxyde, on parle de forme protonée de l'anion superoxyde.



Le radical hydroperoxyl $HO_2^{\bullet}$ est plus réactif que le radical superoxyde $O_2^{\bullet-}$. Sa présence en solution aqueuse dépend du pH. La réactivité du radical hydroperoxyl et son caractère non ionisé lui permettent de traverser les membranes biologiques plus efficacement que le radical superoxyde (Halliwell et Gutteridge, 2007). Cela suggère qu'il est capable de causer des dégâts. Il peut réagir avec les acides gras polyinsaturés (Jungbluth, 2008).

- **Le radical hydroxyle $OH^{\bullet}$**

Le radical hydroxyle $OH^{\bullet}$ est formé en présence de métaux de transition, par exemple l'ion ferreux Fe^{2+} , lorsque l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ réagit avec le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 au cours de la réaction d'Haber-Weiss évoquée précédemment (Deaton et Marlin, 2003).

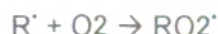
Le radical hydroxyle $OH^{\bullet}$ va chercher à capter un électron et se comportera donc en agent oxydant. Il s'agit d'une espèce hautement réactive, ayant un potentiel destructeur et mutagène élevé. La membrane mitochondriale y est particulièrement sensible car située à proximité de son lieu de formation (Steven, 2006).

- **Le radical peroxy $RO_2^\bullet$**

En présence d'un puissant oxydant (X^+), une molécule organique RH (singulet) peut être transformée en radical libre. Cette réaction se fait généralement par une rupture d'une liaison carbone-hydrogène (déshydrogénation) : l'atome $H^\bullet$ arraché cède son électron à l'oxydant. Il se forme un radical centré sur le carbone $R^\bullet$ (doublet) ;



Les radicaux $R^\bullet$ ainsi obtenus sont transformés en radicaux peroxydes $RO_2^\bullet$ par addition d'une molécule de dioxygène selon la réaction :



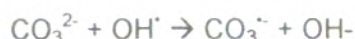
Les radicaux peroxy peuvent alors arracher un atome d'hydrogène $H^\bullet$ à une autre molécule organique RH , formant, ainsi, des hydroperoxydes RO_2H et des radicaux libres $R^\bullet$ comme suit :



Les radicaux $R^\bullet$ peuvent réagir avec une molécule de dioxygène comme vu précédemment et propager, ainsi, une réaction en chaîne produisant des hydroperoxydes. Il s'agit d'une peroxydation. Dans les cellules, cette chaîne réactionnelle affecte principalement les acides gras polyinsaturés ; il s'agit de la peroxydation lipidique. Les radicaux peroxydes sont de bons oxydants (Jungbluth, 2008).

- **Le radical carbonate $CO_3^{\bullet-}$**

Il est formé lorsque $OH^\bullet$ réagit avec des ions carbonate CO_3^{2-} ou bicarbonate HCO_3^- ou lorsque $ONOO^-$ réagit avec le dioxyde de carbone CO_2 (Halliwell et Gutteridge, 2007).



Le radical carbonate oxyde certaines molécules dont l'acide hyaluronique et certains acides aminés que sont la guanine et la méthionine mais la contribution du radical carbonate dans les dégâts causés par un stress oxydant in vivo n'est pas réellement connue (Halliwell et Gutteridge, 2007).

- **Le radical alkoxyl $RO^\bullet$**

En présence de métaux de transition (M^+), les hydroperoxydes produisent des radicaux alkoxyl $RO^\bullet$ qui prolongent le processus de réaction en chaîne en agissant sur une molécule organique RH (Jungbluth, 2008) :



1.2.2.3. Les espèces réactives de l'oxygène non radicalaires

- **Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2**

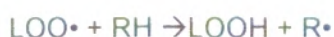
Il s'agit d'un intermédiaire stable mais très oxydant, capable de diffuser au sein des membranes hydrophobes et participant à la production de plusieurs molécules dont les plus réactives sont $OH^\cdot$ et $HOCl$ (Ohia et al., 2005; Deaton et Marlin, 2003). En présence de métaux de transition, principalement le fer, le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 est capable de produire le radical hydroxyle $OH^\cdot$.

- **L'oxygène singulet $^1O_2$ ou $^3O_2$**

Il possède deux électrons appariés et est hautement réactif comparativement à $^3O_2$. Les radicaux peroxy $RO_2^\cdot$ peuvent réagir entre eux pour former l'oxygène singulet au cours de la peroxydation lipidique. L'oxygène singulet réagit avec des molécules contenant des doubles liaisons carbone-carbone pour former des peroxydes. Par exemple, le cholestérol des membranes peut être oxydé par l'oxygène singulet et former son 5- α -hydroperoxyde (Halliwell et Gutteridge, 2007).

- **L'hydroperoxyde lipidique LOOH**

Il peut avoir pour origine l'arrachement d'un hydrogène à un acide gras polyinsaturé (acide gras polyinsaturé membranaire par exemple) selon la réaction :



Assez peu réactionnels, les hydroperoxydes peuvent, en présence de métaux de transition, reformer des radicaux alkoxyl et peroxy. En ce qui concerne les effets cellulaires des peroxydes lipidiques, ils sont similaires à ceux du peroxyde d'hydrogène (Halliwell et Gutteridge, 2007).

- **L'hypochlorite $^{\cdot}OCl$**

L'hypochlorite provient de la réaction entre le peroxyde d'hydrogène et l'ion chlore, réaction catalysée par une myéloperoxydase (DEATON et MARLIN, 2003).



L'hypochlorite réagit rapidement avec une grande variété de molécules biologiques telles que les protéines, les peptides, les lipides, l'ADN et divers aminoacides (Jungbluth, 2008).

- **L'ozone O_3**

La réaction de l'ozone avec plusieurs biomolécules telles que NADPH, NADH, la cystéine, l'albumine, la méthionine ou l'acide urique produit le singulet $^1O_2$ qui pourrait secondairement générer des oxydations. L'ozone est souvent considéré comme un toxique exogène mais il serait formé in vivo, chez l'homme (Halliwell et Gutteridge, 2007).

Il existe aussi d'autres composants, tous peuvent être considérés comme des espèces réactives de l'oxygène mais sont généralement regroupés sous l'appellation des espèces réactives de l'azote, il s'agit principalement du monoxyde d'azote et de ses dérivés, le dioxyde de carbone et le peroxydite (Soffler, 2007).

- L'oxyde nitrique NO^*
- Le dioxyde d'azote NO_2^*
- Le peroxydite ONOO^-

1.2.3 Les origines du stress oxydant

1.2.3.1 Généralités

Le stress oxydant peut avoir deux origines :

- une déplétion en molécules anti-oxydantes : carence nutritionnelle absolue ou relative, vieillissement cellulaire, anomalies génétiques responsables d'un mauvais codage d'une protéine enzymatique à fonction anti-oxydante, ou à l'origine de la synthèse d'un antioxydant.

- une production excessive en espèces réactives de l'oxygène :

□ Modifications de l'apport en oxygène : lors d'une montée en altitude sans acclimatation, l'hypoxie provoque une altération du fonctionnement énergétique cellulaire. Les membranes cellulaires deviennent plus fragiles et ainsi plus facilement dégradées par les radicaux libres (Grandjean, 2005). Lors de respiration artificielle, l'hyper-oxygénation entraîne une prolifération de radicaux libres (Grandjean, 2005).

□ Substances à actions pro-oxydantes : pesticides, fumées, radiations, ultraviolets, métaux lourds.

□ Activation excessive des systèmes de production naturelle de radicaux libres lors de maladies cardio-vasculaires, de cataracte, de syndromes inflammatoires chroniques ou de proliférations tumorales.

1.2.3.2. Les sources de production d'espèces réactives de l'oxygène

Les sources de production d'espèces réactives de l'oxygène sont nombreuses :

1.2.3.2.1 La chaîne respiratoire mitochondriale

La mitochondrie constitue la principale source d'ATP, nécessaire au métabolisme des animaux. Les mitochondries sont des organites intracellulaires caractérisés par une double

membrane. Leur nombre varie d'un type cellulaire à l'autre et au sein même d'une cellule, en fonction de son âge et de son activité. Au cours de la glycolyse et du cycle de Krebs, il y a production de coenzymes réduits (NADH et CoQH₂). « La finalité » de la chaîne respiratoire est de ré-oxyder ces coenzymes en aérobiose au niveau des crêtes de la membrane interne mitochondriale grâce à un ensemble complexe de protéines membranaires (Figure 15). Cette ré-oxydation s'accompagne de la création d'un gradient transmembranaire de protons. Ce gradient est une forme de stockage de l'énergie contenue dans les coenzymes, qui dérive elle-même de l'énergie contenue dans les molécules dégradées au cours du catabolisme. Le gradient de protons va servir à fabriquer l'ATP. Ce mécanisme est appelé phosphorylation oxydative.

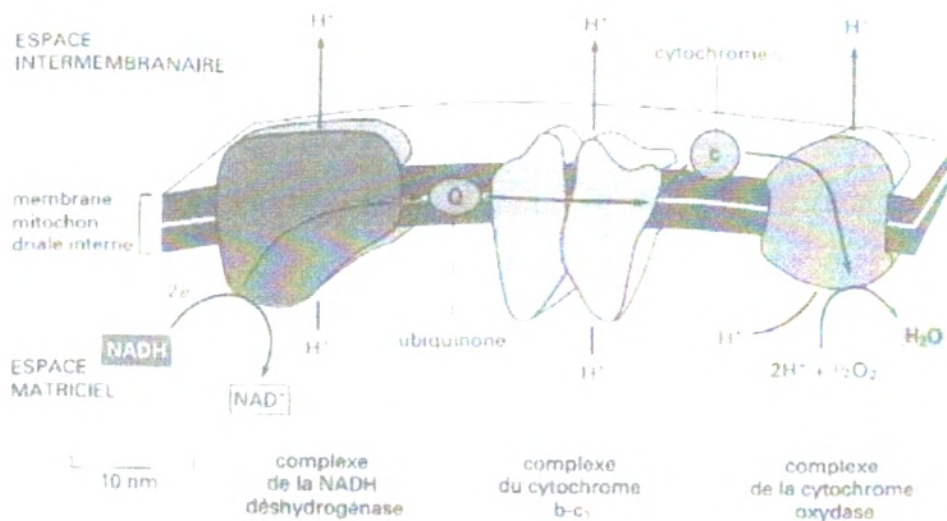


Figure 1.10 : Le transfert d'électrons à travers les trois complexes enzymatiques respiratoires de la membrane mitochondriale interne (D'après ALBERTS et al., 1999)

Il existe deux sites de production d'espèces réactives de l'oxygène au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale : les complexes I et III. La production d'anions superoxydes au sein de la chaîne fait intervenir, entre autres, l'ubiquinone selon la réaction exposée plus haut. Les radicaux superoxydes peuvent être libérés de part et d'autre de la membrane mitochondriale interne et peuvent atteindre le cytosol en passant par une porine. Ils sont généralement rapidement transformés en peroxyde d'hydrogène par dismutation (Jungbluth, 2008). Le complexe IV ne semble pas générer d'espèces réactives de l'oxygène. Plusieurs autres enzymes mitochondriales n'appartenant pas à la chaîne respiratoire sont également capables de produire des espèces réactives de l'oxygène (Jungbluth, 2008).

1.2.3.2.2 Transporteurs d'électrons, métaux de transition et production d'espèces réactives de l'oxygène

De nombreuses molécules d'importance biologique évidente sont oxydées par l'oxygène et sont à l'origine d'une production d'ion superoxyde. Il s'agit de l'adrénaline, de la noradrénaline, du glycéraldéhyde, du FADH₂, du FMNH₂, de la dopamine, des composés thiols tels que la cystéine ou encore la dihydrophénylalanine. L'importance de ces autooxydations est considérablement amplifiée par l'intervention de métaux de transition, dont le manganèse, le fer et le cuivre. Il serait fort possible que toutes ces auto-oxydations soient, en réalité, catalysées par des métaux de transition (Halliwell, Gutteridge, 2007).

1.2.4 Le Rôle du stress oxydatif dans le développement des maladies chroniques

La génération d'espèces réactives de l'oxygène et d'autres radicaux libres au cours du métabolisme cellulaire est un processus normal et nécessaire qui est idéalement compensé par un système antioxydant endogène élaboré. Toutefois, en raison de différentes situations environnementales et pathologiques ainsi que certaines habitudes de vie, un excès de radicaux libres peut s'accumuler, résultant à un stress oxydatif (Willcox et al., 2004). La conséquence majeure de ce dernier est le dommage qu'il cause aux bases des acides nucléiques, aux lipides et aux protéines, lequel peut sévèrement compromettre la santé et la viabilité d'une cellule ou induire une variété de réponses cellulaires par la génération d'espèces réactives secondaires et ultimement, mener à la mort cellulaire par nécrose ou par apoptose. Un dommage oxydatif à une seule de ces biomolécules peut, théoriquement,

contribuer au développement d'une maladie (Dalle-Donne et al., 2006). Une quantité croissante d'évidences scientifiques suggère que le stress oxydatif soit relié aux mécanismes pathophysiologiques primaires ou secondaires d'une multitude de maladies chroniques et aiguës. Cette relation est appuyée par des expérimentations qui ont démontré, *in vitro*, qu'il était possible de créer un processus dégénératif par le stress oxydatif (Willcox et al., 2004).

1.2.5 Stress oxydant et diabète

La corrélation entre stress oxydant et diabète semble bien établie chez l'homme. En effet, il est admis que des concentrations élevées en glucose dans les milieux extra- et intracellulaires induisent un stress oxydant (Gardes-Albert et al., 2003). Un stress oxydant a été mis en évidence dans le diabète expérimental chez l'animal. La relation entre des

concentrations élevées en glucose et l'existence d'un stress oxydant a pu être mise en évidence sur des cellules en culture (cellules endothéliales d'aorte d'origine bovine). Plusieurs mécanismes semblent impliqués dans la survenue d'un stress oxydant en présence de concentrations élevées en glucose : l'auto-oxydation du glucose, la glycation des protéines et la voie des polyols. La plupart des études rapportent des taux plasmatiques en TBARS plus élevés chez les patients diabétiques de type 1 (DT1) comparativement à une population normoglycémique. Toutefois, l'intensité de ce stress semble dépendre du type de diabète et du contrôle de l'équilibre glycémique (Delattre *et al.*, 1999).

1.2.6 Marqueurs du stress oxydant et diabète

Trois types de marqueurs sont classiquement utilisés pour évaluer un stress oxydant. Ce sont : les marqueurs de la peroxydation lipidique, le pouvoir anti-oxydant du plasma et les systèmes de défense anti-oxydants.

1.2.6.1 Les marqueurs de la peroxydation lipidique

La mesure des radicaux libres est difficile à cause de leur haute réactivité, de leur demi-vie extrêmement courte et de leur très faible concentration. C'est la raison pour laquelle on fait appel à des marqueurs indirects qui permettent d'évaluer les produits secondaires de la peroxydation lipidique comme les substances aldéhydiques réagissant avec l'acide thiobarbiturique (TBARS), les hydroperoxydes et les diènes conjugués. Le dosage de TBARS, facile à mettre en œuvre, est très utilisé, mais il manque de spécificité (Lefevre *et al.*, 1998). La plupart des études rapportent des taux plasmatiques en TBARS plus élevés chez les patients diabétiques de type 1 comparativement à une population normoglycémique (Gallou *et al.*, 1994) (Greismacher *et al.*, 1995). On a essayé de préciser si le diabète, l'équilibre glycémique et la présence de complications cardiovasculaires peuvent modifier les valeurs de ce marqueur. Griesmacher *et al.* (1995) ont mis en évidence que les diabétiques de type 2 avaient des taux plasmatiques en TBARS significativement plus élevés que les diabétiques de type 1. Les diabétiques ayant un bon contrôle de leur équilibre glycémique ($HbA1c < 6,5 \%$) ont des valeurs plasmatiques en TBARS plus basses que ceux dont le contrôle de l'équilibre glycémique est moins bon ($HbA1c > 6,5 \%$). Cette augmentation de la peroxydation lipidique, dans le plasma, a été également retrouvée dans les membranes érythrocytaires et les membranes des leucocytes des diabétiques (Vijayalingam *et al.*, 1996) (Akkus *et al.*, 1996). L'augmentation de la peroxydation lipidique dans le plasma des diabétiques a été confirmée en faisant appel à un autre marqueur : les hydroperoxydes. En

effet, les valeurs de ce marqueur sont également augmentées dans les deux types de diabète (Nourooz-Zadeh *et al.*, 1995).

1.2.6.2 Pouvoir anti-oxydant total du plasma

Le plasma contient un grand nombre de substances douées d'un pouvoir anti-oxydant ; elles sont d'ailleurs présentes à des concentrations extrêmement variables. On peut les classer en trois catégories : les chélateurs de métaux comme la transferrine et la céruloplasmine qui s'opposent à la phase d'initiation de la production de radicaux libres oxygénés ; les capteurs de radicaux libres qui agissent sur la phase de propagation de la peroxydation lipidique ; il s'agit des vitamines E et C, du glutathion réduit, de l'acide urique, de la bilirubine et de certaines protéines comme la sérumalbumine ; les enzymes anti-oxydantes comme la superoxyde dismutase et la glutathion peroxydase. Toutefois, leur activité dans le plasma est faible et leur importance à ce niveau est toute relative (Brasseur *et al.*, 1995).

Des méthodes ont été développées pour mesurer le pouvoir anti-oxydant total du plasma (total peroxyl radical trapping antioxidant parameter). Elles sont faciles à mettre en œuvre et sont commercialisées (total antioxidant status, Laboratoire Randox). Leur principe est basé sur la propriété que possède le plasma de diminuer l'absorbance à 660 nm d'un radical cationique produit par l'action d'une peroxydase sur le 2,2' azino-di-(3-éthylbenzothiazolidine sulfonate) en présence de peroxyde d'hydrogène (Brasseur *et al.*, 1995). La plupart des études, effectuées chez des diabétiques de type 1 mettent en évidence une diminution significative du pouvoir antioxydant total du plasma (Cerellio *et al.*, 1997 ; Tsai *et al.*, 1994). Il est intéressant de souligner que, lors d'une épreuve d'hyperglycémie par voie orale, Cerellio *et al.* ont observé, chez les patients diabétiques de type 1 et chez les sujets normoglycémiques, une diminution du pouvoir anti-oxydant total du plasma au cours de l'épreuve. Pour ces auteurs, l'hyperglycémie, même sous forme aiguë, peut induire un stress oxydant (Cerellio *et al.*, 1998).

1.2.6.2 Les systèmes de défense anti-oxydants

Les études ont porté à la fois sur les systèmes de défense non enzymatiques et enzymatiques. Parmi les systèmes non enzymatiques, la plupart des travaux ont été réalisés sur la vitamine E, anti-oxydant liposoluble véhiculé par les lipoprotéines dans le plasma, et ont été effectués à la fois dans le diabète expérimental et dans le diabète humain (Tribe et Poston, 1996). Dans le diabète expérimental du rat induit par la streptozotocine, il a été observé une augmentation de la concentration en vitamine E à la fois dans le plasma et dans

les organes des animaux (foie et cœur) (Tribe et Poston, 1996). Les investigations menées sur des patients diabétiques ont donné lieu à des résultats très hétérogènes. En effet, selon les auteurs, les taux plasmatiques de vitamine E peuvent être inchangés, augmentés ou diminués et ce, indépendamment du type de diabète (Hughes *et al.*, 1998). Ces divergences peuvent être dues au mode d'interprétation des résultats ; en effet, il n'est pas systématiquement tenu compte du taux de lipides circulants dans l'interprétation de la concentration plasmatique de la vitamine E. Cette hétérogénéité de résultats a été également retrouvée au niveau des éléments figurés du sang. Ainsi Kunisaki *et al.* (2006) font mention d'un taux de vitamine E abaissé dans les plaquettes de diabétiques de type 1 alors que Caye-Vaugien *et al.* (2006) trouvent des valeurs inchangées de vitamine E à la fois dans les plaquettes et les érythrocytes de patients diabétiques de type 1.

La vitamine C a également fait l'objet de plusieurs investigations chez l'animal et chez l'homme. On sait le rôle important que joue cette substance anti-oxydante puisqu'elle permet la régénération de la vitamine E à partir du radical α -tocophéroxyl (Kagan *et al.*, 1992). On retrouve les divergences observées avec la vitamine E. Enfin, des travaux consacrés à l'estimation du taux cellulaire du glutathion suggèrent que celui-ci est abaissé à la fois dans les modèles animaux de diabète et chez les patients diabétiques (Jain *et al.*, 1994).

De nombreuses études ont été consacrées à la détermination de l'activité des enzymes anti-oxydantes, et en particulier de la superoxyde dismutase. Ces déterminations ont été essentiellement effectuées sur les érythrocytes. Les résultats obtenus sont très discordants (Tribe et Poston, 1996). Ainsi, l'activité de la superoxyde dismutase érythrocytaire a été trouvée soit inchangée, soit augmentée, soit diminuée chez les patients diabétiques de type 1. Par ailleurs, il a été rapporté, chez des patients diabétiques mal équilibrés, que la superoxyde dismutase érythrocytaire présente un taux de glycation élevé avec, comme conséquence, une perte de l'activité de l'enzyme (Aria *et al.*, 2007). L'activité érythrocytaire de l'enzyme est inchangée ou abaissée dans le diabète de type 1 (Tribe et Poston, 1996).

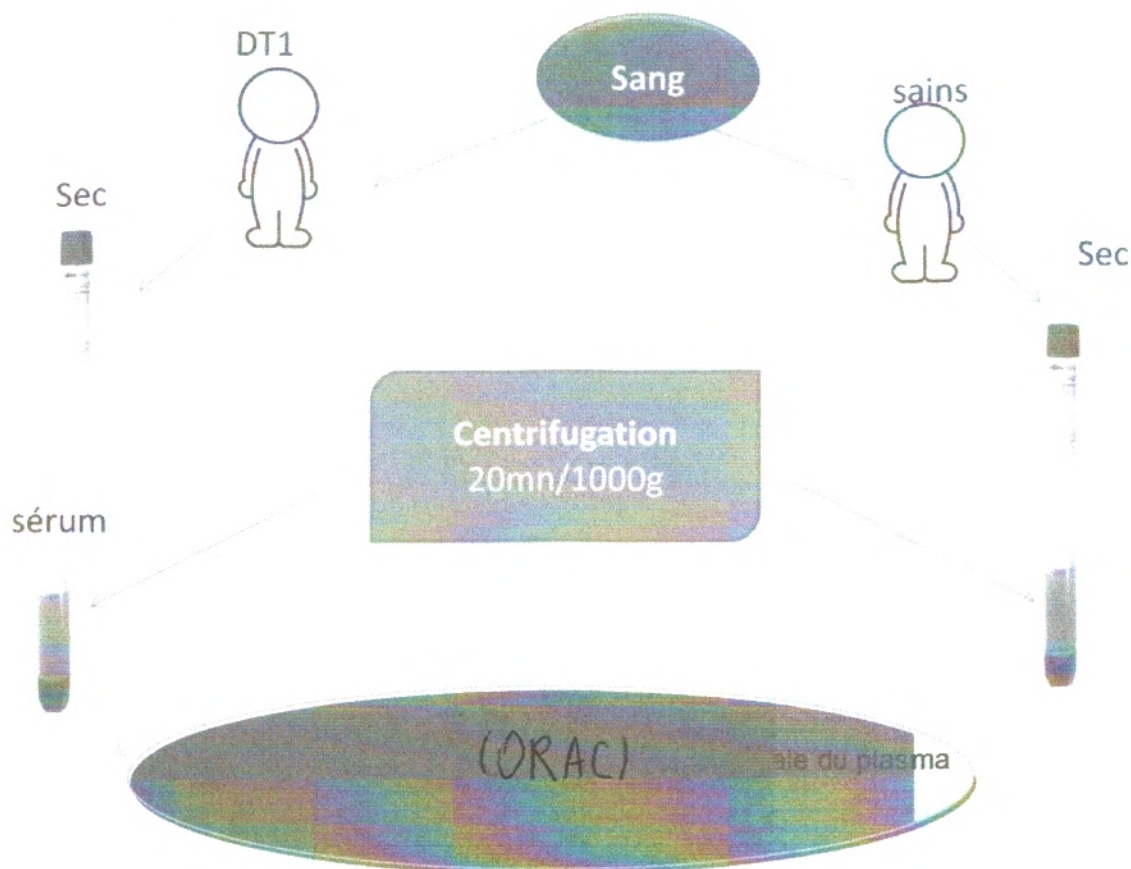
Chapitre 2. Matériels et méthodes :

2.1 Population étudiée

La population étudiée a été composée de 15 enfants et adolescents atteints de DT1 inaugurale (8 garçons, 7 filles ; âge 12.87 ± 1.21 ans), hospitalisés au service de pédiatrie de E.S.H de Tlemcen et d'autres cas ambulatoires à la polyclinique de SIDI SHAKER, d'ABOU TACHFINE et de CHETOUANE de Tlemcen et 15 contrôles (9 garçons, 6 filles ; âge 13.39 ± 0.51). Aucun prélèvement et questionnaire n'a été effectué sans consentement parentale signé au préalable. Le questionnaire englobe plusieurs questions posées au patients et a leurs parents comprenait des données démographique, la date de diagnostique, l'aspect physique, et les habitudes alimentaires.

2.2 Prélèvements sanguins

Les prélèvements du sang ont été réalisés le matin à jeun, au niveau de la veine du pli du coude et d'autre au niveau de la veine jugulaire. Le sang a été collecté dans des tubes secs codifiés préalablement. Les tubes ont été centrifugés après chaque prélèvement à 3000 tours/min, pendant 15 mn. Le surnageant ont été transférés dans des tubes Eppendorf, puis conservés à température de -20°C au sein du laboratoire de Biologie Moléculaire Appliqué et d'Immunologie.



2.3 Détermination de la capacité anti-oxydante totale dans le plasma (ORAC)

Le pouvoir antioxydant total du plasma, c'est sa capacité à absorber les radicaux oxygènes libre, il est estimé par la capacité des hématies à résister à l'hémolyse par les radicaux libre in vitro en présence du plasma selon la méthode de BLANCHE et PROST (1992). Cette méthode est basée sur le suivi en fonction du temps de l'hémolyse des globules rouges induite par un générateur de radicaux libres. Son principe consiste à suivre l'hémolyse des hématies en fonction du temps et par mesure de la densité optique, dans le but d'évaluer le taux de protection des cellules, assurée par tous le arsenal enzymatiques et le système chimiques, responsables de la défense antioxydante dans l'échantillon.

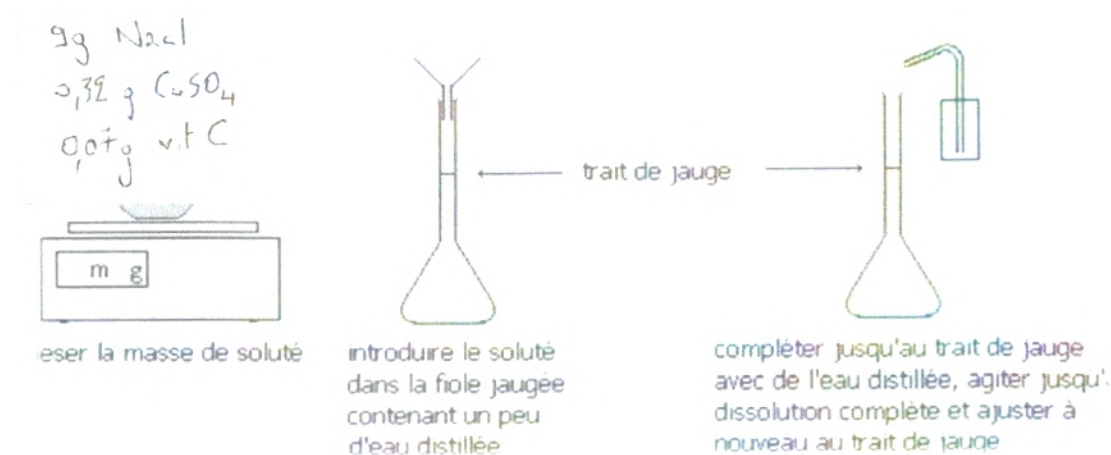
Il s'agit de soumettre une suspension d'hématies à une agression radicalaire dans des conditions strictement contrôlées et standardisées. Tous les systèmes enzymatiques et chimiques de l'échantillon se mobilisent pour protéger l'intégrité des cellules jusqu'à leur lyse. Ainsi l'hémolyse se fait graduellement en fonction du temps, la mesure, toutes les 5 minutes, de l'augmentation de l'absorbance à 450 nm permet de suivre la cinétique de l'hémolyse.

2.3.1 Solutions à préparer

Eau physiologique: 9g de chlorure de sodium (NaCl) dans 1 litre d'eau distillée.

Solution de CuSO_4 à 2mM: 0.32g de CuSO_4 dans 1 litre d'eau distillée.

Solution d'acide ascorbique à 400 μM : 0.07g d'acide ascorbique dans 1 litre d'eau distillée.



2.3.2 Mode Opératoire :

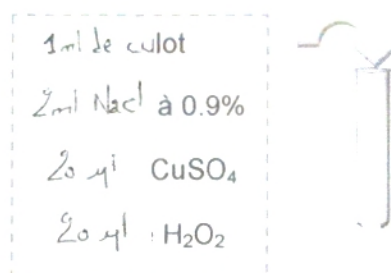
- **Préparation du Blanc :**

→ 1ml de culot (globules rouges), provenant d'un donneur sain, du groupement "O", le prélèvement à été fait le jour même de l'expérience au niveau du centre de transfusion sanguine (CTS au niveau du CHU de Tlemcen).

→ 2ml d'eau physiologique.

→ 20 μ l de CuSO_4 .

→ 20 μ l de H_2O_2 à 30%.



- **Préparation de l'ETALON :**

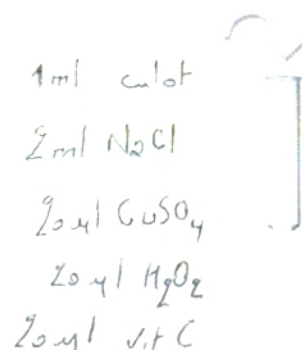
→ 1ml de culot (globules rouges), provenant d'un donneur sain, du groupement "O", le prélèvement à été fait le jour même de l'expérience au niveau du centre de transfusion sanguine (CTS au niveau du CHU de Tlemcen).

→ 2ml d'eau physiologique.

→ 20 μ l de CuSO_4

→ 20 μ l de H_2O_2 à 30%.

→ 20 μ l d'acide ascorbique à 400 μ .



Préparation de L'ECHANTILLON

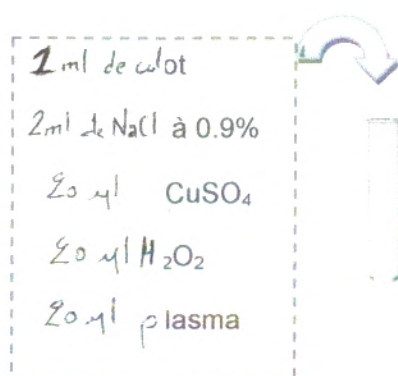
→ 1ml de culot (globules rouges), provenant d'un donneur sain, du groupement "O", le prélèvement à été fait le jour même de l'expérience au niveau du centre de transfusion sanguine (CTS au niveau du CHU de Tlemcen).

→ 2ml d'eau physiologique.

→ 20 µl de plasma.

→ 20 µl de CuSO₄

→ 20 µl de H₂O₂ à 30%.



Chaque tube est homogénéisé délicatement, incubé pendant 5mn à température ambiante et centrifugé à 2000 t/mn pendant 5minutes.

Le surnageant est récupéré et sa densité optique est lu à 450nm, ce dernier va être récupéré dans le tube de départ, mélangé et incubé pendant 10mn à température ambiante, la centrifugation et la lecture se font toutes les 10mn (9fois).

L'ORAC de chaque échantillon est calculé de la façon suivante :

$$\text{ORAC échantillon} = \text{moyenne (DO}_{\text{blanc}} - \text{DO}_{\text{échantillon}}) / \text{moyenne (DO}_{\text{blanc}} - \text{DO}_{\text{étalon}})$$

2.4 Analyse statistique

Les moyennes ont été comparées a l'aide du test-t de soudent. Les analyses statistiques ont été effectuées grâce au logiciels SPSS pour Windows (Version 16.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) et Epi Info 2000, Version 1. Pour Windows 95, 98, NT ; et 2000) (Epi Info, Atlanta, Georgia, USA). Les données ont été présentées sous forme de valeurs $\pm$ erreur standard de la moyenne. Les valeurs $p < 0.05$ et $p < 0.01$ ont été respectivement considérées comme statistiquement significatives et hautement significative.

Chapitre 3. Résultats et interprétations

3.1 Caractéristiques des patients et témoins

Comme indiqué au tableau 3.1, il n'y a pas de différence significative entre les patients et les contrôles en ce qui concerne le sexe, l'âge, le poids, la taille et l'IMC ($p > 0.05$).

Tableau 3.1. Caractéristiques des patients et témoins

Variable	Patients n=15 $\bar{X} \pm ES$	Contrôles n=15 $\bar{X} \pm ES$	<i>p</i>
Age (an)	11.2 $\pm$ 3.13	12 $\pm$ 2.60	0.621
Sexe (M/F)	8/7	6/9	0.578
Poids (kg)	52.6 $\pm$ 11.16	43.87 $\pm$ 8.42	0.190
Taille (m)	1.42 $\pm$ 10.04	1.42 $\pm$ 9.56	0.94
IMC (kg/m ²)	25.79 $\pm$ 0.8	21.53 $\pm$ 0.62	0.248

Les valeurs sont présentées sous forme de moyenne ($\bar{X}$) $\pm$ erreur standard (ES). IMC : indice de masse corporelle, M : masculin, F : féminin.

3.2 Mesure de l'ORAC :

Nous notons une diminution hautement significative de l'activité antioxydante totale chez les diabétiques de type 1 par rapport aux témoins ($p < 0,01$, $p < 0,05$).

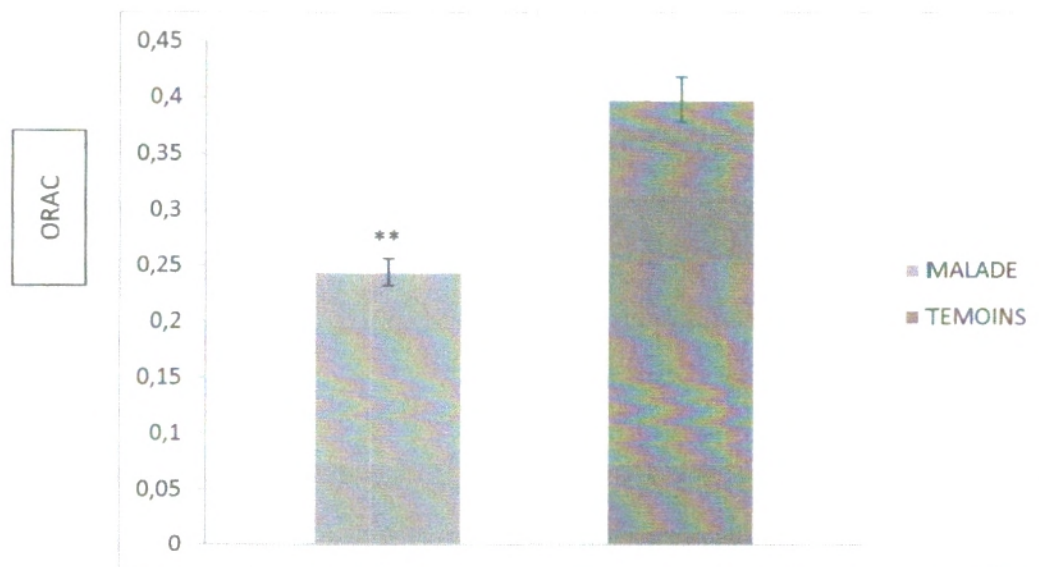


Figure 3.1 Pouvoir antioxydant totales chez les patients atteints de diabète de type 1 et chez les sujets contrôles. Les données sont présentées sous forme de moyenne ($\bar{X}$) $\pm$ erreur standard (ES), ORAC: capacité antioxydante totale (TAC/ORAC, oxygen radical absorbance capacity)

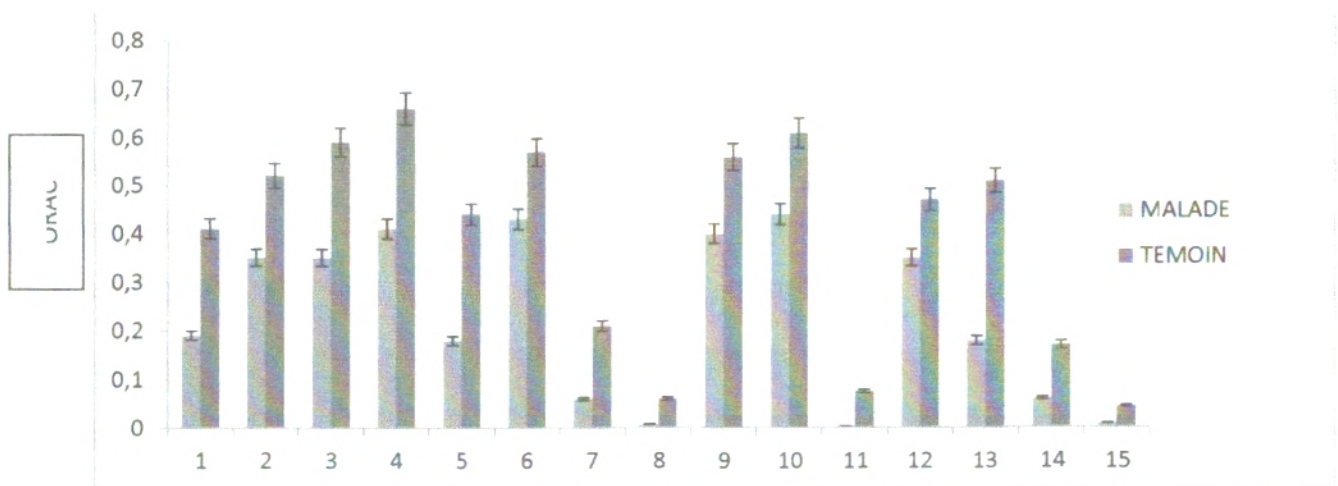


Figure 3.2 Capacité antioxydante totales chez les patients atteints de diabète de type 1 et chez les sujets contrôles.

Chapitre 4. Discussion

Le DT1, est une maladie auto-immune chronique caractérisée par la destruction progressive et sélective des cellules β pancréatique, qui entraîne une carence profonde en insuline (ADA, 2012). Le DT1 résulte dans la plupart du temps de l'interaction entre les facteurs génétiques et environnementaux (Aribi, 2008), à savoir que la nutrition et les infections jouent un rôle essentiel dans la manifestation de cette pathologie (Knips *et al.*, 2010 ; Noris, 2010).

Il est maintenant admis que des concentrations élevées de glucose dans les milieux extra et intracellulaires induisent un stress oxydant défini comme un déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et anti-oxydants (Giugliano *et al.*, 1996).

Le stress oxydatif est un processus par lequel les facteurs de l'environnement surchargent les systèmes de régulation d'un individu et perturbent son état d'adaptation (Bruyere, 1991). C'est un déséquilibre de la balance oxydants-antioxydants en faveur des oxydants (Atamer *et al.*, 2008). La cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques appelés radicaux libres. Ce phénomène est alors néfaste, notamment pour les membranes biologiques (Grandjean, 2005). La génération d'espèces réactives de l'oxygène et d'autres radicaux libres au cours du métabolisme cellulaire est un processus normal et nécessaire qui est idéalement compensé par un système antioxydant endogène élaboré. Toutefois, en raison de différentes situations environnementales et pathologiques ainsi que certaines habitudes de vie, un excès de radicaux libres peut s'accumuler, résultant à un stress oxydatif (Willcox *et al.*, 2004). La plupart des signaux extracellulaires et pro-inflammatoires qui activent la cascade du NF- κ B, (*nuclear factor-kappa B*) stimulent la production des espèces oxygénées actives et la peroxydation des lipides qui apparaissent comme le second messenger de cette stimulation extracellulaire (Forceville *et al.*, 2008).

En effet, un dommage oxydatif peut, théoriquement, contribuer au développement d'une maladie (Dalle-Donne *et al.*, 2006). Une quantité croissante d'évidences scientifiques suggère que le stress oxydatif soit relié aux mécanismes pathophysiologiques primaires ou secondaires d'une multitude de maladies auto immunes. Cette relation est appuyée par des expérimentations qui ont démontré, *in vitro*, qu'il était possible de créer un processus dégénératif par le stress oxydatif (Willcox *et al.*, 2004).

Il a été également rapporté que le plasma contient un grand nombre de substances douées d'un pouvoir anti-oxydant ; elles sont d'ailleurs présentes à des concentrations extrêmement variables. Toutefois, leur activité dans le plasma est faible et leur importance à ce niveau est

toute relative (Brasseur *et al.*, 1995). Les études ont porté à la fois sur les systèmes de défense non enzymatiques et enzymatiques. Parmi les systèmes non enzymatiques, la plupart des travaux ont été réalisés sur la vitamine E, anti-oxydant liposoluble véhiculé par les lipoprotéines dans le plasma, et ont été effectués à la fois dans le diabète expérimental et dans le diabète humain (Tribe et Poston, 1996). Ainsi Kunisaki *et al.* (2006) font mention d'un taux de vitamine E abaissé dans les plaquettes de diabétiques de type 1.

La corrélation entre stress oxydant et diabète semble bien établie chez l'homme. En effet, il est admis que des concentrations élevées en glucose dans les milieux extra- et intracellulaires induisent un stress oxydant (Gardes-Albert *et al.*, 2003). Un stress oxydant a été mis en évidence dans le diabète expérimental chez l'animal. La relation entre des concentrations élevées en glucose et l'existence d'un stress oxydant a pu être mise en évidence sur des cellules en culture (cellules endothéliales d'aorte d'origine bovine). La plupart des études rapportent des taux plasmatiques en TBARS plus élevés chez les patients diabétiques de type 1 (DT1) comparativement à une population normoglycémique. Toutefois, l'intensité de ce stress semble dépendre du type de diabète et du contrôle de l'équilibre glycémique (Delattre *et al.*, 1999).

Weissmann (2004) a mis en évidence que l'expression d'une diminution de l'activité antioxydante (superoxyde dismutase, glutathione peroxidase, catalase) peut induire un stress oxydatif, ce qui, à son tour, engendre une destruction des tissus, une réaction inflammatoire, mais plus encore, il peut causer le déclenchement d'une pathologie auto-immune (Afonso *et al.*, 2007).

Hartnett *et al.* (2000) se sont intéressés à l'étude des espèces radicalaires de l'oxygène, soit le superoxyde dismutase et le glutathion peroxydase chez les patients Diabétiques. Dont la fraction de ces deux radicaux était trop élevée, de ce fait Ils ont pu montrer une corrélation positive entre le stress oxydatif et les personnes atteintes de diabètes de type 1.

Yoshida *et al.* (2007) ont comparé l'activité antioxydante entre les patients atteints de diabète et ceux atteints de l'uvéite. Ils ont démontré que la capacité antioxydante est plus faible chez les patients PDR que l'uvéite.

Des études faites par Raffaele Mancino *et al.* (2011) ont montré que l'activité antioxydante était significativement basse chez les diabétiques avec une rétinopathie proliférante par rapport à celle des contrôles, le niveau de Malondialdéhyde plasmatique (MDA) qui est un marqueur de l'oxydation des lipides était significativement plus élevés que celui trouvé chez

les témoins non diabétiques. Il souligne l'implication probable du stress oxydatif et la peroxydation des lipides dans la progression de la rétinopathie diabétique. Des études ont montré que le pouvoir antioxydant total du plasma ORAC est réduit chez les patients diabétiques (Merzouk *et al.*, 2004). Toutefois, la réduction des valeurs ORAC de sang sont fortement associés à un mauvais contrôle de la glycémie (Thérond *et al.*, 2011). Le diabète de type 1 se caractérise donc par la diminution des capacités antioxydantes et par l'augmentation des niveaux d'oxydation (Raffaele *et al.*, 2011).

Ceci est cohérent, étant donné que ces résultats sont en accord avec les résultats de mon étude, qui révèlent que l'activité antioxydante totale chez les diabétiques de type 1 est significativement plus basse que chez les contrôles. Ceci peut être expliqué par plusieurs mécanismes qui semblent être impliqués dans la survenue d'un stress oxydant en présence de concentrations élevées en glucose : l'auto-oxydation du glucose, la glycation des protéines et la voie des polyols.

Plus les valeurs ORAC sont élevées, plus les substances peuvent intercepter un grand nombre de radicaux libres, et par conséquent moins est le stress oxydatif.

Par le biais de cette étude, on peut suspecter la présence d'une anomalie au niveau du système de défense antioxydante chez les patients atteint de diabète de type 1.

À l'heure actuelle, l'attention de la communauté scientifique se porte plus particulièrement sur deux espèces radicalaires primaires, directement générées par des systèmes enzymatiques membranaires ou intracellulaires, et fréquemment rencontrés dans les maladies auto immunes : le monoxyde d'azote et l'anion superoxyde. L'identification de ces espèces reste malheureusement toujours problématique en raison de l'instabilité de ces composés et de leur taux de libération très bas. L'utilisation de la résonance paramagnétique électronique peut donc permettre la mise en évidence directe sans ambiguïté de ces espèces radicalaires. Toutefois, la demi-vie très brève et les temps de relaxation trop courts du monoxyde d'azote et de l'anion superoxyde ne permettent pas leur étude dans les milieux biologiques sans la présence d'artifices permettant leur stabilisation. Ainsi, une meilleure connaissance de la localisation des sites de production, de leurs sphères d'activité et des incidences directes sur les structures cellulaires impose une avancée des outils techniques dans le domaine de l'étude des espèces radicalaires (Courderot-Masuyer *et al.*, 2012).

Chapitre 5. Conclusion et perspectives

Le DT1 est considéré comme une maladie multifactorielle qui combine à la fois entre les facteurs génétiques et environnementaux. Cependant, des concentrations élevées de glucose dans les milieux extra et intracellulaires induisent un stress oxydant défini comme un déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et anti-oxydants.

L'étude que nous avons entreprise montre ainsi que les diabétiques de type 1 ont une faible capacité antioxydante plasmatique totale, comparé à celle des contrôles.

Il serait donc très intéressant de réaliser des études plus approfondies sur la thérapie antioxydante et le diabète de type 1, en faisant de la supplémentation en anti-oxydants, comme thérapeutique d'appoint, qui pourrait se révéler d'un grand intérêt ; elle permettrait de retarder la survenue des complications du diabète de type 1 ou d'en ralentir l'évolution.

Chapitre 6. Bibliographie

A

American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*, 2012; 35; 64-71.

ABUJA P., ALBERTINI R., Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins, *Clinica Chimica Acta*, 2001, 1 -17.

Afonso, V. et al. 2007. Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases. *Joint Bone Spine* 74: 324–329.

Akkus I, Kalak S, Vural H, et al. Leukocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and serum and leukocyte vitamin C levels of patients with type II diabetes mellitus. *Clin Chim Acta*, 1996 ; 244 : 221-7.

ALBERTS, BRAY, JOHNSON, LEWIS, RAFF, ROBERTS, WALTER, L'essentiel de la biologie cellulaire, Introduction à la biologie moléculaire de la cellule, 1999, Paris, Flammarion.

Anderson MS, Bluestone JA. The NOD mouse: a model of immune dysregulation Diabetes Center, University of California, *Annu Rev Immunol*. 2005;23:447-85.

Appleman Lj, Berezovskaya A, Grass I, Boussiotis Va.:CD28 Costimulation Mediates T cell expansion via IL-2-Independent and IL-2-dependent regulation of cell cycle progression. *J Immunol*, 2000; 164: 144–51.

Aria K, Iizuka S, Tada Y, Oikawa L, Taniguchi N. Increase in the glucosylated form of the erythrocyte Cu-Zn-superoxide dismutase in diabetes and close association of the non-enzymatic glucosylation with the enzyme activity. *Biochim Biophys Acta*, 2007 ; 924 : 292-6.

Aribi M, Moulessehouli S, Benabadji AB, Kendoucitani M. HLA DR phenotypic frequencies and genetic risk of Type 1 diabetes in west region of Algeria, Tlemcen. *BMC Genet*, 2004 Aug 24;5:24.

Aribi Mourad. Candidate genes implicated in type 1 diabetes susceptibility. *Curr Diabetes Rev*, 2008 May; 4:110-21.

Arvan P, Pietropaolo M, Ostrov D, Rhodes CJ. Islet autoantigens: structure, function, localization, and regulation. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2012; 2: 1-20.

Atamer A, Bilici A, Yenice N, Selek S, Ilhan N & Atamer Y. The importance of paraoxonase 1 activity, nitric oxide and lipid peroxidation in hepatosteatosis. *J Int Med Res*. 2008; 36: 771-776.

B

BACH Jean-François et CHATENOUX Lucienne. *immunologie. de la biologie à la clinique*, Ed. MÉDECINE SCIENCES PUBLICATIONS, LAVOISIER. 2014; p 469.

Barrett JC, Clayton DG, Concannon P, Akolkar B, Cooper JD, Erlich HA, Julier C, Morahan G, Nerup J, Nierras C, Plagnol V, Pociot F, Schuilenburg H, Smyth DJ, Stevens H, Todd JA, Walker NM, Rich SS; Type 1 Diabetes Genetics Consortium. Genome-wide association study and meta-analysis find that over 40 loci affect risk of type 1 diabetes, 2009; 4: 703-7.

Bingley PJ, Thewissen SL. What is type 1 diabetes?. *Medicine*, 2010; 38: 592–596.

Boudiba Aissa, Mimouni-Zerguini Safia. Improving care and prevention for people with diabetes in Algeria. *diabetes voice*, 2008; 53: 19-21.

Bouhours-Nouet N, Coutant R. Aspect clinique et diagnostique du diabète de l'enfant. EMC-Pédiatrie, 2011.

Brasseur L, Thérond P, Legrand A. Pouvoir antioxydant total du plasma. *Act Pharm Biol Clin* 1995 ; 8 : 239-44.

BRUYERE H., Physiopathologie des affections dues au stress chez le chien de sport, Recueil de médecine vétérinaire spécial chien de sport, juillet aout 1991, 635 – 643.

C

Cai CQ, Zhang T, Breslin MB, Giraud M, Lan MS. Both polymorphic variable number of tandem repeats and autoimmune regulator modulate differential expression of insulin in human thymic epithelial cells. *Diabetes*, 2011; 60: 336-44.

Caye-Vaugien C, Krempf M, Lamarche P, Charbonnel B, Pieri J. Determination of alpha-tocopherol in plasma, platelets and erythrocytes of type I and type II diabetic patients by higher performance liquid chromatography. *Int J Vitam Nutr Res*, 2006 ; 60 : 324-30.

Cerellio A, Bortolotti N, Crescentini A. Antioxidant defences are reduced during the oral glucose tolerance test in normal and non-insulin-dependent diabetic subjects. *Eur J Clin Invest*, 1998 ; 28 : 329-33.

Cerellio A, Bortolotti N, Pirisi M, et al. Total plasma anti-oxidant capacity predicts thrombosis-prone status in NIDDM patients. *Diabetes Care*, 1997 ; 20 : 1589-93.

Cerellio A, dello Russo P, Amstad P, Cerutti P. High glucose induces antioxidant enzymes in human endothelial cells in culture. Evidence linking hyperglycemia and oxidative stress. *Diabetes*, 1996 ; 45 : 471-7.

CHANDAN K. SEN, Oxidants and antioxidants in exercise, *Journal of applied physiology*, 1995, 79 (3), 675 – 86.

Chevenne D., Porquet D. Génétique et critères diagnostiques du diabète sucré, *Annales de Biologie Clinique*. Service de biochimie-hormonologie, Hôpital Robert-Debré, 1999; 57: 215-229.

Conrad B., Weissmahr R.N., Boni J., Arcari R., Schupbach J, Mach B. A human endogenous retroviral superantigen as candidate autoimmune gene in type I diabetes. *Cell*, 1997; 90: 303-13.

Costantino C.M., Baecher-Allan C.M., Hafler DA. Human regulatory T cells and autoimmunity. *Eur J Immunol*, 2008; 38: 921-4.

Courderot-Masuyer C, Lahet JJ, Verges B, Brun JM and Rochette L. Ascorbyl free radical release in diabetic patients. *Cell Mol Biol*. 2012 ; 46(8) : 1397-401.

D

Dahlquist G., Blom L., Tuvemo T. The Swedish childhood diabetes study. Results from a nine year case register and a one year case-referent study indicating that type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus is associated with both type 2 (non insuline-dependent) diabetes mellitus and auto-immune disorders. *Diabetologia*. 1989 ;32 :2-6.

Dahlquist G. Can we slow the rising incidence of childhood onset autoimmune diabetes? The over load hypothesis. *Diabetologia*. 2006; 49: 20-24.

Dalle-Donne I., Rossi R., Colombo R., Giustarini D. & Milzani A. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem* 52, 601-623.

DEATON C.M., MARLIN D.J., Exercise-associated oxidative stress, *Clinical Techniques in Equine Practice*, Vol. 2, N°3, septembre 2003, 278 – 291.

DELATTRE J., BONNEFONT-ROUSSELOT D., BORDAS-FONFREDRE M., Diabète Epidemiology Reserch International Group. Geographic patterns of chidhood insulin dependent diabetes mellitus. *Diabetes*. 1988;37:1113-1119.

Dubois-Laforgue Danièle. Etiologie et physiopathologie du diabète de type 1. *EMC-Pediaterie*, 2007. 10-366-C-10.

Dubois-Laforgue Danièle. Progrès physiopathologiques dans le diabète de type 1. *La revue du praticien*, 2010; 16: 161-169.

E

Eisenbarth G., Ziegler A., Colman P. Pathogenesis of insulindependent (type 1) diabetes mellitus. In: Kahn C., Weir G., editors. Joslin's diabetes mellitus. Philadelphia: Lea and Febiger; 1994. p. 216-39.

Élodie Gauche, Stress oxydant, complémentation nutritionnelle en antioxydants et exercice, *Sciences et motricité*, N°58, 2006 :43-66.

F

Fagot-Campagna A., Pettitt D., Engelgau M.M. Type 2 diabetes among North American children and adolescent : an epidemiologic review and a public health perspective. *JPediatr.* 2000;136:664-672.

Favier A. Annales de Biologie Clinique. *Jhon libbey*. Volume 55, Numéro 1, 9-16, Janvier - Février 1997.

Finaud J., Lac G. & Filaire E. Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sports Med.* 2006 ;36 : 327-358.

Forceville X, Van Antwerpen P. Composés sélénés et sélénium, quelle place en réanimation?. *Réanimation.* 2008;17:442-453.

Fujinami R.S., von Herrath M.G., Christen U., Whitton J.L. Molecular mimicry, bystander activation, or viral persistence: infections and autoimmune disease. *Clin Microbiol Rev*, 2006; 19: 80–94.

G

Gallou G., Ruelland A., Campion L. Increase in thiobarbituric acid reactive substances and vascular complications in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab*, 1994 ; 20 : 258-64.

GARDES-ALBERT M., BONNEFONT-ROUSSELOT D., ABEDINZADEH Z., JORE D., Espèces réactives de l'oxygène. Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? *L'actualité chimique*, 2003, 91-96.

Ginsberg-Fellner F, Witt ME, Yagihashi S, Dobersen MJ, Taub F, Fedun B, McEvoy RC, Roman SH, Davies TF, Cooper LZ, Rubinstein P, Notkins AL. Congenital rubella syndrome as a model for Type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus: increased prevalence of islet cell surface antibodies. *Diabetologia*, 1984; 27: 87–9.

Giugliano D., Ceriello A. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care*, 1996 ; 19 : 257-67

GRANDJEAN D., Stress oxydatif cellulaire chez le chien de recherche-sauvetage, *Pratique vétérinaire des animaux de compagnie*, mars 2005, n°14, 3 – 6.

Green A., Gale E.A., Patterson C.C. Incidence of childhood-onset insulin-dependent diabète en Europe mellitus : the EURODIAB ACE Study. *Lancet*. 1992;339:905-909.

Greismacher A., Kindhauser M., Andert S.E. Enhanced serum levels of thiobarbituric-acid reactive substances in diabetes mellitus. *Am J Med*, 1995 ; 98 : 469-75.

Grimaldi A., dir. «Traité de Diabétologie.» 2e éd. Médecine-Sciences, 2009 ; 32-46.

H

HALLIWELL B., GUTTERIDGE J.M.C., Free radicals in biology and medicine, Fourth Edition, New York, *Oxford University Press*, 2007, 851 p.

Hänninen A., Jalkanen S., Salmi M., Toikkanen S., Nikolakaros G., Simell O. Macrophages, T cell receptor usage, and endothelial cell activation in the pancreas at the onset of insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest*, 1992; 90: 1901–1910.

Hartnett ME, Stratton RD, Browne RW, Rosner BA, Lanham RJ, Armstrong D. Serum markers of oxidative stress and severity of diabetic retinopathy. *Diabetes care*. 2000;23(2):234-240

Harris S.S. Vitamin D in type 1 diabetes prevention. *J Nutr*, 2005; 135: 323-25.

Hermann R., Laine A.P., Veijola R., Vahlberg T., Simell S., Lahde J., Simell O., Knip M., Ilonen J. The effect of HLA class ii, insulin and ctla4 gene regions on the development of humoral beta cell autoimmunity. *Diabetologia*, 2005; 48: 1766-75.

Hughes K., Choo M., Kuperan P., Ong C.N., Aw T.C. Cardiovascular risk factors in non-diabetic controls : a population-based survey among Asians in Singapore. *Atherosclerosis*, 1998 ; 136 : 25-31.

Hyttinen V., Kaprio J., Kinnunen L., Koskenvuo M., Tuomilehto J. Genetic liability of type 1 diabetes and the onset age among 22,650 young Finnish twin pairs: a nationwide follow-up study. *Diabetes*. 2003; 52: 1052-5.

I

IDF Diabetes Atlas, Fifth edition. Brussels: International Diabetes Federation, 2011. www.idf.org.

J

Jahromi M.M., Millward B.A., Demaine A.G. Significant correlation between association of polymorphism in codon 10 of transforming growth factor-beta1 T (29) C with type 1 diabetes and patients with nephropathy disorder. *J Interferon Cytokine Res*, 2010; 30: 59-66.

Jäidane H. , Hober D . Role of coxsackievirus B4 in the pathogenesis of type 1 diabetes. *diabetes metab*, 2008; 34: 537-548.

Jain SK, McVie R. Effect of glycemic control, race (white versus black) and duration of diabetes on reduced glutathione content in erythrocytes of diabetic patients. *Metabolism*, 1994 ; 43 : 306-9.

JAUDON M. C., Diabète sucré et stress oxydant, *Annales de Biologie Clinique*, Juillet-Aout 1999, Volume 57, 4, 437-444.

Jenson A.B. Rosenberg HS, Notkins AL. Pancreatic islet-cell damage in children with fatal viral infections. *Lancet*, 1980; 2: 354-8.

JUNGBLUTH G., Les espèces réactives de l'oxygène et leurs principales implications dans la physiopathologie, Thèse de Médecine Vétérinaire, Lyon, 2008, 143p.

K

Kagan V.E., Serbinova E.A., Forte T., Scita G., Packer L. Recycling of vitamin E in human low density lipoproteins. *J Lipid Res*, 1992 ; 33 : 385-97.

Karvonen M., Viik-Kajander M., Moltchanova E., Libman I., LaPorte R., Tuomilehto J. Incidence of childhood type 1 diabetes worldwide. Diabetes Mondiale (DiaMond) Project Group. *Diabetes Care*, 2000; 23: 1516-26.

Knip M. «Can we predict type 1 diabetes in the general population?..» *DiabetesCare*, 2002; 25(3):623-5.

Knip Mikael. Environmental triggers and determinants of beta-cell autoimmunity and Type 1 diabetes. *Rev Endocr Metab Disord*, 2003; 4: 213-223

Knip M., Veijola R., Virtanen S.M., Hyöty H., Vaarala O., Akerblom H.K.«Environmental triggers and determinants of type 1 diabetes». *Diabetes*, 2005; 54 Suppl 2:S125-36.

Knip M., Siljander H. Autoimmune mechanisms in type 1 diabetes. *Autoimmun Rev*, 2008; 7: 550-7.

Knip M., Virtanen S.M., Seppä K., Ilonen J., Savilahti E., Vaarala O., Reunanen A., Teramo K., Hämäläinen A.M., Paronen J., Dosch H.M., Hakulinen T., Akerblom H.K. Dietary intervention in infancy and later signs of beta-cell autoimmunity. *N Engl J Med*, 2010; 363: 1900-8.

Kunisaki M., Umeda F., Inoguchi T., Watanabe J., Nawata H. Effects of vitamin E administration in diabetes mellitus. *Diabetes Res*, 2006; 14 : 37-42.

L

Lefevre G., Beljean-Leymarie M., Beyerle F. Évaluation de la peroxydation lipidique par le dosage des substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique. *Ann Biol Clin*, 1998 ; 56 : 305-19.

M

Merzouk S, Hichami A, Sari A, Madani S, Merzouk H, Yahia Berrouiguet A, Lenoir Rousseaux JJ, Chabane-Sari N, Khan NA. Impaired oxidant/antioxidant status and LDL-fatty acid composition are associated with increased susceptibility to peroxidation of LDL in diabetic patients. *Gen Physiol Biophys* 2004; 23:387-99.

Micha J. Rapoportab, Tzvi Bistrizerc, Dorit Aharonia, Mordechai Weissa, Yoram Ramota, Andreas Buchsa b, Konstantin Blochd, Pnina Vard. TH1/TH2 cytokine secretion of first degree relatives of T1DM patients. *Cytokine*, 2005; 30 : 219-227.

Moussavou A., Ategbo S., Vierin Nzame Y., Mavoungou S., Baye E. difficulté de la prise en charge du diabète de l'enfant au sud de Sahara : cas du Gabon. *Elsevier Masson*, 2009; 16: 868-869.

Munakata Y, Kodera T, Saito T, Sasaki T. Rheumatoid arthritis, type 1 diabetes, and Graves' disease after acute parvovirus B19 infection. *Lancet*, 2005; 2: 366-780.

N

Norris J.M. Infant and childhood diet and type 1 diabetes risk: recent advances and prospects. *Curr Diab Rep*, 2010; 10: 345-9.

Nourooz-Zadeh J., Tajaddini-Sarmadi J., McCarthy S., Betteridge D.J., Wolff S.P. Elevated levels of authentic plasma hydroperoxides in NIDDM. *Diabetes* 1995 ; 44 : 1054-8

O

OHIA S.E., OPERE C.A., LeDAY A.M. Pharmacological consequences of oxidative stress in ocular tissues, *Mutation Research*, 579, 2005, 22 -36.

P

Patterson C.C., Dahlquist G.G., Gyürüs E., Green A., Soltész G. Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989-2003 and IDF Diabetes Atlas, Fifth edition. Brussels: International Diabetes Federation, 2011. www.idf.org/predicted-new-cases-2005-20: a multicentre prospective registration study. *Lancet*, 2009; 373:2027-33.

Peng H., Hagopian W.. Environmental factors in the development of Type 1 diabetes. *Rev Endocr Metab Disord*, 2006; 7: 149-62.

R

Rabinovitch A., Suarez-Pinzon W.L. Roles of cytokines in the pathogenesis and therapy of type 1 diabetes. *Cell Biochem Biophys*, 2007; 48: 159-63.

Raffaele Mancino, Donato Di Pierro, Chiara Varesi, Angelica Cerulli, Alessandra Feraco,2 Claudio Cedrone,Maria Dolores Pinazo-Duran, Massimiliano Coletta,* Carlo Nucci. Lipid peroxidation and total antioxidant capacity in vitreous, aqueous humor, and blood samples from patients with diabetic retinopathy, *Molecular Vision*. 2011; 17:1298-1304.

Rodier M. Le diabète de type 1. *Médecine Nucléaire - Imagerie fonctionnelle et métabolique*. 2001; 25-2.

Roivainen M., Rasilainen S., Ylipaasto P., Nissinen R., Ustinov J., Bouwens L., Eizirik D.L., Hovi T., Otonkoski T. Mechanisms of coxsackievirus-induced damage to human pancreatic beta-cells. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000; 85: 432–40.

Ryba Monika, Natalia Marek , ukasz Hak , Karolina Rybarczyk-Kapturska , Małgorzata Mys'liwiec , Piotr Trzonkowski , Jolanta Mys'liwska. Anti-TNF rescue CD4+Foxp3+ regulatory T cells in patients with type 1 diabetes from effects mediated by TNF.cytokine, 2011; 55: 353-361.

S

Sakaguchi S. Regulatory T cells: key controllers of immunologic selftolerance. *Cell*, 2009; 101: 455–458.

Simon D. , Fagot-Campaga A. , Eschwege E. , Blkau B. Diabète : définition, dépistage et épidémiologie. In : Grimaldi A, dir. Traité de diabétologie. Paris: Flammarion ; 2009. P. 10.

SOFFLER C., Oxidative stress, *Veterinary Clinics Equine Practice* 23, 2007, 135 – 157

Soltesz G., Patterson C.C., Dahlquist G., EURODIAB Study Group. Worldwide childhoodtype 1 diabetes incidence – what can we learn from epidemiology? *Pediatr Diabetes*, 2007; 8: 6–14.

STEVEN C., Antioxidants in veterinary nutrition, *Veterinary Clinics Small Animal Practice* 36, 2006, 1183 – 1198.

T

Tang Q., Henriksen K.J., Boden E.K., Tooley A.J., Ye J, Subudhi S.K., Zheng X.X., Strom T.B., Bluestone J.A.CD28 controls peripheral homeostasis of CD4+ CD25+ regulatory T cells. *J. Immunol*, 2003; 171: 3348-52.

TEDDY Study Group. The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY) study: study design. *Pediatr Diabetes*, 2007; 8: 286–98.

Thérond P, Bonnefont-Rousselot D, Davit-Spraul A, Conti M, Legrand A. Biomarkers of oxidative stress: an analytical approach. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2000; 3:373-84.

Thrower S.L., Bingley P.J. Prevention of type 1 diabetes. *Br Med Bull*, 2011; 99: 73-88.

Tremellen K. Oxidative stress and male infertility--a clinical perspective. *Hum Reprod Update*.2008 ; 14 : 243-258.

Tribe R.M., Poston L. Oxidative stress and lipids in diabetes : a role in endothelium vasodilator dysfunction ? *Vasc Med* ,1996 ; 1 : 195-206.

Tsai E.C., Hirsch I.B.,Brunzell J.D., Chait A. Reduced plasma peroxy radical trapping capacity and increased susceptibility of LDL to oxidation in poorly controlled IDDM. *Diabetes*, 1994 ; 43 : 1010-4.

U

Undlien, D.E., Hamaguchi, K., Kimura, A. Type 1 diabetes susceptibility associated with polymorphism in the insulin gene region: a study of blacks, Caucasians, and orientals. *Diabetologia*, 1994. 37: 745-749.

V

Vaarala O., Paronen J., Otonkoski T., Akerblom H.K. Cow milk feeding induces antibodies to insulin in children—a link between cow milk and insulin-dependent diabetes mellitus?. *Scand J Immunol*, 1998; 47: 131-5.

Valko M., Rhodes C.I., Moncol, Izakovic M. & Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* .2006 :160 ; 1-40.

Vijayalingam S., Parthiban A., Shanmugasundaram K., Mohan V. Abnormal antioxidant status in impaired glucose tolerance and noninsulin-dependent diabetes mellitus. *Diab Med*, 1996 ; 13 : 715-9.

W

Weissmann, G. 2004. Pathogenesis of rheumatoid arthritis. *J. Clin. Rheumatol*. 10: S26.

Willcox IK, Ash SL & Catignani GL (2004) Antioxidants and prevention of chronic disease. *CrU Rev Food Sei Nutr* 44, 275-295.

Winter WE, Schatz DA. Autoimmune markers in diabetes. *Clinical chemistry*, 2011 ; 57: 168-175.

Woo PC, Lau SK, Tsoi HW, Chan KH, Wong BH, Che XY, Tam VK, Tam SC, Cheng VC, Hung IF, Wong SS, Zheng BJ, Guan Y, Yuen KY. Relative rates of non-pneumonic SARS coronavirus infection and SARS coronavirus pneumonia. *Lancet*. 2004 Mar 13;363(9412):841-5.

Y

Yasumoto N., Hara M., Kitamoto Y., Nakayama M., Sato T. Cytomegalovirus infection associated with acute pancreatitis, rhabdomyolysis and renal failure. *Intern Med*, 1992; 31: 426–30.

Yoshida Y, Yamagishi S, Matsui T, Nakamura K, Imaizumi T, Yoshimura K, Yamakawa R. Positive correlation of pigment epitheliumderived factor and total antioxidant capacity in aqueous humour of patients with uveitis and proliferative diabetic retinopathy. 2007; 91(9):1133-1134

Yoon J.W., Jun H.S., Santamaria P. Cellular and molecular mechanisms for the initiation and progression of beta cell destruction resulting from the collaboration between macrophages and T cells. *Autoimmunity*.1998; 27: 109-122.

Yoon J.w., Jun H.s. Autoimmune Destruction of Pancreatic Beta Cells. *Am J Ther*, 2005; 12: 580-91.

Z

Zou Y., Qian Z.I., Li Y., Kim M.M., Lee S.H. & Kim S.K. Antioxidant Effects of Phlorotannins Isolated from *Ishige okamurae* in Free Radical Mediated Oxidative Systems. *J Agric Food Chem*, 2008:47-51.

Annexe 1



Laboratoire de recherche n°51. Biologie Moléculaire Appliquée et immunologie, Université de Tlemcen
(Directeur, Pr. M. ARIBI)
Polyclinique ABOU TACHFINE Tlemcen

Recherche fondamentale sur le diabète de type 1. *Activité antioxydante chez les personnes atteintes du DT1.*

Investigateurs principaux :

Professeur ARIBI Mourad, PhD, Dr. Hab.

Dr MAHI A.

Consentement éclairé

Je soussigné(e),

Mr/Mme/Mlle

Né (e) le :

Demeurant à :

Autorise le Médecin coordinateur de la polyclinique Abou Tachfine Tlemcen Dr MAHI A.

- (i) à me recruter en tant que patient (e) éligible dans son étude sur le diabète de type 1,
- (ii) à effectuer des prélèvements sanguins périphériques, et (iii) à communiquer et publier les résultats obtenus.

Signature du patient/parent/tuteur

Lu et approuvé

Tlemcen, le :

Annexe 2**QUESTIONNAIRE**

Date de l'enquête :

Service :

Malade : (hospitalisé)....., (ambulatoire).....

N° du dossier médical.....

1. DONNES DEMOGRAPHIQUE ET ASPECT PHYSIQUE :**1.1. DONNEES DEMOGRAPHIQUES :**

Nom :, Prénom

Sexe : (Masculin), (Féminin).....

Age :

Date & lieu de naissance :

Résidence:.....

Ethnie :

Groupe sanguin :

1.2. ASPECT PHYSIQUE :

Poids (kg) :

Taille (cm) :

Indice de masse corporelle (IMC = kg/m^2) :

Avez-vous perdu ou gagez du poids dernièrement : (oui)....., (non).....

Combien ? :

Obésité : (oui), (non).....

Troubles neurologiques (oui).....(non).....

Greffé : (oui).....(non).....

2. DIAGNOSTIQUE :**2.1. HISTOIRE DE LA MALADIE ET DIAGNOSTIQUE CLINIQUE :**

Age du diagnostique :

Symptômes précédant le diagnostique :

Acidocétose ou une réaction à l'insuline : (oui)..... ; (non).....

Date de la première injection de l'insuline :
doses et type d'insuline.....

Habitude alimentaires : (riche en glucide)....., (riche en lipides).....,
(riche en protéines).....,(équilibrée) :

Intolérance à un aliment particulier.....

Avez-vous l'habitude de sauter un repas ? (oui).....(non).....

vos habitudes alimentaires sont elles influencées par votre état physique ? (oui).....(non)....

Prenez vous des suppléments alimentaires ? (oui).....(non).....

Les quels ?

Habitez vous dans un endroit : (humide).....(ensoleillé)

Pendant combien de temps exposez vous au soleil par jour ? : 5mn 10mn.....
15mn.....30mn.....

Tabagisme : (oui).....(non).....

Alcoolisme : (oui)....., (non).....

Stress : (oui)....., (non).....

Infection : (oui)....., (non).....

Inflammation : (oui)....., (non).....

Problèmes particuliers : (oui).....(non).....

Les quels ?

2.2. HISTOIRE DU DIABETE DE TYPE 1 DANS LA FAMILLE :

Nature de la parenté : (première degré)(collatérale).....

Sexe : (masculin).....(féminin).....

État diabétique

Décédé : (oui).....(non)...

L'activité antioxydante chez les personnes atteintes de diabète de type 1
M MAHI Mohammed Nassim, Master Alimentation et Nutrition, UBA-Tlemcen, 2013

RESUME

Introduction	Le diabète de type 1 est la conséquence de la destruction spécifique des cellules β des îlots pancréatiques par un processus auto-immun.
Objectif	étudier l'activité antioxydante chez les personnes atteintes du diabète de type 1.
But	Montrer que le diabète de type 1 est impliqué dans la diminution de la défense antioxydante totale.
Matériels et méthodes	15 échantillons de plasma d'enfants diabétiques de type1 et 15 autres d'enfants sains de tranche d'âge qui varie entre 7 à 16 ans, ont été soumis aux mesures de la capacité antioxydante totale.
Résultats	une diminution hautement significative de l'activité antioxydante totale chez les diabétiques de type 1 par rapport aux témoins ($p < 0,01$, $p < 0,05$).
Conclusion	Les diabétiques de type 1 ont une faible capacité antioxydante plasmatique totale, comparé à celle des contrôles.
Mots clés	Diabète type1, Stress oxydatif, Défense antioxydante.

ABSTRACT

Introduction	Type 1 diabetes is the result of the specific destruction of β islet cells by an autoimmune process.
Objectif	Study the antioxidant activity in people with type 1 diabetes.
Aim	Show that type 1 diabetes is involved in the decrease in total antioxidant defense.
Materials and Methods	15 plasma samples of type 1 diabetic children and 15 healthy children of age group ranging between 7 and 16 years, were subjected to measurements of total antioxidant capacity.
Results	A highly significant decrease in the total antioxidant activity in type 1 diabetic patients compared to controls ($p < 0.01$, $p < 0.05$).
Conclusion	The type 1 diabetes have low total plasma antioxidant capacity, compared to the controls.
Keywords	Type1 diabetes, oxidative stress, antioxidant defense.