



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.AGR/2017

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV **Filière : Sciences Biologiques**
Spécialité : Analyses Biologiques et Biochimiques

Présenté par :

MEZRAG Houda & MOUSSOUNI Hanane

Thème

*Implication du monoxyde d'azote dans la pathogénie du
diabète de type 1*

Soutenu le : 28 / 06 / 2017

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Mlle BENSMAIL Souhila</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>présidente</i>
<i>Mme. BOUTELDJA Razika</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Mlle AIT MIMOUNE Nouara</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>

Année Universitaire : 2016/2017



Remerciement

Nous remercions notre créateur Allah, Grand et Miséricordieux, le tout puissant pour le courage qu'il nous a donnés pour mener ce travail à terme.

Nos remerciements les plus sincères et les chaleureux s'adressent :

*A notre promotrice **M^{me} BOUTELDJA Razika**, pour son professionnalisme, sa disponibilité et sa pédagogie dans son souci de prodiguer directives, orientations et conseils tout au long du parcours d'élaboration de ce travail.*

*Avec tout nos respects nous tenons à vous remercier **BENSMAIL Souhila**, d'avoir accepté de présider le jury .Nous avons eu la chance de profiter de vos connaissances et remarques pertinentes et de votre disponibilité et de votre attention que vous nous avez apportée au cours de notre travail.*

*Nos sincères remerciements à **Mlle AIT MIMOUN Nouara** d'avoir accepté d'examiner ce travail. Vous nous faites l'honneur de bien vouloir juger de notre travail*

*A Monsieur **SALEM SOFOUAN** du laboratoire du CHU ISSAD HASSANI de Beni Messous (Alger) pour toute son abnégation la plus exemplaire, son altruisme caractérisé, son dévouement des plus désintéressé et des plus marqué dans son souci de servir et d'aide d'autrui.*

Enfin, nous remercions tous les enseignants de notre cursus scolaire et universitaire (UAMOB) qui ont contribué à notre formation ainsi qu'à toutes les techniciennes du département de biologie sans exception.

Dédicaces

Je tiens à adresser mes dédicaces les plus vifs et les plus sincères à :

*Mes **PARENTS**, auxquels je dois tant, et pour lesquels tous les mots et toutes les phrases que je pourrais utilisé ne suffiraient pas pour exprimer tout ce dont je leur suis redevable.*

*Et à ma chère sœur **Zohra** et mon petit ange **Khaled**.*

*Melle **GRIM Latifa**, ma collègue, pour sa présence indéfectible à ma coté et son inquiétude partagée dans le souci de bien faire et de tendre vers le mieux faire*

*Mes chères amies **Amel, Hanane, Rania, Iman** qui restent toujours gardent une grande place dans mon cœur, qu'avec eux j'ai passé des meilleurs moments inoubliables.*

*Monsieur **Chemlal Baderdine**, pharmacien à Ain Bessem, pour toute l'aide qu'il m'a apporté durant mes cinq années d'université.*

*Tout le personnel de l'**EPSP** d'Ain Bessem pour son accueil chaleureux, l'aide, les conseils donnés.*

*Pour tous, j'invoque **DIEU TOUT PUISSANT** afin qu'IL répande Sa grâce divine, qu'Il les couvre de Sa miséricorde et Sa mansuétude et qu'Il les comble de Sa bénédiction*

Houda

Dédicaces

Avant toute chose je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donné la santé, la patience et le courage pour réaliser ce travail.

*Je dédie ce modeste travail à **mes chers parents**, qui m'avez dirigé et suivi pendant toute mes années d'étude et surtout **ma Mère Faroudja**, pour toutes tes efforts fournées, toutes tes sacrifices pour toute la confiance que vous m'avez donné afin de me motivé dans mes études et me voir satisfaite et heureuse.*

*A mon père **Mohamed** pour sa patience, sa confiance et son respect de mes choix rien au monde ne vont les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.*

Je vous offre toutes mes années d'étude ainsi que mon diplôme.

Je ne pourrai jamais oublier d'exprimer ma profonde gratitude à :

Ma grande -mère (YAYA) que dieu la garde pour nous.

Ma sœur Souad.

Mon frère amine et sa femme Joja sans oublier notre katkouta serine.

A mes chères amies Houda et Linda.

Et bien sur tous mes enseignants depuis la période de primaire jusqu'à l'université.

Hanane

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction1

Chapitre I: Revue bibliographique

I. Diabète de type1	2
1. <u>Définition</u>	2
2. <u>Aperçu historique</u>	2
3. <u>Epidémiologie de Diabète de type1</u>	3
4. <u>Fonction du pancréas</u>	4
4.1. Anatomie du pancréas.....	4
4.2. Pancréas exocrine.....	4
4.3. Pancréas endocrine.....	5
5. Facteurs déclenchant.....	6
5.1. Facteurs génétiques.....	6
5.2. Facteurs environnementaux.....	7
6. Caractéristiques physiopathologiques.....	9
6.1. Manifestations cliniques.....	9
6.2. Diagnostic.....	9

7. Mécanismes immunologiques de diabète de type1.....	10
8. Traitement.....	12
8.1. Traitement insulinique.....	12
8.2. Traitement non insulinique.....	12
II. Monoxyde d'azote.....	13
1. Généralités.....	13
2. Propriétés physico-chimiques de NO.....	13
3. Biosynthèse de monoxyde d'azote.....	14
4. Isoformes de NO synthases.....	14
5. Rôle physiologique de NO.....	15
6. Effets physiologiques de NO.....	15
7. NO et diabète de type 1.....	16

Chapitre II : matériels et Méthodes

I. Matériels.....	17
1. patients.....	17
2. Témoins.....	17
3. Matériels non biologiques.....	17
4. Prélèvements sanguins.....	18
II. Méthodes.....	19
1. Dosage de glucose sanguin	19
2. Dosage de l'hémoglobine glyquée (HbA1c)	20
3. Dosage des nitrites totaux par la méthode de « Griess » modifiée.....	22

Chapitre III: résultats et discussion

I. Résultats	23
1. Répartition des patients atteints de diabète de type 1 selon le sexe.....	23
2. Répartition des patients atteints de diabète de type 1 selon l'âge.....	24
3. Résultat de dosage de glucose sanguin.....	24
4. Etude de la relation entre la glycémie et l'HbA1c.....	25
5. Réalisation du courbe étalon pour le dosage de NO.....	26
6. Résultats de dosage des nitrites.....	26
7. Etude de la relation entre le NO et la glycémie.....	27
8. Etude de la relation entre la production de NO et le taux de l'HbA1c.....	27
II. Discussion	28
Conclusion.....	30
Références bibliographiques.....	31
Annexes	

Liste des abréviations :

AC : Anticorps

ADN : Acide désoxyribonucléique

AFD : Association française des diabétiques

Ag: Antigène

AJD : Aide aux jeunes diabétiques

BSA : Sérum Albumine Bovine

CD8 : Cluster de différenciation

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

CMV : Cytomégalovirus

CPA : Cellule présentatrice d'antigène

CTLA4 : Cytotoxic T Lymphocyte Antigen 4

DID : Diabète insulino dépendant

DND : Diabète non insulino dépendant OMS : Organisation Mondiale de la Santé

DT1 : Diabète de Type 1

FAS : Fatty Acid Synthase

GAD : Décarboxylase de l'acide glutamique

GAD : Glutamate Acide Décarboxylase

HbA1C : Hémoglobine glyquée

IAA : Anticorps Anti-Insuline

IA2 : Anticorps dirigé contre une phosphatase

ICA: Islet Cell Antibody

IDDM2 : insulin-dependent diabetes mellitus 2

IFN: Interferon

IFN- γ : Interferon-gamma

IL: Interleukin

HLA : Human Leukocyte Antigen

HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance

HPLC : Chromatographie en Phase Liquide à Haute performance

J.C : Jésus-Christ

LB : lymphocyte B

LT : lymphocyte T

NADPH : Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

NO : Oxyde nitrique

NOHA : N-hydroxy L-arginine

O2 : oxygène

PTPNR22: Protein Tyrosine Phosphatase Non receptor, type 22

TCR: T Cell Receptor

TH: T helper

TNF: Tumor Necrosis Factor

TNF de l'anglais: Tumornecrosis factor

VNTR: Variable Number of Tandem Repeat

Liste des figures

Figure	Page
<u>Figure 1: Destruction des cellules β de Langerhans</u>	01
<u>Figure 2 : Anatomie</u> du pancréas	03
Figure 3 : Schéma représentant les ilots de langerhans	05
Figure 4 : Représentation schématique des diverses étapes qui, en périphérie, au niveau de l'organe lui-même conduisent à l'activation et à la prolifération du système immunitaire et à la destruction des cellules B par les mécanismes d'auto-immunité cellulaire.	10
Figure 5: Réaction de synthèse du No à partir de la L arginine	13
Figure 6 : Analyseur biochimique semi-automatique	20
Figure 7 : Portoir à échantillons de l'analyseur D-10	20
Figure 8 : Analyseur D-10® de Bio-Rad	20
Figure 9: Répartition des patients diabétique de type 1 selon le sexe.	22
Figure 10 : Répartition des patients diabétique de type 1 selon l'âge.	23
Figure11: l'intensité de la réaction colorée au cours du dosage du glucose.	23
Figure12 : Taux de HbA1c chez les sujets diabétiques de type1 et chez des sujets sains	24
Figure 13: Corrélacion entre les valeurs de l'HbA1c et la glycémie à jeun chez les patients diabétiques de type 1	24
Figure 14 : Courbe d'étalonnage des nitrites.	25
Figure 15 : Taux des nitrites (NO ₂ -) dans le sérum des patients atteints du DT1 etchez les contrôles.	25
Figure 16 : Corrélacion entre le taux de [NO] et glycémie chez les patients diabétiques de type1	26
Figure 17 : Corrélacion entre le taux de [NO] et HbA1c chez les patients diabétiques de type1	27

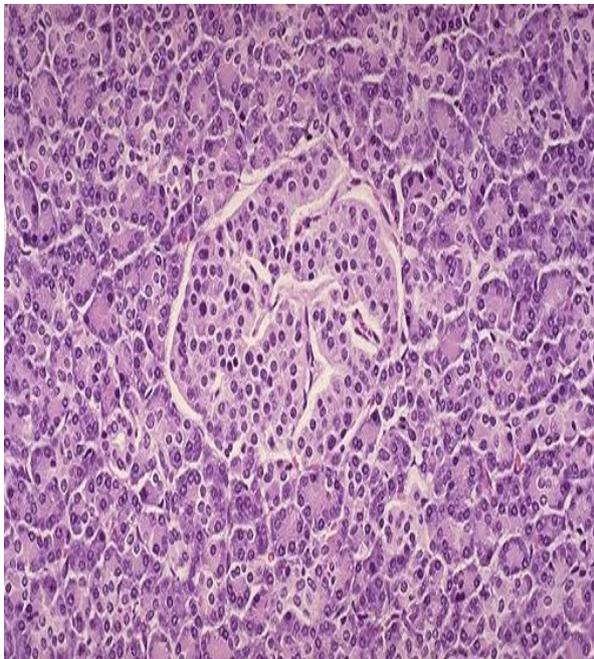
Liste des tableaux

Tableaux	Page
Tableaux I : Principaux allèles et haplotypes du système HLA de classe II prédisposant au diabète de type 1	05
Tableau II: Caractéristiques des trois types de NO-synthase humaine	14

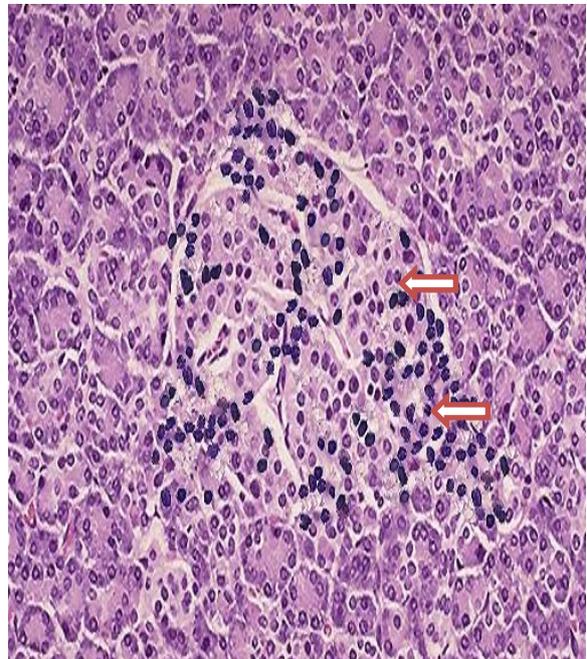
I. Diabète de type 1

1. Définition

Le diabète de type 1 est une maladie auto-immune spécifique d'organe provoquée par un dérèglement des défenses immunitaires, responsable d'une destruction active « autodestruction » des cellules β des îlots de Langerhans du pancréas (**Grimaldi, 2000**). Ces cellules sont responsables de la production de l'insuline qui est une hormone responsable de la régulation de la glycémie. Cependant, En absence d'insuline, le glucose s'accumule dans le sang au lieu d'être utilisé pour la production d'énergie.



Îlot Normal



Diabète de type 1 présence d'infiltrat lymphocytaire
Spécifique des cellules β

Figure 1: La destruction des cellules β des îlots Langerhans (Images de la Faculté d'Utha) (<http://www-medlib.med.utah.edu/WebPath>).

2. Aperçu historique

- En 250 avant J.C le terme « diabète » fut utilisé pour la première fois. Il est attribué à Démétrios d'Apnée, C'est un mot grec « diabainen » signifiant « qui passe au travers ». (**Jonathan, 2015**) ;
- Le médecin arabe Avicenne (980-1037) été un des premiers à décrire deux types de diabète différents (**Valadoux, 2008**) ;

- 1889: les Allemands Oskar Minkowski et Josef von Mehring ont montrés que l'ablation du Pancréas provoque le diabète sucré ;
- en 1916, Hopman a découvert que les ilots de Langerhans sont le site de la sécrétion Insulinique ;
- en 1921, Banting et Best, à Toronto, extraient l'insuline pour traiter un patient atteint de diabète insulino-dépendant ;
- 1955, la structure complexe de l'insuline a été identifiée par Sanger, à Chicago ;
- En 1970, le diabète type 1 est considéré comme une maladie auto-immune ;
- En 1975 la relations entre le diabète de type 1 et les gènes du système HLA sont mise en évidence ;
- En 1977 le premier dosage de l'HbA1c est mise au point.

3. L'épidémiologie du diabète du type 1

Le diabète de type 1 représente environ 10% de la population diabétique dans le monde. Chaque année 76 000 enfants de moins de 15 ans développent un DT1. En 2010, 480 000 enfants seraient atteints à l'échelle mondiale (**Gautier, 2011**).

- L'incidence du diabète infantile en Algérie est de 30 nouveaux cas pour 100.000 enfants. Le DT1 et selon les chiffres établis approximativement, on parle de 1 Million d'enfants, touchés par cette pathologie. L'incidence annuelle serait de 22% à 26% (**Mlata, 2013**).
- En Europe, l'incidence annuelle a augmenté avec une croissance moyenne de 3,2%, la croissance la plus forte a été observé dans la tranche d'âge des 0-4 ans (4,8%/an) en outre, il existe un gradient nord/sud (**Gautier, 2011**)
- En France, le DT1 touche 0,38 % de la population totale et environ 10 % des diabétiques. L'incidence est de 7,8 pour 100 000 et par an, l'augmentation est de + 4% par an surtout avant 5 ans (**Gautier, 2011**).

4. La fonction du pancréas

4.1 Anatomie du pancréas

Le pancréas est une glande amphicrine à sécrétion interne (endocrine) et à sécrétion externe (exocrine), c'est la deuxième plus grosse glande de l'organisme après le foie, par sa sécrétion interne elle produit l'insuline qui joue un rôle fondamental dans le métabolisme des sucres et par sa sécrétion externe elle produit le suc pancréatique qui intervient dans la digestion en se déversant dans le duodénum (Meyer, 1980)

C'est un organe allongé, aplatie d'avant en arrière de droite à gauche, d'une coloration rose pâle (Francis, 1965). Sa forme est très irrégulière. Son poids oscille entre 60 et 125 g. Sa longueur varie de 12 à 15 cm, son épaisseur est de 1 à 3 cm, Sa hauteur est maximale au niveau de la tête (6-8 cm) puis elle diminue régulièrement vers la queue. Il est situé entre l'estomac et la colonne vertébrale. Il est composé de quatre parties anatomiques : la tête, l'isthme, le corps et la queue.

La tête représente la partie la plus volumineuse du pancréas dont la partie intermédiaire qui se situe entre la tête et la queue est appelé **l'isthme** ou **le col**.

Le corps du pancréas est situé en avant de la jonction d'un certain nombre de vaisseaux sanguins et le sommet du pancréas représente **la queue** qui est de forme effilée et se situe près de la rate (Zoubairi, 2008).

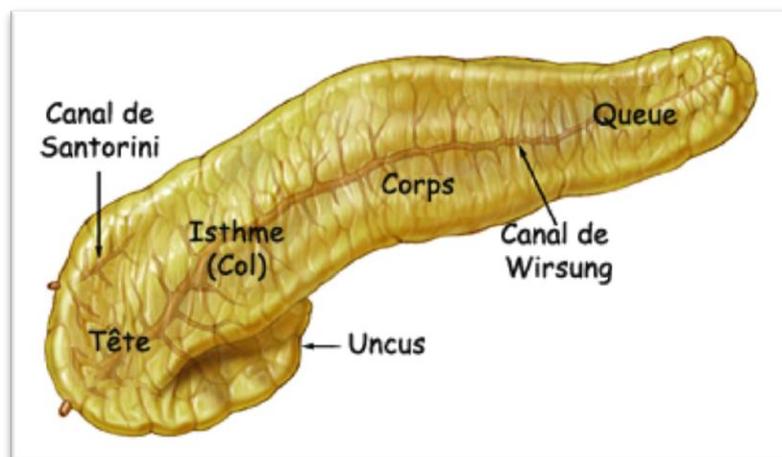


Figure 2:Anatomie du pancréas (Frank, 2011)

4.2 Pancréas exocrine

La fonction du pancréas exocrine est la sécrétion d'enzymes responsables de la dégradation des aliments en éléments simples, participant activement au processus de digestion (Lafitte,2012).

4.3 Pancréas endocrine

Le pancréas endocrine est représenté par les îlots de Langerhans, qui sont des amas de cellules dispersés dans toute la glande. Le rôle endocrine du pancréas est représenté par les quatre types cellulaires :

➤ Cellules alpha

Les cellules α représentent 15 à 20 % de l'ensemble des cellules, sont situées en périphérie de l'îlot de Langerhans, ces cellules sont responsables de la sécrétion du glucagon (**Valadoux, 2008**).

➤ Cellules Beta

Les cellules β représentent la majorité des cellules d'un îlot (60 à 80%) et sont responsables de la synthèse et de la sécrétion de l'insuline, qui est une hormone protéique hypoglycémisante qui provoque l'entrée du glucose dans les cellules et permet son utilisation. Le pancréas sécrète environ 2 mg d'insuline par jour en réponse à l'augmentation de la glycémie. L'insuline permet donc la glycogénèse au niveau du foie et l'accélération du transport du glucose sanguin vers les muscles squelettiques (**Judith, 2011**).

➤ Cellules Delta

Les cellules δ produisent la somatostatine. Ces cellules représentent seulement 5 % des cellules d'un îlot de Langerhans. La somatostatine inhibe les sécrétions endocrines et exocrines du pancréas (**Mlata, 2013**).

➤ Cellules PP

Les cellules PP sont minoritaires au sein d'un îlot de Langerhans car elles ne représentent que 1 % des cellules. Elles sont stimulées par les repas et l'exercice physique. Elles sécrètent le polypeptide pancréatique en réponse à cette stimulation. Ce peptide inhibe la sécrétion exocrine du pancréas (**Judith, 2011**).

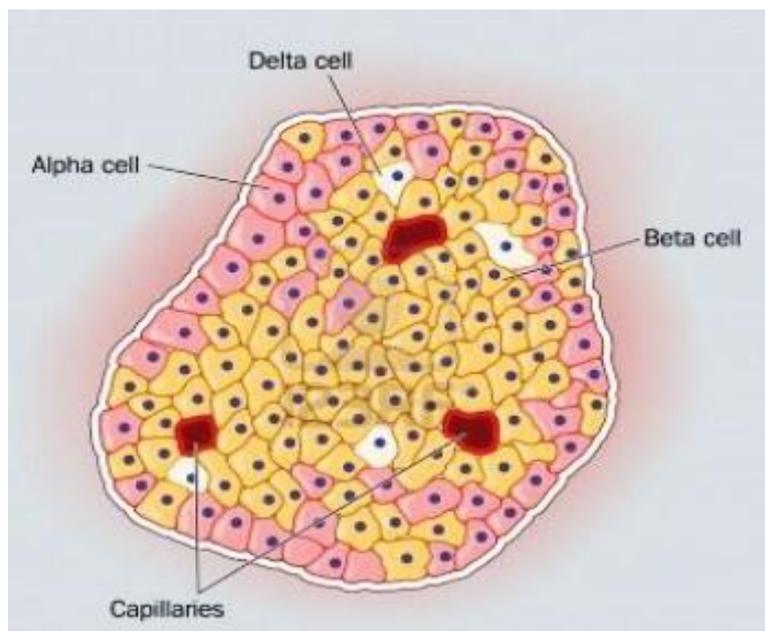


Figure 3: schéma représentant les îlots de Langerhans

(http://fr.123rf.com/photo_14192066_dessin-d-39-un-ilot-de-langerhans-du-pancreasindiquant-1-39-alpha-beta-delta-et-1-39-hormone-deu-cel.html)

5. Facteurs déclenchant

5.1 facteurs génétiques

L'existence d'un terrain génétique de susceptibilité au DT 1 est démontrée. Le déterminisme de la maladie est polygénique dont le principal système génique de prédisposition identifié est représenté par les Ag du CMH de classe II (**Khiati, 2017 ;Jean-et al., 2014**).

Tableaux I: Principaux allèles et haplotypes du système HLA de classe II prédisposant au diabète de type 1 (**Jean et al., 2014**).

HLA-DR	HLA-DQ (chaîne a)	HLA-DQ (chaîne b)
DR3	DQA1 0301	DQB1 0201
DR4	DQA1 0501	DQB1 0302

✚ Le premier est le principal gène se situe sur le bras court de chromosome 6 au niveau des gènes du système HLA de classe II, intervient pour 40 % à 50% dans la prédisposition génétique du diabète de type 1 (**Valadoux, 2008**).

- Lorsqu'il existe un Ag HLA DR3 ou DR 4 le risque relatif représente 3 à 5 %.
- Lorsque les 2 Ag DR3 et DR4 sont associés le risque relatif atteint 20 à 40%.
- ✚ Le deuxième Ag se situe sur le bras court du chromosome 11 dans la région du gène de l'insuline VNTR (**Gautier, 2011**).
- ✚ Une association du diabète de type 1 à un polymorphisme du gène de l'insuline, situé dans la région promotrice du gène, a été observée mais de manière inconstante, ce locus (IDDM2) contribuerait pour 10% à la susceptibilité (**Mlata, 2013**)
- ✚ Des polymorphismes du gène CTLA4 ont été associés à une faible augmentation du risque de diabète. CTLA4 joue un rôle dans la réponse immunitaire (**Gautier, 2011**).
- ✚ Le gène PTPN22, contribue pour 1% à la susceptibilité génétique au diabète de type 1. Il est rencontré dans des multiples maladies auto-immunes (**Jean et al., 2014**).

Il est important de connaître le risque de survenue d'un diabète insulino-dépendant dans la fratrie d'un enfant diabétique ou lorsque l'un des deux parents est diabétique pour pouvoir répondre aux questions des patients. Le risque pour une mère diabétique insulino-dépendante d'avoir un enfant diabétique est environ 2 % alors que le risque est de 4 à 5 % lorsque c'est le père qui est diabétique (**Grimaldi, 2000**).

5.2 Les facteurs environnementaux

✚ Virus

Des études permettent de penser que certaines épidémies virales (Le virus des oreillons, le virus de la rubéole, le virus Coxsackie B, le virus de la méningo-encéphalomyocardite) pourraient être à l'origine de DT 1. Certains virus pourraient présenter un Ag commun avec les protéines de cellule β (les virus Coxsackie ou CMV) (**Khiati, 2010**).

✚ Vitamine D

La vitamine D joue un rôle essentiel dans le métabolisme des os et des minéraux mais elle a aussi d'autres rôles importants dans le métabolisme du glucose et la fonction immunitaire. Les Monocytes et les cellules T activées ont des récepteurs avec une haute affinité pour la

vitamine D. Les cellules β qui synthétisent et sécrètent l'insuline sont altérées chez les animaux déficients en vitamine D (**Mlata, 2013**).

✚ Stress

Le stress conduit à la libération des facteurs hormonaux, Ces hormones stimulent la production de glucose et l'inhibition du transport et de l'utilisation périphérique du glucose. L'homéostasie du glucose est le résultat de cette balance entre hormones du catabolisme et hormones de l'anabolisme. La noradrénaline et le glucagon apparaissent d'abord pour initier la réponse au stress par une augmentation rapide de la glycémie, puis les glucocorticoïdes et l'hormone de croissance prolongent cette action pendant quelques heures (**Mlata, 2013**).

✚ L'alimentation

Plusieurs études suggèrent qu'il existe une relation entre les produits alimentaires et l'augmentation du risque du DT1 (**Khiati, 2010**).

- L'introduction précoce de protéines de lait de vache, chez des enfants génétiquement prédisposés au DT 1, pourrait constituer un facteur de risque. La protéine incriminée dans le déclenchement de ces différentes réponses est le BSA. Des anticorps anti-BSA sont produits à cause d'une consommation précoce de lait de vache et pourraient être un facteur déterminant précoce de l'augmentation de la maladie. L'insuline bovine a également été incriminé (**Valadoux, 2008**).
- L'introduction précoce de céréales dans l'alimentation de l'enfant de moins de 4 mois ou de gluten chez les enfants de moins de 3mois, semblait être un facteur de risque supplémentaire (**Gautier, 2011**).

✚ Stress oxydant

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre entre la production des radicaux libres et leur destruction par des systèmes de défenses anti-oxydantes. Les radicaux libres peuvent engendrer des dommages importants sur la structure et le métabolisme cellulaire en dégradant de nombreuses cibles : protéines, lipides et acide nucléiques (**Hamadi, 2010**).

6. Les caractéristiques physiopathologiques

Le diabète de type 1 est associé à une destruction auto-immune des cellules insulino-sécrétrices dites cellules β des îlots de langerhans au niveau du pancréas. L'hyperglycémie

apparaît lorsqu'il ne reste plus que 10 à 20 % de cellules β fonctionnelles. Les îlots sont infiltrés par des cellules mononuclées, Le processus auto-immun responsable d'une « insulite pancréatique » se déroule sur de nombreuses années (**Grimaldi, 2000**).

6.1 Manifestations cliniques

Les modes de début du diabète de type 1 sont variables mais ils restent dominés par les signes cliniques, la durée moyenne d'évolution des symptômes avant le diagnostic est de 3 semaine chez les patient de moins de 15 ans : (**Khiati, 2010**).

- Polyurie ;
- Polydipsie qui répond à la soif intense ;
- L'amaigrissement modéré au début, il peut s'accélérer brutalement et provoquer une perte de poids de plusieurs kg en quelques jours .il s'accompagne d'une asthénie physique et psychique qui se traduit par une diminution du rendement scolaire ;
- troubles visuels transitoires (anomalies de la réfraction, constatées surtout dans les Jours qui suivent la normalisation glycémique après introduction de l'insuline);
- L'énurésie est un signe qui doit tout de suite faire penser au diagnostic de diabète. (**Muller., 2014**).

6.2 Diagnostique

Le diagnostic positif du diabète est affirmé par :

- Mesure d'une glycémie à jeûne sur un plasma veineux $\geq 1,26$ g /l (7 mmol/L) contrôlée à 2 reprises. L'état de jeûne se définit par l'absence de tout apport calorique pendant les huit dernières heures.
- Mesure d'une glycémie sur un plasma veineux à n'importe quel moment de la journée ≥ 2 g/l (11,1 mmol/l) en présence de Symptômes cliniques (syndrome polyuropolydipsique avec polyphagie et Amaigrissement)
- Mesure d'une glycémie plasmatique ≥ 2 g/l (11,1 mmol/L) deux heures après l'ingestion de glucose dans le cadre d'une épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HPVO). (**Valadoux, 2008**).
- l'hémoglobine glyquée (HBA1c):

L'HBA1c marqueurs de l'équilibre glycémique est un moyen de surveillance du diabète sucré, il est utilisé comme critère diagnostique du diabète sucré dans certains pays qui utilisent une méthode de dosage standardisée HPLC qui est une méthode de référence, si HBA1c se situe entre 5,7 % - 6,5% c'est l'intolérance glucidique et s'il est $> 6,5$ % c'est un diabète)

Et le diagnostic positif du caractère insulino-dépendant de ce diabète est affirmé par les deux signes caractéristiques de l'insulinodépendance qui sont :

- un amaigrissement rapide et l'association à l'hyperglycémie d'une cétonurie importante détectée à l'aide d'une bandelette réactive (**Valadou, 2008**).
- La présence d'autoanticorps qui est un élément en faveur du diabète de type I, mais leur absence n'élimine pas le diagnostic. les principaux autoanticorps recherchés sont :
 - Les ICA présents chez 80% des enfants diabétiques au début de la maladie.
 - Les anti- Gad présents chez 80% des enfants diabétiques au début de la maladie
 - Les anti-IA 2 présents dans 38% à 51% des diabètes juvéniles au début de la maladie.
 - Les IAA, présents chez 30 à 40% des enfants diabétiques à la découverte de la maladie.

Chez l'enfant, au moins un autoanticorps est présent dans 96% des cas lors du diagnostic de diabète (**Grimaldi, 2000**).

7. Les mécanismes immunologiques du diabète de type 1

Le diabète de type 1 est lié à la destruction auto-immune des cellules bêta du pancréas. Ainsi, chez un individu présentant une prédisposition génétique et sous l'influence de facteurs environnementaux, la destruction des cellules β est médiée par les lymphocytes T auto réactifs de type Th1 qui sécrètent les IL-2 et l'IFN γ (**Lucienne, 2012**). Au contraire les lymphocytes de type Th2, Th3 et les T reg sécrètent IL-4, IL-10 et TGF β qui inhibent la production des cytokines de type Th1. 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 T reg. L'IFN γ active les macrophages quiescents, qui à leur tour libèrent l'IL1 β , le TNF α et des radicaux libres toxiques (l'oxyde nitrique NO) 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 de ces auto-antigènes liés aux molécules CMH-II en présence de cellules LT CD4+. Les cellules cytotoxiques provoquent une

destruction cellulaire par libération de perforine ou de sérines-estérases et une apoptose médiée par Fas CD95. Par ailleurs, Le rôle joué par LB dans cette destruction n'est pas neutre .c'est elle qui présente une partie de ses auto-Ag à sa membrane, s'exposant ainsi aux cellules cytotoxiques spécifiques .c'est elle aussi qui relâche dans l'environnement où ils seront captés par les CPA. Celles-ci migreront ensuite vers les ganglions où elles pourront activer et faire proliférer des clone T auto réactifs. (Grimaldi, 2009).

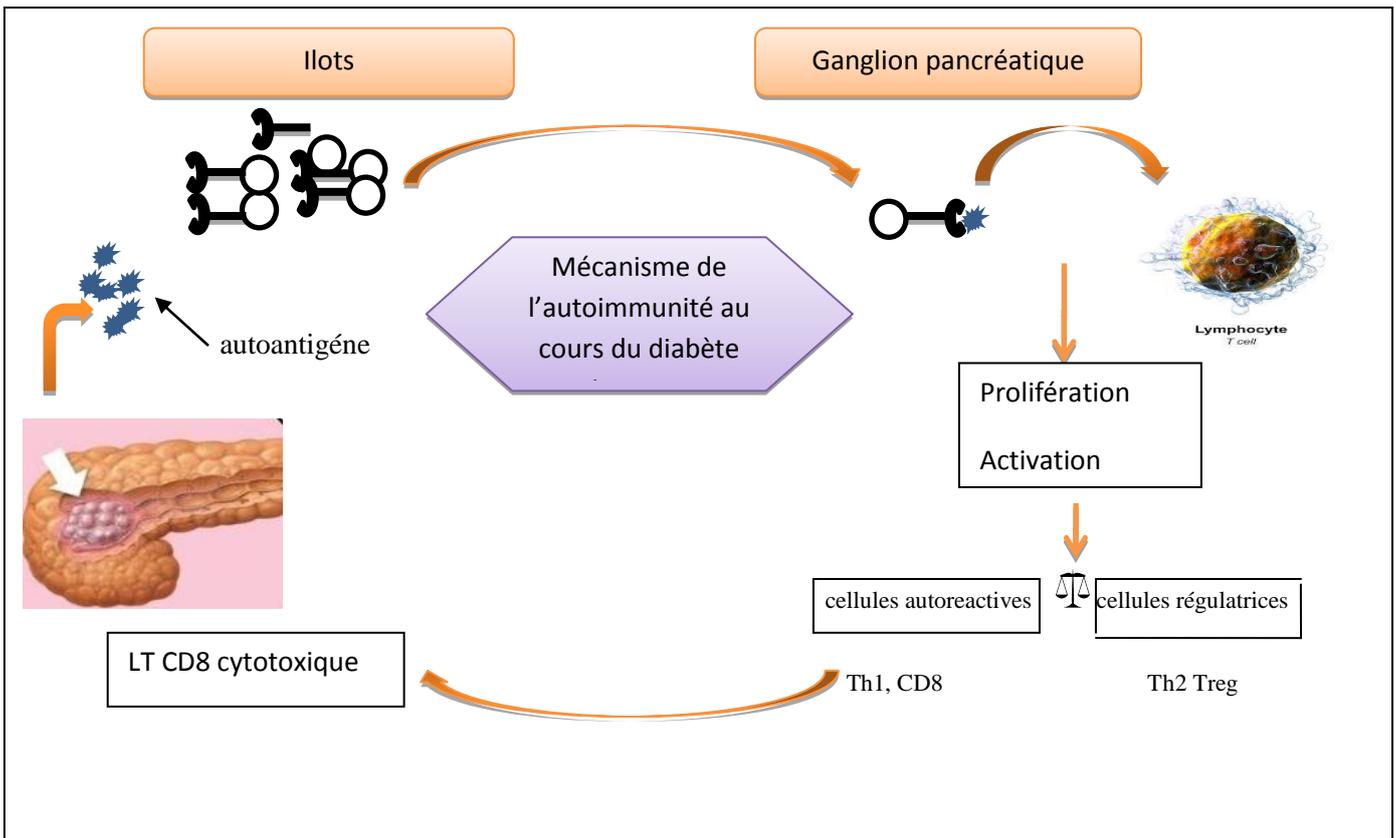


Figure 4: représentation schématique des diverses étapes qui, en périphérie, au niveau de l'organe lui-même conduisent à l'activation et à la prolifération du système immunitaire et à la destruction des cellules B par les mécanismes d'auto-immunité cellulaire (Jean et al.,2014).

8. Traitement

8.1 Traitement insulinique :

Le diabète de type 1 est la conséquence de la destruction complète des cellules bêta-pancréatiques, entraînant à terme une carence en insuline absolue. Le traitement visera donc à remplacer la sécrétion d'insuline déficiente par l'administration d'insuline exogène, et cela dès le début de l'apparition clinique de la maladie (**Gautier, 2011**).

8.2 Traitement non insulinique

8.2.1 Auto-surveillance

- Accompagnement et soutien psychologique comme pour toute maladie chronique ;
- Alimentation variée et sans interdits ;
- Les horaires et les apports glucidiques seront réguliers ;
- Exercice physique recommandé en prenant en compte le risque d'hypoglycémie ;
- Un bilan clinique est nécessaire quand il s'agit d'une reprise d'activité après une longue période d'arrêt ;
- Utilité des associations de patients pour le soutien psychologique et comme sources d'information, d'activités de groupe, de conseils juridiques (**Gautier, 2011**).

8.2.2. Greffe d'organe

Actuellement l'implantation d'organe est devenue l'un des principales voies thérapeutique utilisé pour le traitement du diabète insulino dépendant soit par :

- Greffe du pancréas ;
- Greffe d'îlots de Langerhans ;
- Recherche d'Autres sources de cellules productrices d'insuline ;
- Transformation en cellules β d'autres cellules de l'organisme (thérapie génique) (**Valadoux, 2008**).

8.2.3. Traitement immunosuppresseur

L'élaboration du concept d'immunité anti-îlot dans le diabète de type 1 conduisait logiquement depuis près de 5 ans, à des tentatives thérapeutiques immunosuppressives. Irradiation corporelle massive, traitement par le cyclophosphamide, plasmaphèreses, corticothérapie ont fait l'objet de tentatives décevantes (**Roger, 1985**).

I. Monoxyde d'azote

1. Généralités

Le monoxyde d'azote (NO) ou nitric oxide est une molécule très ancienne, présente dans la nature depuis plusieurs centaines de millions d'années (**Carolina, 2015**).

Le NO est un radical constitué d'un atome d'azote et d'un atome d'oxygène liés par une double liaison .

Le monoxyde d'azote (NO) est un messenger cellulaire impliqué dans divers Phénomènes physiologiques et pathologiques.

chez les mammifères, différents types de cellules sont capable de le produire notamment, les cellules du système immunitaire, les cellules endothéliales, les plaquettes, les leucocytes, les hépatocytes, les fibroblastes, les adipocytes et les cellules du système nerveux (**Alderton, 2001**).

Notre organisme est exposé à deux sources de NO, l'une endogène via la biosynthèse et l'autre exogène provenant de la pollution atmosphérique et des fumées de cigarettes (**Clerc, 2006**)

2. Propriétés physico-chimiques du NO

- Le NO est un radical libre ubiquitaire qui se présente sous forme gazeuse dans des conditions atmosphérique, Sa solubilité dans l'eau est comparable à la solubilité du monoxyde de carbone (CO) et de l'oxygène moléculaire (O₂) (**Laurent, 2011**).
- La charge nulle du NO le rend soluble dans les solvants apolaires (à l'intérieur des cellules et des tissus), ce qui facilite sa diffusion au travers des membranes cellulaires (**Ghafari et al., 2003**).
- Le NO a une demi-vie très courte pouvant aller de 4 jusqu'à 50 secondes (**Laurent, 2011**)
- Le NO porte un électron célibataire lui permettant de réagir avec de nombreux composés radicalaires comme l'ion superoxide et de générer des peroxy-nitrites, connu pour sa toxicité (**Bouchair, 2015**).

3. Biosynthèse du monoxyde d'azote

Le monoxyde d'azote est synthétisé biologiquement par une famille d'enzyme, les NO Synthase (NOS, EC 1.14.13.39) et nécessite de nombreux cofacteurs qui sont: la tétrahydrobioptérine (BH4), la flavine adénine dinucléotide (FAD), la flavine mononucléotide (FMN) et un noyau hème (**Raines et al., 2006**).

Le No est synthétisé à partir de L-Arginine qui est présente à forte concentration dans le sang (60 – 80 µM) et dans le milieu extracellulaire. La L-arginine est tout d'abord hydroxylée en N-hydroxy L-arginine (NOHA) en présence d'O₂ et de NADPH, puis cet intermédiaire est oxydé en L-citrulline par la réduction du NADPH induisant la libération du No (**Figure 5**).

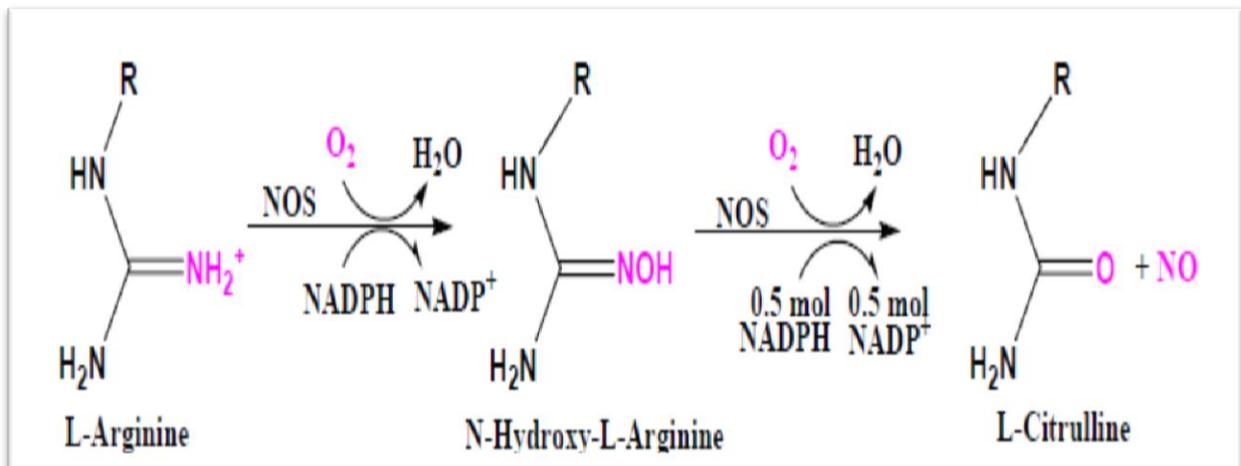


Figure 5: la réaction de synthèse du No à partir de la L arginine (**Dahboul, 2013**)

4. Isoformes de NO synthases

Trois isoformes de NOS distinctes ont été identifiées à ce jour (**tableau II**) : eNOS caractérisée initialement dans les cellules endothéliales vasculaires, nNOS découverte dans les neurones et iNOS, une forme inductible, découverte dans les macrophages. Ces NOS se différencient par leur localisation cellulaire, leur régulation, leurs propriétés catalytiques, leur sensibilité aux inhibiteurs et par leur fonctionnement (**Alderton, 2001**).

Tableau II: Caractéristiques des trois types de NO-Synthase humaine (Sennequier et al., 1998)

	NOS-I	NOS-II	NOS-III
Type	Constitutive	Inductible	Constitutive
Localisation cellulaire	Cytosol	Cytosol	Cytosol, Membrane, Mitochondries
Masse Moléculaire (kDa)	160	130	133
Localisation du gène humain	Chromosome 12, région 12q24	Chromosome 17, région 17q11.2	Chromosome 7, région 7q35-36
Activation	Augmentation de la $[Ca^{2+}]$	Expression stimulée par cytokines et/ou endotoxines	Augmentation de la $[Ca^{2+}]$

5. Rôle physiologique du NO

Le monoxyde d'azote exerce des rôles physiologiques particulièrement importants chez les mammifères. Dans des conditions physiologiques, le NO généré à faible concentration de façon régulée et transitoire par la eNOS et la nNOS, joue un rôle majeur dans l'homéostasie vasculaire et plaquettaire et dans le contrôle de l'activité neuronale et la plasticité synaptique. Le NO induit une relaxation au niveau des cellules musculaires lisses via sa diffusion à partir de l'endothélium (**Megson et al., 2002 ; Bogdan, 2002**). Dans des conditions pathologiques, le NO produit en concentration élevée par la iNOS est impliqué dans la réponse immunitaire et induit un effet cytotoxique sur les cellules bactériennes. Il provoque un stress oxydant et un stress nitrosant par l'intermédiaire d'ONOO⁻ et de N₂O₃, respectivement (**Daboul, 2013**).

6. Effet physiopathologie du NO

La stimulation de la production de NO peut également entraîner des effets délétères tels que l'hypotension artérielle, l'inhibition de métabolismes intermédiaires, l'apoptose ainsi que la production d'un radical oxydant-peroxynitrite produit de réaction du NO avec l'anion superoxyde (**Blibek, 2014**).

7. Le rôle putatif du NO au cours du diabète de type 1

Dans le diabète de type 1, Des études immunohistochimiques de pancréas provenant de rats BB prédiabétiques ou de Souris NOD traitées par cyclophosphamide révèlent l'expression de l'iNOS par les macrophages qui participent à la destruction des cellules soit par apoptose ou nécrose de la cellule bêta.

Les effets délétères des cytokines proinflammatoires sur les îlots de Langerhans de pancréas sont médiés en grande partie par les espèces réactives de l'azote (ERN) notamment le monoxyde d'azote. Le NO va activer différentes voies délétères. Des résultats ont montré que l'IL-1, INF- γ stimulent la NOS inducible des cellules intra îlots pancréatique, et l'augmentation de la production (NO) provoque la destruction des cellules β des îlots. De plus, l'augmentation du glucose intracellulaire va activer la voie des polyols et contribuer à la diminution des défenses antioxydants. **(Belaid, 2016).**

I. Matériels

1. Les Patients

L'étude a porté sur 25 patients atteints du diabète de type 1 dont l'âge est compris entre 2 et 46ans (enfants, adolescents et adultes). La pathologie a été confirmée par le dosage des autoanticorps (ICA, anti- Gad,anti-IA 2 et IAA), la glycémie et de l'hémoglobine glyquée, la chimie des urines indiquant pour certains patients une acidose. Les échantillons concernant les enfants et les adolescents ont été recueillis au niveau du service de pédiatrie du centre hôpitalo- universitaire de Beni Messous, Alger. Les échantillons des patients adultes ont été recueillis au niveau de l'établissement public de santé de proximité de Ain Bessem (**annxe1**). Les informations relatives aux patients ont été recueillies au niveau du service de pédiatrie. Les informations ont porté sur les paramètres suivants : âge, poids, taille, type de diabète et le traitement (**annexe 2**).

Le dosage des autoanticorps a été réalisé au sein du laboratoire de service d'immunologie à Beni Messouss par contre, le dosage des paramètres biochimique (glycémie et hba1c) a été réalisé dans un laboratoire biochimique à Beni Messous et à l'EPHP de Ain Bassam. Cependant, les nitrites totaux ont été dosés dans un laboratoire de recherche de l'université.

2. Les témoins

Les sujets témoins (n= 20) et dont l'âge moyen entre 15 et 19 ans (10 de sexe féminin et 10 de sexe masculin) ont été sélectionnés sur la base de leur formule d'énumération sanguine et une glycémie normale, Ce groupe de témoins provient de la wilaya de Bouira (hôpital Mohamed Boudiaf). Ces témoins sont retenus avec des taux de glycémie compris entre 0,70 et 1,26g/l et un pourcentage de l'HbA1c inférieur à 6 %)

Les sujets adultes non-fumeurs, et ne présentent aucune infections et ne prenant aucun traitement pharmacologique.

3. Matériel non biologique

Le matériel utilisé pour réaliser cette étude est composé de verreries, d'équipements et d'appareils, il comprend aussi un ensemble des produits chimiques.

3.1 Appareillage et équipement

Appareillage	Marques
Balance électrique	Scout™ SE OHAUS®
Analyseur biochimique semi-automatique	Mindray BA-BBA
Analyseur biochimique	D-10® de Bio-Rad
Centrifugeuse	EZ Swing 3K
Congélateur	Maxipower
Spectrophotomètre (UV et Visible)	OPTIMA SP-3000nano
Hôte	CRUMA670, EU.
Agitateur magnétique à plaque chauffante.	Stuart, SB161, PRC.
Vortex	labTech

3.2 Verreries et Accessoires

- Bêchers.
- Cuve pour spectrophotomètre.
- Eppendorfs.
- Micropipettes réglable à volume variable (10-100µl, 100-1000µl).
- Tubes à essai (5ml, 10 ml, 20 ml).
- Tubes de prélèvement EDTA, HEPARINE

4. Les prélèvements sanguins

Les prélèvements du sang ont été réalisés le matin à jeun (8 :30-10 :00), au niveau de la veine du pli du coude. Le sang a été collecté dans des tubes hépariné. Ces tubes sont destinés au dosage de la glycémie et des nitrites. Le sang prélevé sur EDTA au dosage de l'hémoglobine glyquée HbA1c .Les mêmes traitements ont été réalisés sur les sujets sains. Le sang prélevé sur EDTA a été centrifugés après chaque prélèvement à 3000 tours/min, pendant 15 mn. Les sérums ont été transférés dans des tubes Eppendorf, puis conservés à une température de - 20° C au sein du laboratoire du centre mère et enfant de Béni Messous.

II. Méthodes

1. Dosage de glucose sanguin

Le dosage de glucose a été effectué manuellement avec un analyseur biochimique semi-automatique (**figure 6**) en utilisant les réactifs de Biomaghreb.

1.1 Principe

Il s'agit d'un dosage colorimétrique à la suite de deux réactions enzymatiques couplées.

La première réaction est catalysée par la glucose-oxydase qui oxyde le glucose présent dans l'échantillon en acide Glucoronique et peroxyde d'hydrogène.



L'acide Glucoronique constitue le substrat de la peroxydase dans une réaction couplée conduisant à l'oxydation de 4-amino-antipyrine en un produit coloré.



L'intensité de la coloration est détectée par l'analyseur biochimique semi-automatique ou par le spectrophotomètre. La densité optique est proportionnelle à la concentration en glucose.

1.2 Mode opératoire

- ❖ Centrifuger le sang total à 3000 tour pendant 10 mn.
- ❖ Pipeter 1000 µl de réactif 2 de biomaghreb (**annexe 3**) dans un tube à essai et lui ajouter 10 µl de sérum.
- ❖ La préparation du blanc a été réalisée avec 1000 µl de la solution standard (glucose). Ce tube sert pour ajuster le zéro du spectrophotomètre.
- ❖ Mélanger et incuber à 37°C pendant 10 mn.
- ❖ Ajuster le zéro du spectrophotomètre contre le blanc du réactif.
- ❖ Virage de la couleur (transparente) vers le rose foncée.
- ❖ Lire l'absorbance du standard à une longueur d'onde de 505 nm.
- ❖ Lire l'absorbance de l'échantillon à 505 nm.

- ❖ Les concentrations sont déterminées par l'analyseur biochimique semi-automatique (**Figure 6**).

2. Dosage de l'hémoglobine glyquée HbA1c

Le dosage de l'HbA1c a été réalisé en utilisant l'analyseur D-10® de Bio-Rad

(**figure 8**) selon les étapes suivantes:

- Les tubes d'échantillons sont placés dans le portoir à échantillons de l'analyseur D-10 puis introduite dans le système D-10 (**figure 7**).
- Le passeur d'échantillons permet le chargement en continu et le stockage après analyse des échantillons autorisant une capacité de chargement de 10 tubes par série.
- Le travail en routine se fait sur tubes EDTA (utilisé le sang total) fermés et identifiés, l'échantillon étant prélevé directement après percement du bouchon par l'aiguille de prélèvement évitant ainsi tout risque d'accident avec exposition au sang.
- Le logiciel D-10 intègre les données brutes recueillies lors de chaque analyse.

Un compte rendu d'analyse et un chromatogramme sont générés pour chaque échantillon. Il comporte les informations suivantes : date et heure du dosage, identification de l'échantillon (calibrant, contrôle, patient), identification de l'injection (numéro de la série, numéro de l'injection, position de l'échantillon sur le rack), le chromatogramme

- Le taux de l'HbA1c est exprimé en pourcentage.



Figure 6 : Analyseur biochimique semi-automatique



Figure 7 : Portoir à échantillons de l'analyseur D-10



Figure 8 : Analyseur D-10® de Bio-Rad

3. Dosage des nitrites totaux par la méthode de « Griess » modifiée

Il existe plusieurs méthodes pour le dosage de NO dans le sérum, y compris la méthode de Griess. Elle est choisie à raison de sa haute fiabilité, sa simplicité, sa rapidité et son faible coût (Asghar *et al.*, 2007).

La production du NO dans les sérums de patients diabétique de type 1 est estimée par dosage des produits de son oxydation en nitrites et nitrates. Les nitrites sont dosés après la réduction des nitrates (NO_3^-) en nitrites par le nitrate réductase (Unité 365- Institut Curie Paris).

La réaction de Griess est basée sur deux étapes de réaction de diazotation dans laquelle le NO_2^- acidifié produit un agent nitrosant qui réagit avec l'acide sulfanilique conduisant à la formation de l'ion diazonium. Cet ion est couplé au N-(1-naphthyl) éthylène diamine Pour former un azo-dérivé chromophorique (Miles *et al.* , 1996).

100 μl de l'échantillon est mélangé avec 50 μl de Griess A et B (0,5% N-1- naphthyl éthylène diamine dans 20% d'HCl , 5% sulfanilamide dans 20% HCL .Après l'incubation à température ambiante pendant 20min à l'abri de la lumière, un lecteur de densité optique (DO) à $\lambda = 543 \text{ nm}$ est effectué à l'aide d'un spectrophotomètre

La concentration des nitrites est déterminée par extrapolation des absorbances sur une courbe d'étalonnages effectuée dans les mêmes conditions expérimentales (**Figure 14**).

4. L'analyse statistique

L'étude statistique a été effectuée avec le logiciel Origine 8®.

Le test de Student a été utilisé pour la comparaison entre deux moyennes.

I. Résultats

1. Répartition des patients atteints de diabète type 1 selon le sexe

Dans cette étude, la répartition des sujets étudiés selon le sexe est représentée dans la (Figure 9). L'analyse des résultats montre une légère prédominance du diabète type 1 chez les sujets de sexe féminins que le sexe masculin avec un pourcentage de 60% pour les femmes Contre 40% pour les hommes. Le sexe ratio est de 1,5.

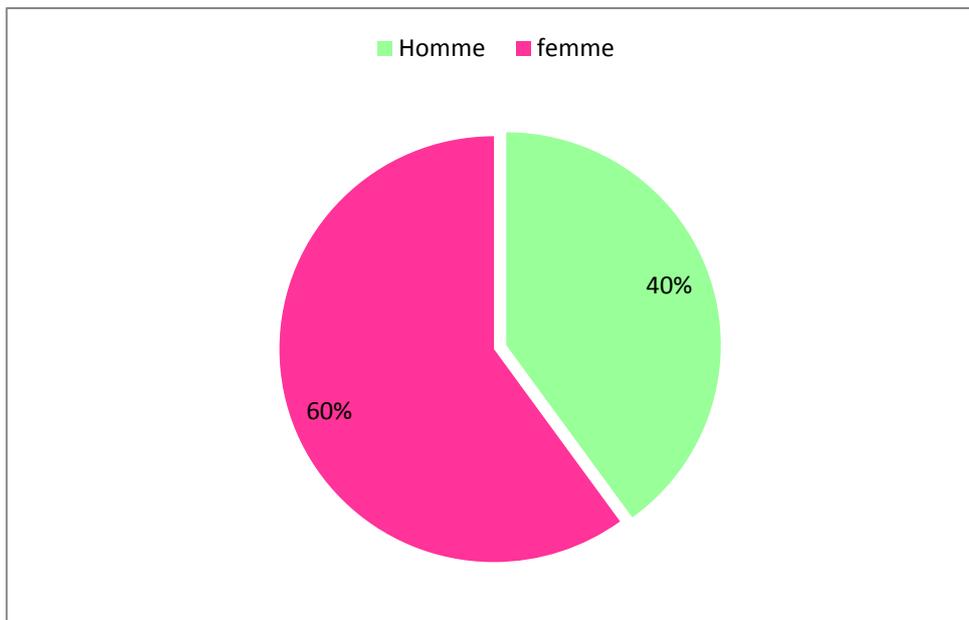


Figure 9 : Répartition des patients diabétiques de type 1 selon le sexe.

2. Répartition des patients atteints de diabète type 1 selon l'âge

Les patients atteints du diabète type 1 sont répartis selon les tranches d'âge représentés dans la (figure 10), Il s'agit de patients admis au niveau du service de pédiatrie de l'hôpital de Beni Messous et EPSP de Bouira.

Dans notre échantillon la tranche d'âge [2-10] ans représente le pic de fréquence le plus élevé. Cependant, les fréquences les plus importantes ont été observées pour la majorité des patients étudiés dont les tranches d'âge les plus touchés par la maladie se situent entre [2-10] ans.

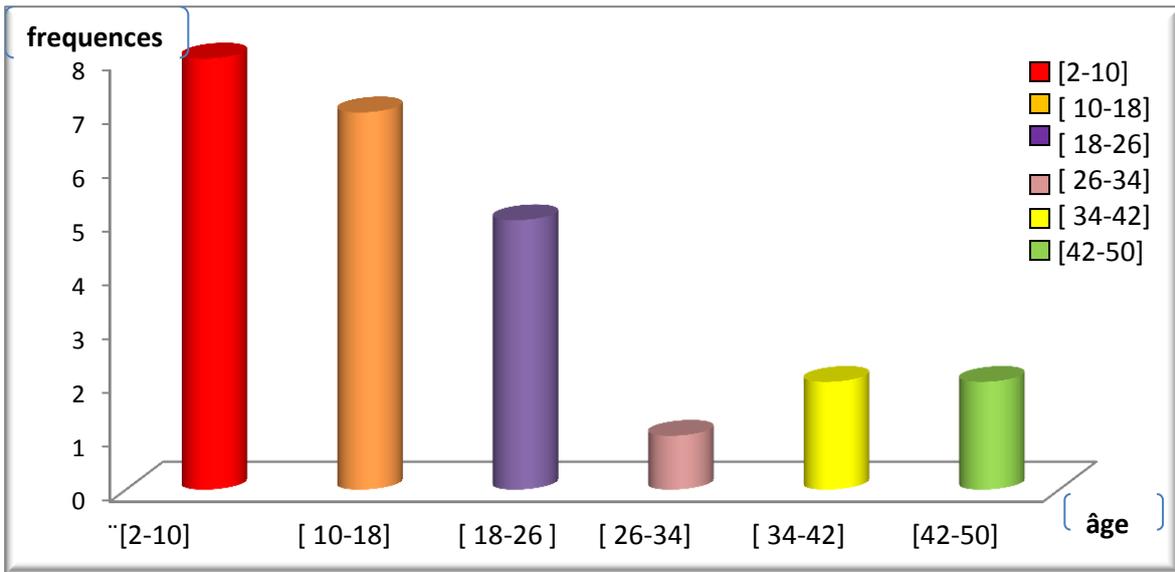


Figure 10 : Répartition des patients diabétiques de type 1 selon l'âge.

3. Résultats du dosage de glucose sanguin

Chez les patients atteints du DT1 on observe que l'intensité de la coloration est plus importante que celle obtenus chez des sujets sains (**Figure 11**).

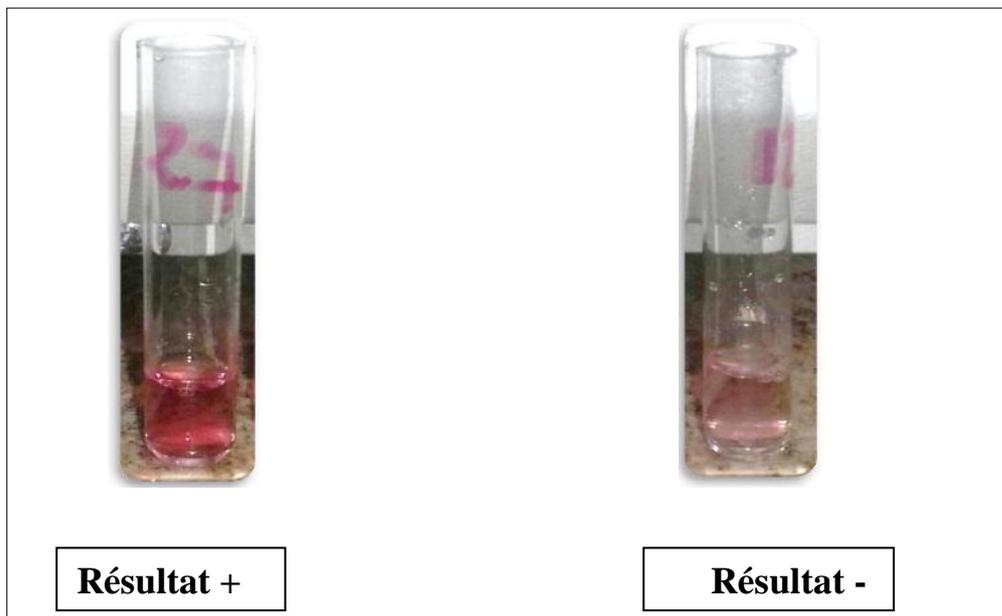


Figure 11 : L'intensité de la réaction colorée au cours du dosage du glucose.

4. Résultats du dosage de l'HbA1c

Nous avons notés des taux élevés de l'HbA1c chez les patients atteints du diabète de type 1 ($9,16 \pm 2,60$) contrairement aux témoins qui ont exprimés des faibles concentrations ($5,01 \pm 0,93$) (Figure 12).

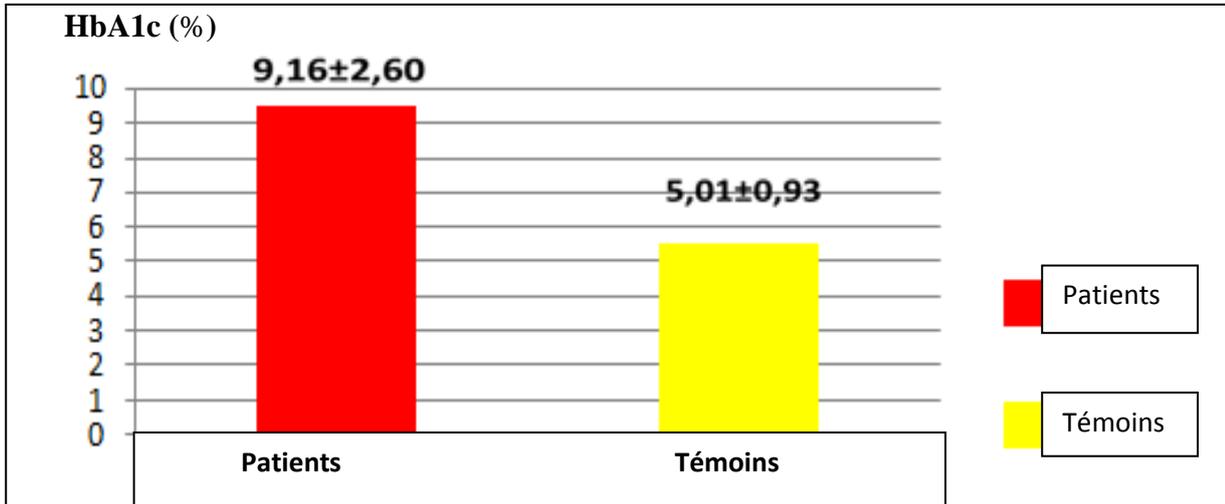


Figure 12 : Le taux de l'HbA1c chez les sujets diabétiques de type 1 et chez des sujets sains.

5. Etude de la relation entre la glycémie et le Hb1c

La figure 14 montre une corrélation entre les valeurs de l'HbA1c et la glycémie à jeûn chez les patients diabétiques de type 1. Le coefficient de corrélation ($R = 0,417$) montre une corrélation positive (Figure 13).

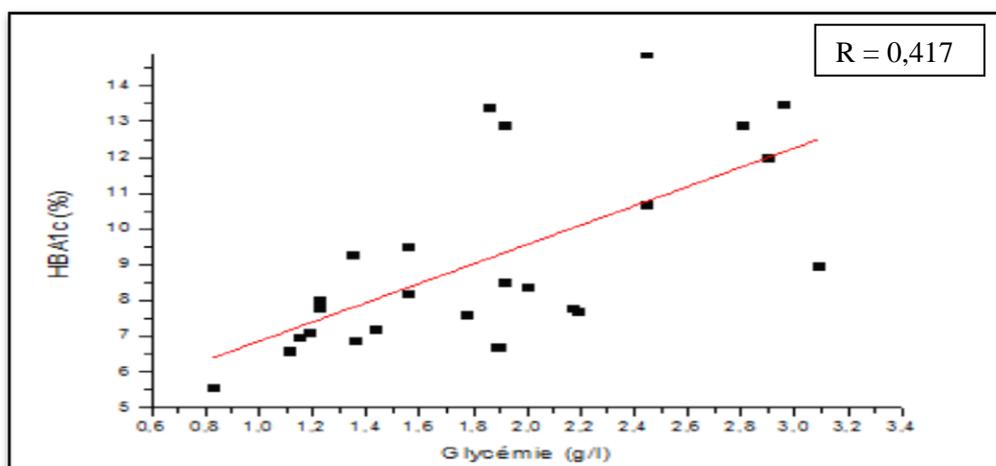


Figure 13: Corrélation entre les valeurs de l'HbA1c et la glycémie à jeun chez Patients diabétiques de type 1.

6. Réalisation d'une courbe étalon pour le dosage de NO

La concentration des nitrites est déterminée par extrapolation des absorbances sur une courbe d'étalonnages effectuée dans les mêmes conditions expérimentales (**Figure14**).

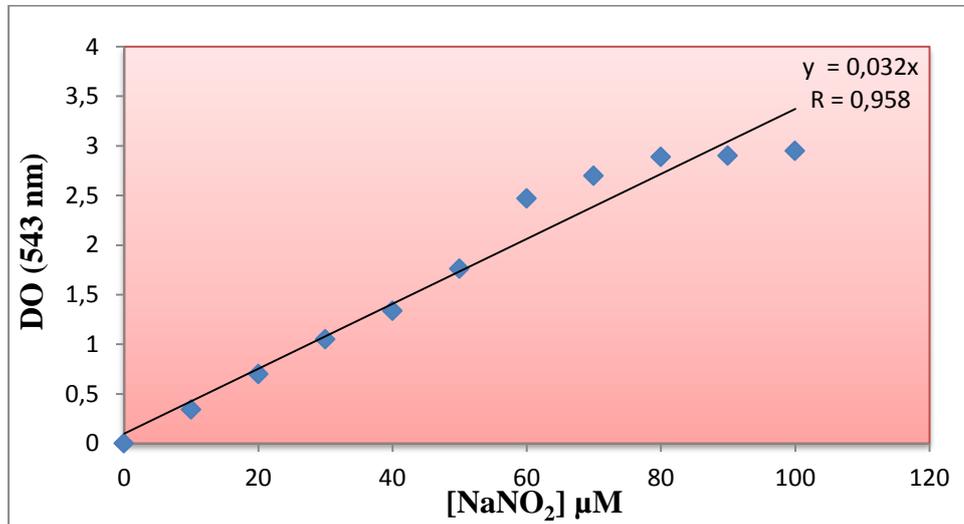


Figure 14 : La courbe d'étalonnage des nitrites.

7. Les résultats du dosage des nitrites

Le dosage des nitrites sériques a montré une augmentation dans la production du NO (**Figure 15**). Le taux des nitrites détectés dans les sérums des patients atteints du diabète de type 1 ($26,5 \pm 9 \mu\text{M}$, $n=25$) sont significativement plus élevés que les taux détectés dans les sérums des individus sains ($8,9 \pm 5 \mu\text{M}$, $n=20$). La différence est considérée significative ($p=0,05$).

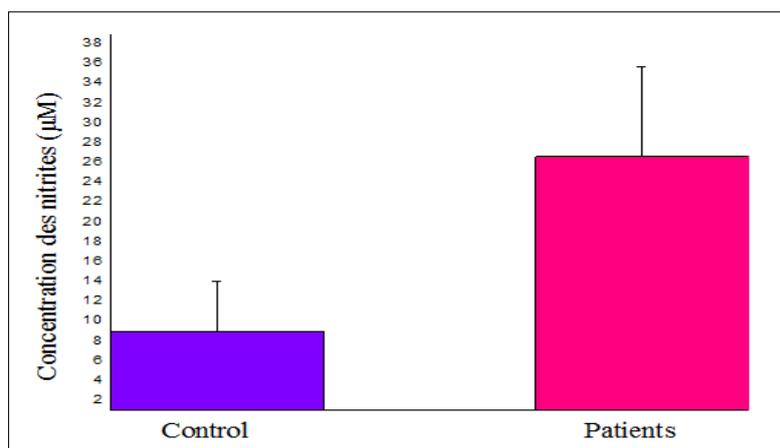


Figure 15 : Taux de nitrite (NO_2^-) dans les sérums des patients atteints du diabète de type 1 et chez les contrôles.

8. Etude de la relation entre le NO et la glycémie

La concentration du glucose sérique chez les patients atteints du DT1 est significativement associé aux taux des nitrites sériques ($R= 0,3074$). De plus, la concentration du glucose est positivement corrélée au taux du monoxyde d'azote Produit au cours de la pathologie (**Figure16**).

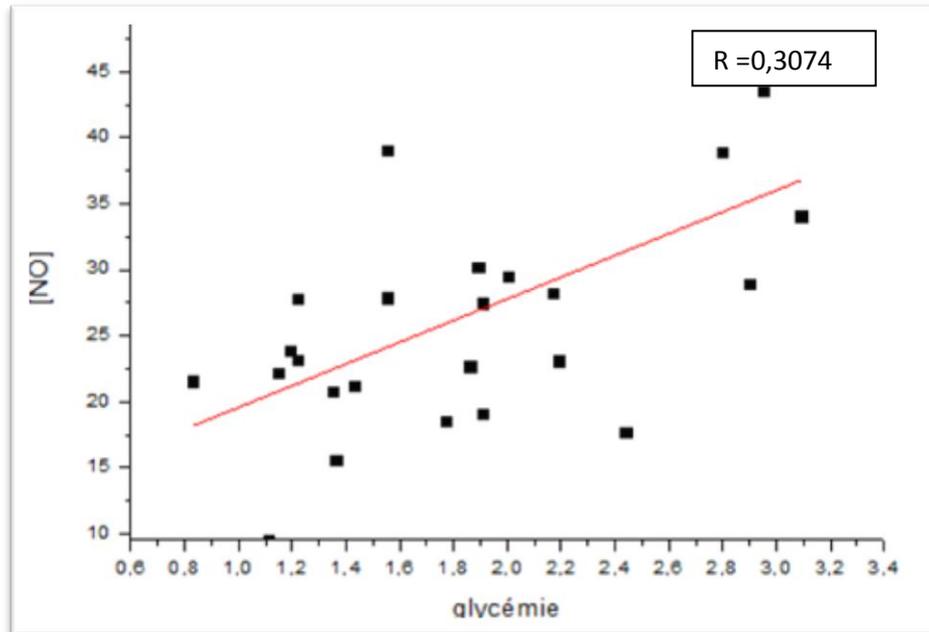


Figure 16 : Corrélation entre le taux de [NO] et HbA1c chez les patients diabétiques de type1.

9. Etude de la relation entre la production du NO et le taux de l'HbA1c

Le taux de HbA1c est significativement associé aux taux des nitrites sériques $R= 0,369$ (**Figure17**). De plus, le taux de HbA1c est positivement corrélé au taux de monoxyde d'azote produit au cours de la pathologie.

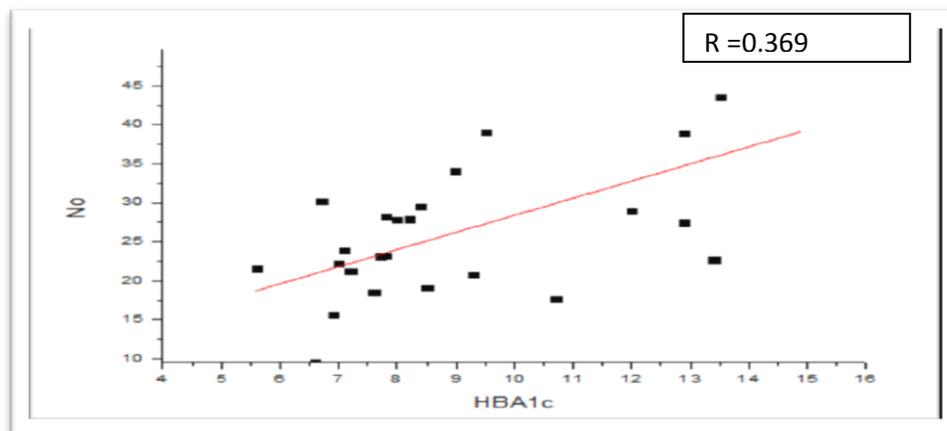


Figure 17: Corrélation entre le taux de [NO] et HbA1c chez les patients diabétiques de type1.

II. Discussion

Le diabète de type 1 est une maladie auto-immune chronique caractérisée par la destruction progressive et sélective des cellules β pancréatique, qui entraîne une carence profonde en insuline (**Young, 2016**). Le DT1 résulte dans la plupart du temps de l'interaction entre les facteurs génétiques et environnementaux (**knips et al., 2010**)

Nos résultats corroborent avec les travaux effectués dans le même contexte (**Levy-Marchal et al., 1990, Charkaluk et al., 2002**) rapportent que les cas de diabète de type 1 sont plus fréquents dans la tranche d'âge entre 2 et 14 ans suggérant une relation avec la diversification de l'alimentation notamment la prise du lait de vache "sérum albumine bovine". Par contre des résultats d'une étude en France faite sur 308 cas ont montré que l'incidence du DT1 était dans un âge très précoce entre 6 mois et un an (**Mauny et al., 2005**).

Dans notre étude, nous avons observé une légère prédominance féminine du diabète de type 1. Cependant, nos observations sont en accord avec celles de (**Boukli-Hacène et al., 2015**) rapportant aussi une légère prédominance féminine estimé à 23,7% femme contre 15,7% homme. Cependant, des études ont montré qu'il n'existe pas de différence significative dans la prévalence du diabète de type 1 entre les 2 sexes. (**Belaid Mouffok, 2016**).

On constate l'existence d'une corrélation moyennement positive entre les valeurs de l'HbA1c et la glycémie à jeûn chez la population ayant fait l'objet de notre étude. Ainsi, la mesure de l'hémoglobine glyquée peut être un indicateur-clé de l'équilibre du diabète. Une étude multicentrique internationale menée entre avril 2006 et août 2007 afin d'établir de façon précise la relation existant entre la valeur d'HbA1c et la glycémie moyenne au cours des trois mois précédents a montré une corrélation significative entre la glycémie et le taux d'hémoglobine glyquée (**Nathan et al., 2008**).

L'implication du monoxyde d'azote dans le processus d'autoimmunité a été montré dans plusieurs maladies autoimmunes notamment la maladie de Behçet (**Blguendouz et al., 2000**). Les effets de la production du radical NO au cours du diabète est complexe. L'augmentation de la production systémique du NO chez les patients diabétiques suggère la présence d'un état inflammatoire.

En effet, il a été rapporté que le NO, possède des propriétés physiologiques à la fois bénéfiques et délétères dont une action anti-inflammatoire. Toutefois, l'étude de la production systémique des nitrites chez des patients atteint du diabète auto-immun en relation avec l'élévation de la glycémie suggère son implication dans le processus d'autoimmunité.

Cependant, il a été apporté que l'exposition prolongée des cellules endothéliales à des concentrations élevées du glucose conduit à une augmentation de production du monoxyde d'azote et des anions superoxydes.

Cependant, il a été rapporté que l'hyperglycémie au cours du diabète de type 1 est associée à un dysfonctionnement du glomérule. Il a été également rapporté que le NO induirait l'hyperfiltration et augmenterait la perméabilité vasculaire (**Chiarelli et al., 2000**).

Les concentrations élevées du NO au cours d'une hyperglycémie chez les patients atteints du DT1 suggèrent son implication dans la réponse immunitaire comme agent cytotoxique avec une surproduction de radicaux libres. En effet, la surproduction in situ par la NO synthase inducible, peut conduire à une altération des tissus (**Fehsel et al., 1995**).

En conséquence, Il semble que le NO constitue un bio marqueur préventif de l'état inflammatoire et de la dégénération vasculaire chez le diabétique. Cependant nos résultats préliminaires doivent être justifiés par un plus grand échantillonnage.

Conclusion

L'objectif de cette étude était de déterminer le rôle du monoxyde d'azote dans le processus immunopathologique du diabète de type 1.

Dans notre étude, les résultats montrent une augmentation de la production de NO chez les patients atteints du DT1 comparés aux témoins.

Les concentrations élevées du NO au cours d'une hyperglycémie chez les DT1 suggèrent son implication dans la réponse immunitaire comme agent cytotoxique avec une surproduction de radicaux libre. En conséquence, Il semble que le NO soit un bio marqueur préventif de l'état inflammatoire et de la dégénération vasculaire chez le diabétique. Cependant nos résultats préliminaires doivent être justifiés par un plus grand échantillonnage.

Perspectives dans un futur proche:

- □ Les résultats de ce mémoire correspondent à un échantillonnage limité. Nous souhaitons dans l'avenir la réalisation d'autres études incluront un échantillon de taille plus élevée afin de confirmer ces données et de révéler d'autres caractéristiques des sous-groupes notamment pour les localisations les plus graves.
- Il serait important de définir d'autres molécules qui ont un effet sur la production de monoxyde d'azote et les inclure dans d'autres études.
- Nous gardons l'espoir de déterminer d'autres nouvelles thérapies (à base d'inhibiteurs du NO) qui pourraient répondre aux différents problèmes liés au DT1.

Références bibliographiques

A

Alderton, W.K., Cooper, C.E., Knowles, R.G., (2001). *Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition*. Biochem J., 357(Pt 3): p. 593-615

B

Buysschaert, M ., (2006). Définition et classification de diabète. Diabétologie clinique. De book, Bruxuelle,3e, p.1-6.

Bouchair, fareh ., (2015).Modélisation de nouveaux inhibiteurs sélectifs de l'oxyde nitrique Synthase .chimie théorique .université mantouri de canstantine.89p

Blibek, karim.,(2014). Étude de modulation de la NOS 2 par extré des pepine de resain au cour hydatidose humain : impact sur la production de monoxyde d'azote .université houarie boumedien.

Belaid Mouffok , Sana., (2016). Effet du selenium sur l'activite des cellules de l'immunité innee au cours du diabete de type 1. Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, p.49.

C

Carolina, CentenoBáezmonono .,(2015) .Rôle de la synthase inductible du monoxyde d'azote dans les maladies proinflammatoires et la résistance à l'insuline associée à l'obésité.laval ,canada, 173p.

Colette Claude, Monnier Louis . Diabétologie: Elsevier Health Sciences France; 2014 .

Clerc, Pascaline .,(2006) .Etude des effets mitochondriaux du monoxyde d'azote : Régulation de l'oxydation phosphorylante et de la transition de perméabilité. Joseph fourier - grenoble 1, ,203p.

Coleman, J.W., (2001).*Nitric oxide in immunity and inflammation*. In *Immunopharmacol* ; 1(8): p. 1397-406

D

Ducrocq C., Servy C., Cudic M., Blanchard B.,(2001). Intervention du monoxyde d'azote, NO, et de ses dérivés oxydés, particulièrement chez les mammifères. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 79(2) : 95-102

Dahboul, fatima ., (2013) .Evaluation physico-chimique biochimique et pharmacologique de s-nitrosotiul : rôle des enzyme membranaire dans la libération de oxyde nitrique, université de loraine , p.192.

F

François Lemoine YL, Olivier Boyer, Marie Christine Béné, Yacine Taoufik. Immunité adaptative : Lymphocytes T régulateurs et notion de tolérance.

Francis, de perrois.,(1965).Les maladies de l'appareil digestif .In :Nomenclature de l'atlas anatomique démontable « femme ».Paris :encyclopédie médicale.

Frank , Netter.,(2011) .Atlas d'anatomie humaine, 5ème édition, Elsevier-Masson.

Fehsel, K., KrGncke, K.-D., Meyer, K.L., Huber, H., Wahn V. & Kolb-Bachofen, V. (1995),.Nitric oxide inducesapoptosis in mouse thymocytes. *J. Zmmunol.*, 155, 2858-2865.

G

GAUTIER, Marie., (2011).Le diabète de type 1 chez l'enfant et l'adolésant :conseils à l'officine .Nantes ,157p.

Ghizlane, el mghari sb., Salwa, Baki., Nawal, el ansari ., (2014) Histoire de l'insuline : entre le biologique et l'artificiel. Université Cadi Ayyad ,maroc, aln.editions ,p4. Ghafari, Y et Labarde, G., (2003). Université de Versailles Saint Quentin en Yvelines, DESS IST

Grimaldi A (2000). Questions d'internat, Diabétologie. Faculté de médecine Pierre Marie Curie Paris. France, p15-19.

Gardner, S.G., Gale, E.A.M., Williams, A.J.K., Gillespie, K.M., Lawrence, K.E., Bottazzo, G.F., Bingley, P.J. 1999. Progression to diabetes in relatives with islet autoantibodies. Is it inevitable? *Diabetes Care*, 22: 2049-2054.

H

Hamadi , Nacereddine.,(2010). Effet du resveratrol sur les défenses antioxydantes chez les rats rendus diabétiques par l'injection de la streptozotocine.98 p.

J

Jean-Louis, Wémeau J-LS, Bernard Vialettes., (2014).Endocrinologie,diabete,metabolisme et nutrition pour le praticien France, Lille: Elsevier Health Sciences.

Jonathan, Ribot ., (2015) . Impact du diabète de type 2 sur la fonctionnalité et le potentiel angiogénique des cellules souches mésenchymateuses . Université paris paaris-est, 26p.

Judith,Ouango.,(2011) .Les affections pancreatiques : aspects epidemiologiques, cliniques, para cliniques et therapeutiques dans le service d'hepato-gastro-entrerologie du centre hospitalier universitaire yalgado ouedraogo, ouagadougou.

J-C. Philips,R.P.Radermecker.,(2012).Le diabete de type 1 : de la prédisposition génétique à un contexte environnemental hypothétique.

K

Khiati ,mostefa., (2010).Le diabete sucré chez l'enfant .Ben Aknoun-Alger :officine des publications univrsitaires,231p.

Krancke, K.D., Kolb-Bachofen, V., Berschick, B., Burkart, V. & Kolb, H. (1991), Activated macrophages kill pancreatic syngeneic islet cells via argininedependent nitric oxide generation.

Biochem. Biophys.Res. Commun., 175, 752-758. Kriincke, K.D., Brenner, H.H., Rodriguez,

L

Langlois Allan .Optimisation de la revascularisation des îlots pancréatiques au cours de la transplantation: approche génétique ou pharmacologique? ,Louis Pasteur Strasbourg I ,2008,131p.

Langlois A. Optimisation de la revascularisation des îlots pancréatiques au cours de la transplantation: approche génétique ou pharmacologique? : Louis Pasteur Strasbourg I; 2008.

Lafitte, M., (2012).Adénocarcinome canalaire pancréatique Mécanisme moléculaire et approche thérapeutique: université bordeaux 2.

LECOMPTE Sophie . Etude du rôle du gène PROX1 dans le diabète de type 2. LILLE 2,2012,160p

Lucienne , chatenoud ;Jean-Francois,Bach ;(2012).Immunologie 6eme édition, : Lavoisier.

Laurent, Boyer., (2011).Rôle de la Synthase inductible du monoxyde d'azote dans les maladies proinflammatoires et la résistance à l'insuline associée à l'obésité. Paris-Est Créteil ,121p

Levy-Marchal, C., Papoz, L., deBeaufort, C., Doutreix, J., Froment, V., Voirin, J., Collignon, A., Garros, B., Schleret, Y., Czernichow, P. 1990. Incidence of insulin-dependent *diabetes mellitus* in France in 1988. *Diabetologia*, 33: 465-469.

M

Meyer Philippe., (1980). physiologie humaine france. 483 p.

Mlata,Soumia., (2013) .Description du diabete de type 1 dans une population de l'extreme ouest algerien. Université abou bekr belkaïd de tlemcen, 53p.

Muller ,C .,(2014). Prise en charge des patients diabétique de type1 par pompe à insuline externe : Etat des lieux aux hôpitaux prives de metz (site de l'hopital sainte-blandine).
Mémoire du diplôme d'études spécialisées de pharmacie hospitalière, Université de lorraine faculté de pharmacie, p84.

Mauny, F., Grandmottet, M., Lestradet, C., Guitard, J., Crenn, D., Floret, N., Olivier-Koehret, M., Viel, J.F. 2005. Increasing trend of childhood type 1diabetes in Franche-Comte (France): Analysis of age and period effects from 1980 to 1998. *Eur. J. Epidemiol.*, 20: 325-3299.

R

Raines, K.W., Kang, T.J., Hibbs, S., Cao, G.L., Weaver, J., Tsai, P., Baillie, L., Cross, A.S and Rosen, G.M., (2006). Importance of nitric oxide synthase in the control of infection by *Bacillus anthracis*. *Infect Immun.*, 74:2268-2276

Ribot J. Impact du diabète de type 2 sur la fonctionnalité et le potentiel angiogénique des cellules souches mésenchymateuses. paris paaris-est; 2015.

Roger, assan ., (1985) Diabete sucré et autoimmunité .these de doctorat en médecine, université de paris, 185p.

S

Sennequier, N., Vadon-Le-Goff, S., (1998). Biosynthèse du monoxyde d'azote (NO): Mécanisme, régulation et contrôle. *Médecine/sciences.*, **14**: 1185-95.

SARI ALI, Nouria., (2013). Vitamine d et complément c3 au cours du diabète de type 1. université de tlemecen abou bekr belkaid, p.66.

V

Valadoux ,cécile.,(2008). Le pharmacien d'officine face au diabète de type 1. limoges ,142p.

W

Weill B, Batteux F. Immunopathologie et réactions inflammatoires: De Boeck Supérieur; 2003.

Y

Young, J ., (2016). Diabète sucré de types 1 et 2 de l'enfant et de l'adulte. Complications Endocrinologie diabétologie et maladies métaboliques. Elsevier Masson, 3e, France, p.323-40.

Z

ZAIOUA.A. Diabètes sucrés, définition, classification et aspects cliniques: Université Mentouri - Faculté de médecine de Constantine.

Zoubairi, A.,(2008).Les cystadenocarcinomes du pancréas RABAT: université mohammed v-souissi.

Site internet :

<http://www-medlib.med.utah.edu/WebPath>

Tableau : caractéristique des patients atteints du diabète de type 1.

Patients	Age	Poids	Région	Sexe	l'âge de découverte du diabète	Traitement
1	19	80	Ain Bessem	H	8 ans	Insuline
2	25	59	Ain Bessem	F	5 ans	
3	8	28	Alger	F	2 ans	
4	19	85	Alger	H	7ans	
5	9	30	Alger	H	8ans	
6	13	40	Alger	F	3ans	
7	36	80	Alger	F	17ans	
8	36	68	Alger	F	1 an	
9	46	72	Ain Bessem	F	12 ans	
10	46	76	Ain Bessem	H	5 ans	
11	12	36	Ain Bessem	F	4ans	
12	15	50	Bouira	F	1 an	
13	9	33	Bouira	G	2ans	
14	7	28	Bouira	F	4ans	
15	12	34	Bouira	G	7ans	
16	10	31	Alger	G	6ans	
17	17	58	Alger	G	11 ans	
18	7	20	Alger	F	1ans	
19	16	55	Alger	F	15ans	
20	8	24	Alger	F	3ans	
21	19	71	Alger	G	17ans	
22	18	48	Ain Bessem	F	8ans	
23	25	66	Ain Bessem	F	9ans	
24	2	12	Ain Bessem	F	6 mois	
25	4	15	Ain Bessem	G	9 mois	

‘Annexe 2’ :

Nom : Prénom :

Région :

Age :

Poids :

Taille :

Diabète DID ou DNID

Présence des auto AC Oui ou Non

Traitement : Insulinique ou Non insulinique

Découvert de la maladie :

Présence d'autre pathologie : Oui ou Non

Figure 18 : Fiche d'enquête pour les malades

‘ Annexe 3’ :

Biomaghreb		
PRESENTATION		
Réf. 20121, (1000 Tests) R1 : 2 x 500 ml R2 : 2 flacons (lyoph) R3 : 2 x 6 ml	Réf 20124, (3000 Tests) R1 : 6 x 500 m R2 : 6 flacons (lyoph) R3 : 3 x 11 ml	Réf 20127, (400 Tests) R1 : 4 x 100 ml R2 : 4 flacons (lyoph) R3 : 1 x 5 ml
Réf 20122, (3000 Tests) R1 : 3 x 1000 ml R2 : 3 flacons (lyoph) R3 : 3 x 11 ml	Réf 20126, (1000 Tests) R1 : 5 x 200 ml R2 : 5 flacons (lyoph) R3 : 2 x 10 ml	
Réactif 1	Tampon Tris pH= 7	100 mmol/l
Solution tampon	Phénol	0,3 mmol/l
Réactif 2	Glucose oxydase	10 000 U/l
Enzymes	Péroxydase	1000 U/l
	Amino 4 -Antipyrine	2,6 mmol/l
Réactif 3	Glucose	100 mg/dl
Standard		1g/l
		5,56 mmol/l

Figure 19 : Fiche technique de réactif utilisé pour le glucose

Résumé

Le diabète insulino-dépendant ou diabète de type 1 est une maladie chronique touchant l'enfant ou le jeune adulte, il résulte d'une destruction des cellules β des îlots de Langerhans, Par ailleurs, le monoxyde d'azote (NO) est un important médiateur physiologique, notamment pour la vasodilatation des vaisseaux sanguins, mais aussi pour le système immunitaire où il joue un rôle de second messager. Il est aussi montré que le NO joue un rôle important dans le processus inflammatoire et la destruction des cellules β des îlots de Langerhans et améliorer le développement du DT1.

L'objectif de notre travail est de mettre en exergue l'implication du monoxyde d'azote dans la pathogénie de cette pathologie, de mettre en évidence sa production in vivo ainsi que son impact sur la glycémie et le taux de glycosylation de l'hémoglobine. Les résultats on montre une relation positive entre suggérant son implication dans le processus immuno-pathologie soulignant ainsi le rôle des NO Synthase au cours du diabète de type1.

Mots clés : diabète type 1,insulinodépendant, pancreas ,monoxyde d'azote .

Abstract

The insulin dependent diabetes or diabetes of type 1 is a chronic illness that touches the child or the young adult .It results of a destruction of cells β of islets of Langerhans . Moreover, the Nitric Oxide (NO) is an important physiologic mediator especially for the vasodilation of blood vessels, but also for the immune system where it plays a role of a second messenger .it is also shown that the NO plays an important role in the destruction of cells β of islets of langerhans and improving the development of DT1.

The objective of our work is to highlight the implication of the nitric oxide pathogenesis of this pathology, highlighting its production in vivo as well as its impact on glycemia and the glycosylation rate of hemoglobin .The results have shown a positive relationship between its involvement in the immunopathology process thus underling the role of NO synthases in type 1 diabetes.

Key words: insulin dependent, diabetes, nitric oxide, NO synthases,

ملخص

مرض السكري المعتمد على الأنسولين او داء السكري نوع 1 هو مرض مزمن يؤثر على الأطفال والشباب فإنه ينتج عن تدمير خلايا بيتا β في جزر لانجرهانز. من جهة أخرى. أكسيد النيتريك هو وسيط فسيولوجي . يلعب دورا هاما بما في ذلك. توسيع الأوعية الدموية ولكن أيضا لجهاز المناعة حيث يعمل كرسول الثاني ويظهر أيضا أن في العملية الالتهابية في تدهيم الخلايا خلايا بيتا β في جزر لانجرهانز وتحسين وتطوير مرض لسكري .

والهدف من عملنا هو تسليط الضوء على مشاركة أكسيد النيتريك في التسبب في هذا المرض لتسليط الضوء على إنتاجه في الجسم الحي وتأثيره على مستوى السكر في الدم والهيموجلوبين وأظهرت النتائج وجود علاقة إيجابية بينهم يشير إلى استعماله عملية المرض المناعي في تسليط الضوء على دور في داء السكري من النوع 1.

مفاتيح: داء السكري نوع 1. أكسيد النيتريك في جزر لانجرهانز.الهيموجلوبين