

TLEMCEEN

N° D'ORDRE



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

Nouria SARI ALI

Soutenu le

30/09/2013

Intitulé :

VITAMINE D ET COMPLEMENT C3 AU COURS DU DIABETE DE TYPE1

JURY :

Dr HADDOUCHE Mustapha

Maître de conférences B

Président

Dr ARIBI Mourad

Professeur

Encadreur

Mme BRAHAMI Nabila

Maître assistante A

Examinatrice

30/09/2013

TLEMCEEN

N° D'ORDRE



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

Nouria SARI ALI

Soutenu le

30/09/2013

Intitulé :

VITAMINE D ET COMPLEMENT C3 AU COURS DU DIABETE DE TYPE1

JURY :

Dr HADDOUCHE Mustapha

Maître de conférences B

Président

Dr ARIBI Mourad

Professeur

Encadreur

Mme BRAHAMI Nabila

Maître assistante A

Examinatrice

30/09/2013

Résumé

Introduction : Le diabète de type 1 (DT1) est la conséquence de la destruction spécifique des cellules β des îlots pancréatiques par un processus auto-immun. Les effets extraosseux de la vitamine D sont de mieux en mieux documentés notamment l'effet sur l'immunité, comme son action sur les cellules dendritiques, lymphocytes T et B, et les maladies auto-immunes.

Objectifs : Etudier la relation entre l'apport en vitamine D et le risque inflammatoire du développement du diabète de type 1.

But : Montrer l'implication de la vitamine D dans le processus inflammatoire du DT1.

Matériels et méthodes : Au total, 20 sujets repartis en deux groupes égaux, comprenant 10 diabétiques de type 1 et 10 sujets sains ont été recrutés dans cette étude.

Résultats : Les résultats de notre présente étude ont apportés une association entre apport en vitamine D et le risque inflammatoire du développement du diabète de type 1. De plus, l'analyse des résultats obtenus des différents dosages effectués (No, CRP, C3), montre qu'il y a une inflammation chez les diabétiques de type 1.

Conclusion : Nos résultats préliminaires ne permettent pas de conclure à un rôle clef de la Vitamine D dans le processus inflammatoire du diabète de type 1, mais cette étude permettra d'envisager de nouvelles perspectives de recherches et donc une nouvelle stratégie thérapeutique du diabète de type 1.

Mots clés : DT1, vit D, Lymphocytes T, Lymphocytes B, VDR, No, CRP, C3, inflammation.

Abstract

Introduction : The type 1 diabetes (DT1) is the result of the specific destruction of pancreatic islet β cells by a self-immun. Les process extraskelatal effects of vitamin D are better documented, especially the effect on immunity, as its action on dendritic cells, T and B lymphocytes, and autoimmune diseases.

Objectives : Studying the relationship between vitamin D and inflammatory risk of developing type 1 diabetes.

Aim : Show the involvement of vitamin D in the inflammatory process of DT1.

Materials and methods : A total of 20 subjects divided into two equal groups, including 10 with type 1 diabetes and 10 healthy subjects were enrolled in this study.

Results : The results of our present study have made an association between vitamin D and inflammatory risk of developing type 1 diabetes. In addition, analysis of the results of the various assays performed (No, CRP, C3) shows that there is an inflammation in type 1 diabetes.

Conclusion : Our preliminary results do not suggest a key role of vitamin D in the inflammatory process of type 1 diabetes, but this study will consider new research perspectives and therefore a new therapeutic strategy for type 1 diabetes.

Keywords : DT1, vitamin D, T cells, B cells, VDR, No, CRP, C3, inflammation.

AVANT-PROPOS

Je commence par exprimer ma profonde reconnaissance et mes vifs remerciements au Professeur Mourad ARIBI le directeur du laboratoire BIOMOLIM, UABT qui m'a honoré en acceptant de diriger ce travail. Je ne peux que sincèrement vous exprimer mon respect et ma gratitude.

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

Il me faut remercier également Milles Zineb HADJIDJ et Warda MEZIANE, ainsi que toute personne qui n'a pas lésiné pour m'aider à accomplir ce travail.

Ce travail a pour objectif Etudier la relation entre l'apport en vitamine D et le risque inflammatoire du développement du diabète de type 1..il a été réalisé au Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et Immunologie, sous la direction du Professeur 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 ma très chère mère, ainsi que ma soeur, et à toutes les personnes que j'estime.

TABLE DES MATIERES

Résumé.....	III
Abstract.....	IV
Avant-propos.....	V
Table des matières.....	VI
Liste des figures.....	VIII
Liste des tableaux.....	X
Introduction.....	1
Chapitre 1. Revue de la littérature	
1.1 Diabète de type 1.....	3
1.1.1 Définition.....	3
1.1.2 Epidémiologie.....	5
1.2 Histoire naturelle du diabète de type 1.....	6
1.2.1 Phase 1 : Insulite lymphocytaire	7
1.2.2 Phase 2 : Destruction des cellules β	8
1.2.3 Facteurs de risque du diabète de type 1.....	10
1.2.3.1 Facteurs génétiques.....	10
1.2.3.2 Facteurs liés à l'environnement	11
1.2.3.3 Facteurs diététiques	12
1.3 Vitamine D et auto-immunité	13
1.3.1 Définition de la vitamine D.....	13
1.3.2 Les deux formes vitaminiques.....	14
1.3.3 Vitamine D et système immunitaire.....	15
1.3.4 Vitamine D et cellules dendritiques régulatrices.....	16

1.3.5 Vitamine D et tolérance lymphocytaire T.....	17
1.3.5.1 Vitamine D et tolérance centrale.....	17
1.3.5.2 Vitamine D et tolérance périphérique.....	18
1.3.6 Vitamine D et lymphocytes B.....	19
1.4 complément C3.....	19
1.4.1 Système du complément.....	19
1.4.2 Structure du complément C3.....	20
1.4.3 Rôle du complément C3 dans l'immunité.....	21
1.5 Problématique	21
15.1 Objectif de l'étude	22
15.2 Intérêt de l'étude	22
Chapitre 2. Matériels et méthodes.....	23
2.1 Sujets et patients	23
2.2 Prélèvements sanguins.....	23
2.3 Etude épidémiologique	23
2.3.1 Questionnaire individuel	23
2.3.2 Enquête alimentaire	23
2.3.2.1 le questionnaire de fréquence alimentaire	23
2.3.2.2 Le rappel alimentaire de 24 heures	24
2.3.2.3 Traitement des données	24
2.4 Description des méthodes utilisées	24
2.4.1 Dosage de NOx par la méthode de Griess	24
2.4.1.1 Principe	24
2.4.1.2 Technique	25

2.4.2 Dosage de la CRP par technique d'immunoagglutination (kit BIOSYSTEMS : C-REACTIVE PROTEIN (CRP) – SLIDE , REF : 31012)	25
2.4.2.1 Principe	25
2.4.2.2 Réactifs	26
2.4.2.3 Procédure	26
2.4.2.3.1 Test qualitatif	26
2.4.2.3.2 Test semi – qualitatif	26
2.4.2.4 Interprétation des résultats	27
2.4.3 Electrophorèse des protéines par HYDRAGEL PROTEIN K20	27
2.4.3.1 Principe	27
2.4.3.2 Réactifs	27
2.4.3.3 Technique	28
a) Migration	28
b) Fixation des protéines	29
c) Coloration – Décoloration	29
d) Lecture	30
2.5 Traitement statistique	30
Chapitre 3. Résultats et interprétations	31
1. Caractéristiques démographiques de la population étudiée	31
2. Apport alimentaire en vitamine D chez la population étudiée	31
3. l'électrophorèse des protéines.....	32
4. Monoxyde d'azote.....	32
5. Protéine C-réactive.....	34
Chapitre 4. Discussion.....	35

Chapitre 5. Conclusion et perspectives.....	38
Chapitre 6. Bibliographie.....	39
Annexes.....	49

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 Coupe transversale de pancréas montrant des ilots de Langerhans au milieu du compartiment exocrine (10^6 chez l'homme adulte).....	4
Figure 1.2 Schéma représentant l'anatomie du pancréas adulte humain et histologie des tissus exocrine et endocrine	4
Figure 1.3 Représentation schématique d'une coupe de pancréas de mammifère.....	4
Figure 1.4 Histoire naturelle du diabète sucré de type	8
Figure 1.5 Bras court du chromosome 6	11
Figure 1. 6 Pathogénie du diabète de type 1	12
Figure 1.7 Les grandes étapes de la biosynthèse de la vitamine D	14
Figure 1.8 Représentation schématique des voies d'activation du complément.....	20
Figure1.9 Structure du complément C3	21
Figure2.1 Apport alimentaire en vitamine D chez les malades diabétiques de type 1 et chez les contrôles, sains.....	31
Figure 2.2. Taux des fractions protéiques chez les malades diabétiques de type 1 et chez les contrôles, sains.....	32
Figure 2.3. Niveaux du complément C3 chez les malades diabétiques de type 1 et chez les contrôles, sains.....	33
Figure 2.4. Niveaux du NO chez les malades diabétiques de type 1 et chez les contrôles, sains.....	34
Figure 2.5. Concentrations sériques chez les malades diabétiques de type 1 et chez les contrôles, sains.....	34

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1 Incidence du diabète insulino-dépendant chez l'enfant en Europe.....	5
Tableau 1.2 Histoire naturelle du diabète de type 1.....	8
Tableau 1.3 Risque absolu de diabète pour un apparenté de premier degré d'un sujet diabétique	10

Introduction

Le diabète de type 1 est la conséquence d'inflammation et de la destruction spécifique des cellules β des îlots pancréatiques par un processus auto-immun qui est médié principalement par les lymphocytes T autoréactifs. Les îlots de Langerhans sont infiltrés par des cellules mononuclées (insulite) (Bouhours-Nouet *et al.*, 2005 ; Rabinovitch *et al.*, 2007) aboutissant à une carence totale en insuline. L'origine auto-immune a été établie en 1974 (Humbel *et al.*, 1999).

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). Selon l'OMS le nombre de diabétiques dans le monde était de 110.4 millions, ce chiffre est passé à 221 millions en 2010 et franchira les 300 millions en 2025 (King *et al.*, 1998). En Algérie le diabète est en réelle augmentation avec un taux de mortalité de 9.1% et une prévalence du diabète de type 1 estimée à 3.7% à Tlemcen (Zaoui *et al.*, 2007).

Par ailleurs, la connaissance de la physiologie de la vitamine D a considérablement progressé ces dernières années, avec la mise en évidence de ses récepteurs dans la plupart des tissus, influençant l'expression génique d'un tiers du génome et en particulier son implication dans la prolifération et la différenciation cellulaire, l'apoptose et l'angiogenèse. La vitamine D est ainsi passée du rôle de vitamine à tropisme purement phosphocalcique et osseux à celui d'une hormone pléiotrope (Tonson la Tour *et al.*, 2012). Les auteurs présentent d'une part, les actions de la vitamine D sur les cellules dendritiques myéloïdes, les lymphocytes T et B et d'autre part, les effets bénéfiques potentiels qui en découlent dans les maladies auto-immunes et inflammatoires car la vitamine D, joue un rôle immunomodulateur complexe, dans la prévention et le développement des maladies autoimmunes telle le diabète de type 1 (Schoindre *et al.*, 2012 ; Briot et Esterel, 2010). Une carence en vitamine D induit une altération de la sécrétion d'insuline par les cellules β pancréatiques et augmente la résistance à l'insuline (Berthies-Pagliano, 2009).

La CRP joue un rôle dans l'immunité innée spécifique. Les différentes fonctions de la CRP sont de favoriser l'opsonisation indépendamment du complément, elle a également un effet inhibiteur sur la réponse immune (activité anti-protéase) (Mold, 1981). La molécule C3 du complément, à son tour, a non seulement un rôle central dans le fonctionnement du système

complémentaire, mais elle tient aussi, en se liant de façon covalente à l'antigène, une place très importante dans la réponse immune (Villier, 1995). Ainsi le rôle du monoxyde d'azote (NO) dans le système immunitaire s'est affirmé par plusieurs études (Guenane *et al.*, 2006; Karpuzoglu *et al.*, 2006) comme marqueur inflammatoire, sécrété par les macrophages et les neutrophiles sous l'effet des cytokines pro-inflammatoires. Bien que bénéfique, la réponse inflammatoire peut toutefois causer des effets délétères à l'organisme lorsqu'elle persiste longtemps (Baufreton *et al.*, 2006).

Dans cette perspective, l'étude menée au près de diabétiques de type 1 et des sujets sains permettra d'établir la relation qui peut y avoir entre l'apport en vitamine D et le risque inflammatoire du développement du diabète de type 1.

C'est dans ce cadre que s'insère notre travail intitulé «Vitamine D et complément C3 au cours du diabète de type 1 », qui se déroule dans le Laboratoire de recherche n° 51 (de Biologie Moléculaire Appliquée et d'Immunologie), dirigé par le Professeur Mourad ARIBI le Président du CFD immunologie à l'Université de Tlemcen.

Chapitre 1. Revue de la littérature

1.1 Diabète de type 1

1.1.1 Définition

Le diabète se définit par un état d'hyperglycémie chronique, défini biologiquement par une glycémie à jeun supérieure à 1,26 g/L, à 2 reprises, ou une glycémie supérieure à 2 g/L n'importe quand dans la journée (Alexandre *et al.*,2009).

Le diabète de type 1(DT1) appelé insulino-dépendant (Rodier, 2001), est une maladie auto-immune polygénique chronique(Ide *et al.*, 2003), d'installation progressive qui agit sélectivement contre les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas (fig.1.1, fig.1.2, fig.1.3) produisant de l'insuline, survenant sur un terrain génétique de susceptibilité. Malgré sa nature chronique, il existe peu de signes cliniques apparents avant que la maladie atteigne le stade terminal et que les cellules β soient presque entièrement éliminées (Woo *et al.*,2004).

Les mécanismes du déclenchement de la maladie auto-immune ne sont pas connus mais semblent pouvoir intervenir très tôt dans la vie (Dubois-Laforge *et al.*, 2000). La sécrétion d'insuline et la tolérance au glucose se détériorent lentement, sur plusieurs années. Lorsque la plupart des cellules β ont disparu, une hyperglycémie permanente s'installe et les signes cliniques apparaissent rapidement, en quelques semaines ou même en quelques jours (Robert, 1999).

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).

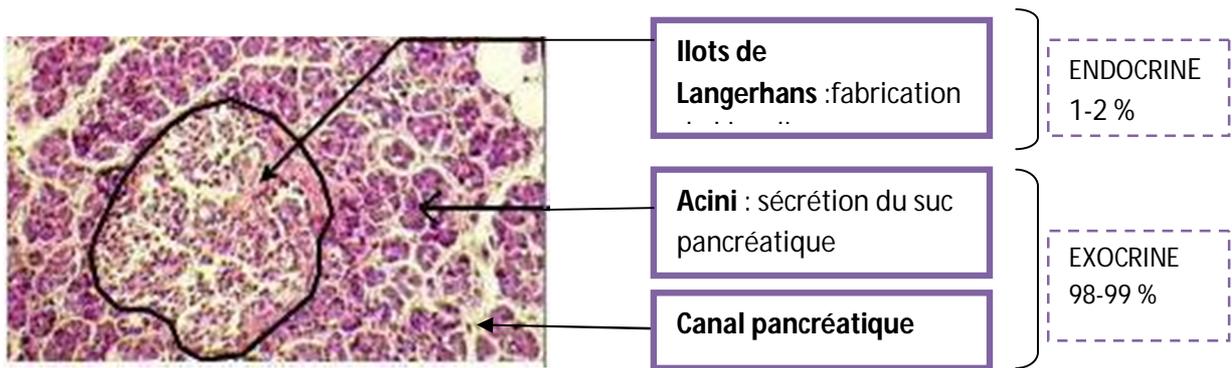


Figure1.1 Coupe transversale de pancréas montrant des ilots de Langerhans au milieu du compartiment exocrine (10⁶ chez l'homme adulte) (Grimaldi, 2009).

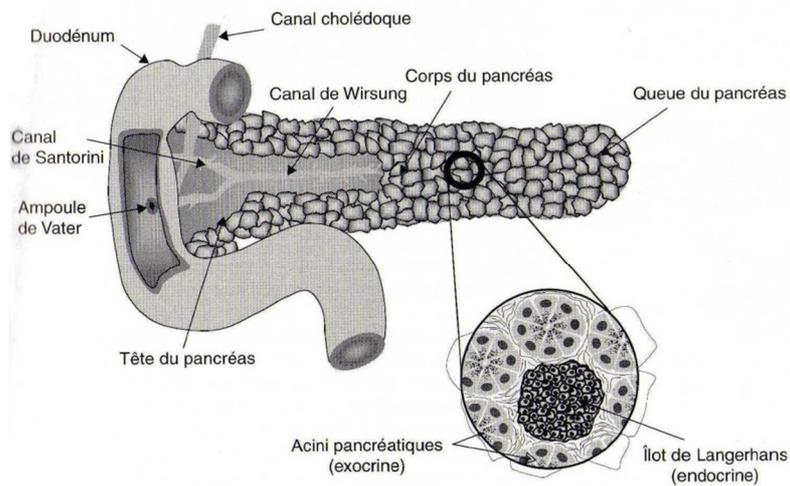


Figure1.2Schéma représentant l'anatomie du pancréas adulte humain et histologie des tissus exocrine et endocrine (Grimaldi, 2009).

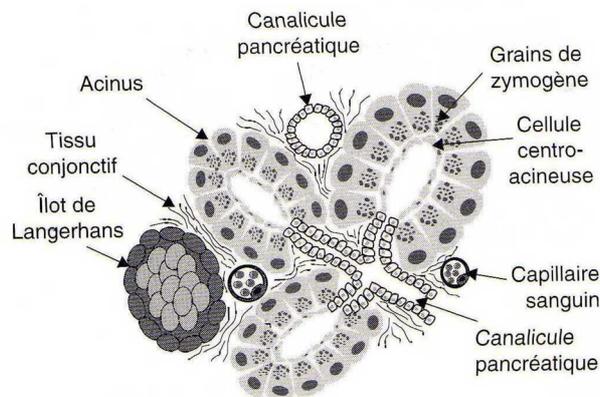


Figure 1.3 Représentation schématique d'une coupe de pancréas de mammifère. (Grimaldi, 2009)

1.1.2 Épidémiologie

Le diabète sucré reste l'une des préoccupations majeures de santé publique. L'augmentation régulière de sa prévalence est de nature épidémique et liée au nombre important de cas de diabétiques dans les pays en développement, du fait des modifications profondes de l'environnement, mais aussi du vieillissement de la population dans les pays industrialisés (King *et al.*, 1998).

Parmi les maladies non transmissibles dans le monde (cancers, maladies cardiovasculaires, diabète sucré, maladies respiratoires chroniques et autres infections dégénératives) le diabète se développe particulièrement parmi les populations urbaines qui ont tendance à prendre du poids, manquer d'exercice et changer d'alimentation. L'organisation mondiale de la santé (OMS) a estimé qu'en 1994 le nombre de diabétiques était de 110,4 millions. Ce chiffre passera en l'an 2010 à 221 millions et à 300 millions en 2025 (King *et al.*, 1998).L'intolérance glucidique (diabète de type 1) et le diabète de type 2 (diabète non insulino-dépendant) sont de loin les formes les plus répandues (Dowse *et al.*,1996).

L'Algérie est dans une trouée épidémiologique, avec une augmentation importante des maladies non transmissibles, dont le diabète sucré, avec des conséquences socio-économiques importantes. La situation est alarmante et depuis longtemps l'OMS insiste sur l'importance de la prévention (Zaoui *et al.*, 2007).

Une étude menée dans l'Ouest algérien entre 1989 et 1993 montre ainsi que le pied diabétique représente à lui seul près de 10 % des hospitalisations, avec une mortalité de 9,1 % et une amputation dans un tiers des cas (Benotmane *et al.*,2000). Une enquête réalisée en 1990 par l'Institut national de santé publique algérien (INSP) montre que le diabète occupe la quatrième place des maladies non transmissibles (Malek *et al.*, 2001), et une enquête par sondage sur ménage, effectuée à Alger en 1992, donne une prévalence globale de 2,1 %(Bezzaoucha, 1992). En 1995, une étude sur une commune d'Alger portant sur 985 sujets âgés de plus de 25 ans a révélé un taux de 8,7 %(Kemali *et al.*,1995).

Plus récemment, cette prévalence a été estimée à 8,2 % (selon les critères de l'OMS) et 8,8 % (selon les nouveaux critères ADA) dans une région de Sétif, au sud-est d'Alger, la capitale (Malek *et al.*, 2001).

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).

Une étude dans la région de Tlemcen (Ouest algérien) sur un échantillon de 7 656 individus a révélé une prévalence du diabète de type 1 de 3,7 %. La prévalence de diabète globale de 14,2 %, les hommes (20,4 %) étant plus touchés que les femmes (10,7 %). Cette prévalence globale est de 15,3 % en milieu urbain et de 12,9 % en milieu rural. Plus de 50 % des diabétiques ont au moins un membre de leur famille atteint de la maladie (Zaoui *et al.*, 2007).

Classe d'âge	Incidence annuelle/ 100 000 enfants en 1988	Incidence annuelle/ 100 000 enfants en 1997
0 – 4 ans	4,2	7,5
5 – 9 ans	7,8	11,7
10 – 14 ans	10,3	14,5
15 – 19 ans	6,2	5,4

Tableau 1.1 Incidence du diabète insulino-dépendant chez l'enfant en Europe (Bouhours-Nouet *et al.*, 2005)

1.2 Histoire naturelle du diabète de type 1

Les causes exactes du DT1 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 séquentiels survenant chez un individu génétiquement prédisposé, déclenchée par des facteurs environnementaux hypothétiques, aboutissant à terme à la destruction complète des cellules β (The EurodiabSubstudy 2 Study Group, 2000).

Le diabète de type 1 se manifeste en deux phases distinctes (Mathis *et al.*, 2001). Tout d'abord, les lymphocytes T spécifiques des cellules β sont activés et infiltrent les îlots de Langerhans et deuxièmement, les lymphocytes activés, conjointement à d'autres leucocytes, détruisent les îlots de Langerhans, entraînant le diabète clinique (Woo *et al.*, 2004).

Étant donné que la phase préclinique est prolongée et que l'on a difficilement accès aux tissus pancréatiques chez les êtres humains, des modèles de rongeurs ont été utilisés pour

étudier la pathogénèse du diabète. En particulier, des souris diabétiques non obèses ont contribué à la compréhension de la pathogénèse du diabète de type 1 chez les êtres humains, étant donné qu'elles ont en commun de nombreux gènes de susceptibilité et que chez elles, la maladie a la même nature multi-génique et évolutive que chez l'être humain (Delovitch *et al.*, 1997).

1.2.1 Phase 1 : Insulite lymphocytaire

Pendant le développement des lymphocytes T, la plupart des lymphocytes T auto-réactifs sont éliminés dans le thymus, un processus appelé « sélection négative ». (Ohashi, 2002) Cependant, certains échappent à la suppression thymique et migrent à la périphérie (Woo *et al.*, 2004).

Normalement, ces lymphocytes T auto-réactifs (dans ce cas, les lymphocytes T spécifiques des cellules β) ne sont pas capables d'envahir les îlots de Langerhans. Ces lymphocytes T doivent tout d'abord être « activés » pour être capables d'envahir les îlots de Langerhans (Matzinger, 2002). De plus en plus de données démontrent la présence d'événements au sein des îlots de Langerhans qui initient l'activation des lymphocytes T. Les îlots de Langerhans doivent tout d'abord « excréter » l'antigène dans le ganglion lymphatique pancréatique sécrétant la lymphe localement. C'est un site où les lymphocytes T peuvent tout d'abord entrer en contact avec l'antigène correspondant (Mathis *et al.*, 2001).

Plusieurs données révèlent que les cellules des îlots de Langerhans sont dynamiques et se renouvellent à un rythme lent pendant la vie (Bonner-Weir, 2001). Durant la période néonatale, le renouvellement des cellules des îlots de Langerhans est accru, de même que la mort physiologique des îlots de Langerhans ou l'apoptose (Woo *et al.*, 2004).

Durant cette période de mort physiologique des îlots de Langerhans, certains sujets excrètent l'antigène des cellules β qui peut rencontrer les lymphocytes T spécifiques des cellules β . Dans des conditions particulières, probablement dictées par la constitution génétique et la susceptibilité d'un sujet, les lymphocytes T spécifiques des cellules β peuvent être activés. Lorsque les lymphocytes T sont activés, ils ont la capacité d'envahir les îlots de Langerhans (Turley *et al.*, 2003 ; Trudeau JD *et al.*, 2000).

1.2.2 : Phase 2 : Destruction des cellules β

Les lymphocytes T activés se différencient en cellules hautement spécialisées dotées de caractéristiques distinctes.

Les cellules CD8+, appelées également les lymphocytes T cytotoxiques, ont la capacité de tuer les cellules β par un contact direct via des récepteurs spéciaux (par exemple les récepteurs Fas ou du facteur de nécrose tumorale [TNF]) (Woo *et al.*, 2004).

En revanche, les cellules CD8+ ont la capacité de sécréter des médiateurs solubles appelés cytokines (par exemple l'interféron [IFN] γ , l'interleukine [IL] 1 β ou IL6) qui sont à l'origine de la suppression directe des cellules β ou fournissent des signaux pour que davantage de leucocytes (par exemple davantage de lymphocytes T, des cellules β , des monocytes et de macrophages) migrent dans les îlots de Langerhans, créant une inflammation locale massive. Les cellules CD4+ ont également la capacité de sécréter d'autres types de cytokines (par exemple l'IL4 ou l'IL10) qui entraînent principalement l'immunosuppression. Les effets cumulatifs de ces forces opposées déterminent finalement le sort des îlots de Langerhans (Mathis *et al.*, 2001; Delovitch *et al.*, 1997).

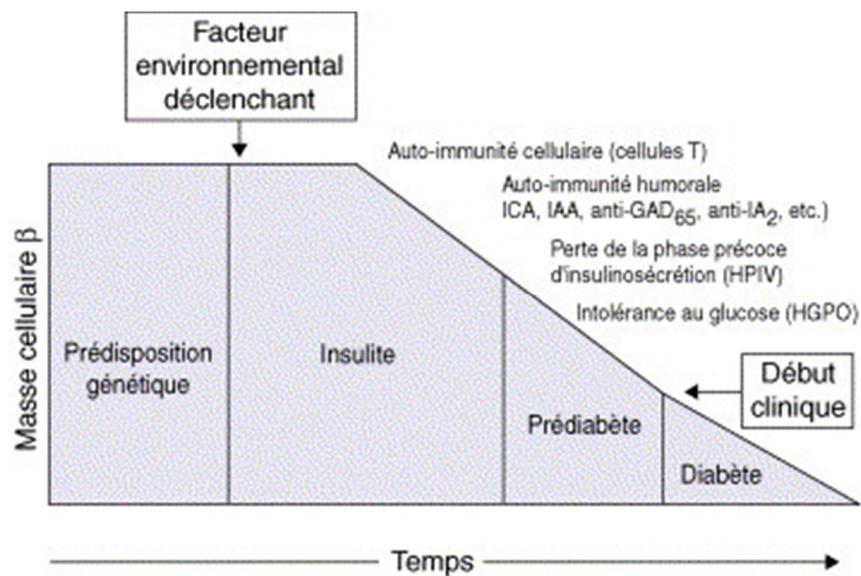


Figure 1.4 Histoire naturelle du diabète sucré de type 1 (Bouhours-Nouet *et al.*, 2005)

ICA : anticorps anti-îlots de Langerhans

IAA : anticorps anti-insuline

GAD : anticorps antiglutamate décarboxylase

IA2A : anticorps anti-tyrosinephosphatase

HGPO : hyperglycémie provoquée par voie orale

HPIV : hyperglycémie provoquée par voie intraveineuse.

PHASE 1	MARQUEURS GENETIQUES
PHASE 2	MARQUEURS D'AUTRO-IMMUNITE
PHASE 3	MARQUEURS METABOLIQUES

Tableau 1.2 Histoire naturelle du diabète de type 1 (Rodier, 2001)

L'histoire naturelle du diabète de type 1 débute avec la présence d'un terrain génétique favorisant (ATCD familiaux, groupage HLA). A ce stade, le processus conduisant à la maladie n'a pas encore débuté mais le risque de survenue du diabète est déjà présent.

La seconde étape est caractérisée par le démarrage de la réaction auto-immune et la dégradation progressive de la capacité d'insulino-sécrétion.

Cette phase est infra-clinique car la masse insulaire restante est capable de maintenir une glycémie normale.

La troisième étape est marquée par l'hyperglycémie chronique et ses conséquences cliniques (Rodier, 2001).

1.2.3 Facteurs de risques du diabète de type 1

Des facteurs environnementaux et une prédisposition génétique contribuent à l'apparition du DT1. Dans environ 40 % des cas, le diabète de type 1 apparaît avant l'âge de 20 ans. La maladie varie en fonction de la localisation géographique, de l'âge, du sexe, de l'origine ethnique et de la période. Dans certaines régions du monde, en particulier dans les pays scandinaves, on a noté une forte augmentation de l'incidence du diabète de type 1 chez l'enfant (Karvonen *et al.*, 1999). Dans l'ensemble, le risque de développer le diabète de type 1 avant l'âge de 20 ans est de 1 sur 300. Il existe une augmentation mondiale de l'incidence du diabète de 2,5 à 3 % par année (Onkamo, 1999).

1.2.3.1 Facteurs génétiques

Les facteurs génétiques jouent un rôle important dans l'incidence de la maladie (Ide, 2003).

Il existe une prédisposition familiale au diabète de type 1 puisque 6 à 10 % des malades ont des antécédents familiaux de diabète au premier degré soit une prévalence environ vingt fois supérieure à celle de la population générale (Rodier, 2001).

La principale région génomique contrôlant cette prédisposition familiale qui est de 40% est celle du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) qui code pour les glycoprotéines HLA (humanleukocyte antigène) de classes I et II. Cette partie du génome, localisée sur le bras court du chromosome 6, joue un rôle central dans les réactions immunes (fig.1.5) (Simon *et al.*,2009). En effet plus de 90% des diabétiques type 1 sont porteurs des allèles du CMH de classe II à haut risque : DQ2 sur les haplotypes DR3 ou DQ4 sur les haplotypes DR4 (Dorman , 1997).

La participation du CMH dans la prédisposition du diabète de type 1 a été montrée par la comparaison des degrés de concordance pour la maladie dans la fratrie d'un sujet atteint. Un individu HLA identique à son frère diabétique devient diabétique dans 15 à 25 % des cas alors qu'un sujet semi identique ne le devient que dans 6 % des cas et qu'un sujet HLA différent dans 1 % des cas seulement. (Rodier, 2001).

Les hétérozygotes DR3-DR4 ont un risque particulièrement élevé de développer un diabète ce qui suggère un effet synergique de ces 2 allèles, avec un tau de 35% des DT1 qui sont hétérozygotes DQ2/DQ8 (Dorman , 1997).

Plus récemment, grâce aux progrès réalisés dans le typage moléculaire du système HLA, les molécules de classe II HLA-DQ, codées dans une région du CMH en fort déséquilibre de liaison avec DR, ont été impliquées (Rodier, 2001).

Les molécules DQb portant un acide aspartique à cette position (ASP 57+) ont un effet neutre ou protecteur sur le risque de diabète alors que celles qui portent un acide aminé autre que l'acide aspartique (ASP 57-) prédisposent à la maladie (Simon *et al.*,2009).

La susceptibilité au diabète de type 1 serait liée à l'effet conjoint de plusieurs gènes CMH et non – CMH (Rodier, 2001).

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 D *et al.*, 2009).

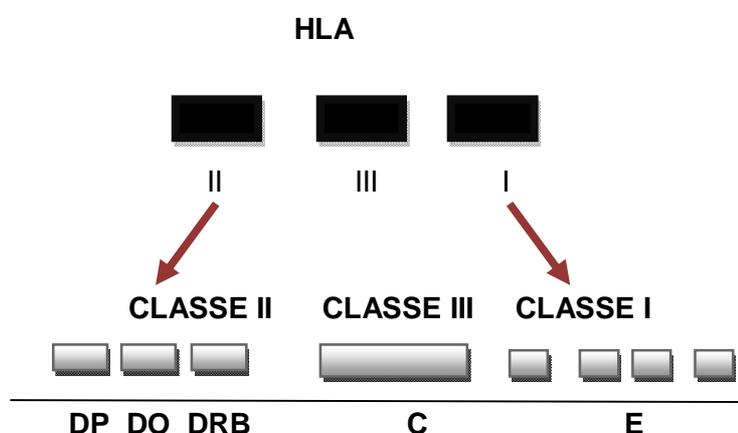


Figure 1.5 Bras court du chromosome 6(Rodier, 2001)

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

1.2.3.2 Facteurs liés à l'environnement

La prédisposition génétique n'est pas seule responsable du diabète de type 1 car la concordance pour cette maladie chez les jumeaux monozygotes ne dépasse pas 40 %. Ceci souligne le rôle non exclusif de la génétique et la probable responsabilité de l'environnement (Rodier, 2001).

Expérimentalement, le diabète de type 1 peut être induit infection virale chez les garçons puisque la plupart des publications indiquent que l'incidence de ce dernier est légèrement plus élevée chez les garçons (Green *et al.*, 1994). Chez l'homme, le rôle des virus est

suggéré par des observations de diabète survenu au décours d'infections virales (oreillons, rubéole congénitale, coxsackie B4, EBV, CMV, etc.) et par la recrudescence saisonnière des nouveaux cas. L'hypothèse avancée est celle d'un mimétisme entre la structure antigénique de ces virus, contre laquelle se développent les anticorps, et celle des cellules B. Cependant, les cas où l'implication formelle de virus dans l'éclosion d'un diabète de type 1 restent anecdotiques (Rodier, 2001).

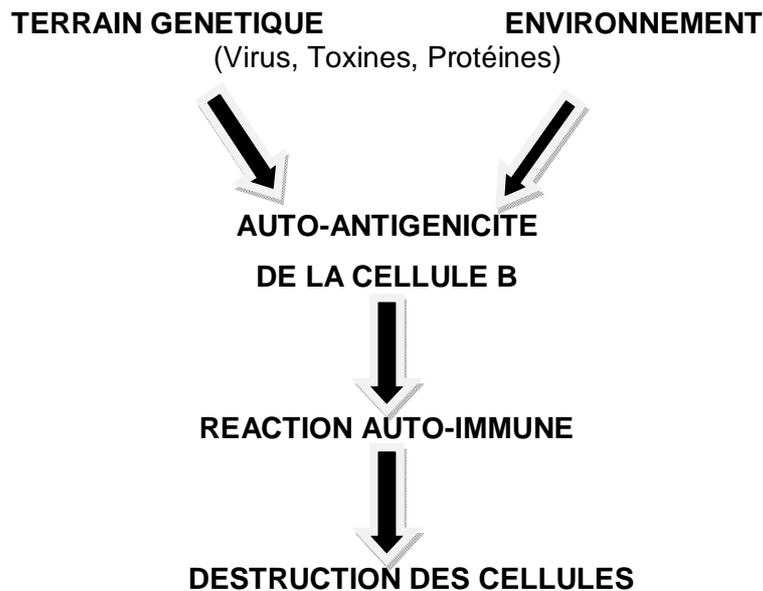


Figure1. 6 Pathogénie du diabète de type 1 (Rodier, 2001)

1.2.3.3 Facteurs diététiques

Chez les modèles animaux, diverses interventions diététiques peuvent moduler l'histoire naturelle de la maladie. Chez l'homme, les premiers travaux suggérant l'influence de facteurs nutritionnels sur l'incidence du diabète de type 1 ont montré un lien entre la consommation d'aliments riches en nitrosamines (composés toxiques pour les cellules β) ou en nitrites, ou de nitrates contenus dans l'eau de boisson (Dahlquist, 1998).

La toxicité des nitrosamines a été avancée car il a été observé, en Islande, que les enfants dont les mères ou les parents ont consommé de la viande de mouton fumée à la période de la conception font plus souvent un diabète de type 1 (Grimaldi, 2009).

Dans les pays scandinaves, il a été noté une prévalence plus élevée de diabète de type 1 chez les nourrissons nourris au lait de vache que chez ceux qui étaient allaités par leur mère. La démonstration de la présence au diagnostic d'anticorps anti-albumine bovine a fait

suspecter un rôle toxique de certaines protéines du lait de vache. En fait, une partie de la molécule d'albumine bovine présenterait des analogies de structure avec certaines protéines des cellules B et pourrait ainsi s'avérer immunogène (Rodier, 2001).

Sur la base d'une corrélation positive entre consommation de lait de vache et prévalence du diabète de type 1, un intérêt particulier a été porté au lien potentiel entre modalités d'allaitement dans la petite enfance et survenue d'un diabète de type 1. Cette association a conduit à deux hypothèses : d'une part, un allaitement maternel suffisamment long (3 à 18 mois) pourrait protéger contre la survenue ultérieure d'un diabète de type 1 ; d'autre part, l'introduction précoce de protéines du lait de vache, chez des sujets à risque génétique de diabète de type 1, pourrait constituer un facteur de risque (Knip *et al.*, 1999).

Deux méta-analyses d'études rétrospectives ont confirmé une augmentation modeste (risque relatif de 1,5) du risque de diabète de type 1 chez les enfants non allaités par leur mère ou de façon brève. Le risque serait plus élevé chez les sujets porteurs des haplotypes HLA de susceptibilité au diabète de type 1 (Virtanen *et al.*, 2000).

1.3 vitamine D et auto immunité

1.3.1 Définition de la vitamine D

La vitamine D est une vitamine liposoluble. Elle provient à 80–90% de la biosynthèse cutanée sous l'effet du rayonnement ultraviolet (St Arnaud *et al.*, 2012) où elle commence et se termine au niveau rénal par l'hydroxylation en position 1, après plusieurs étapes successives (fig. 1.7) (Bacchetta *et al.*, 2010). La principale source de vitamine D est l'exposition aux ultraviolets B qui entraînent au niveau de l'épiderme la conversion du 7-déhydrocholestérol en pré-vitamine D₃, rapidement convertie en vitamine D₃ native. (Schoindrea *et al.*, 2012). Les autres sources qui représentent 10 -20% sont exogènes via l'alimentation et la supplémentation. A cet égard, elle se comporte plus comme une hormone que comme une vitamine. Le terme « vitamine » est imparfait, car les apports alimentaires ne sont pas nécessaires si l'exposition solaire est suffisante (Tonson la Tour *et al.*, 2012).

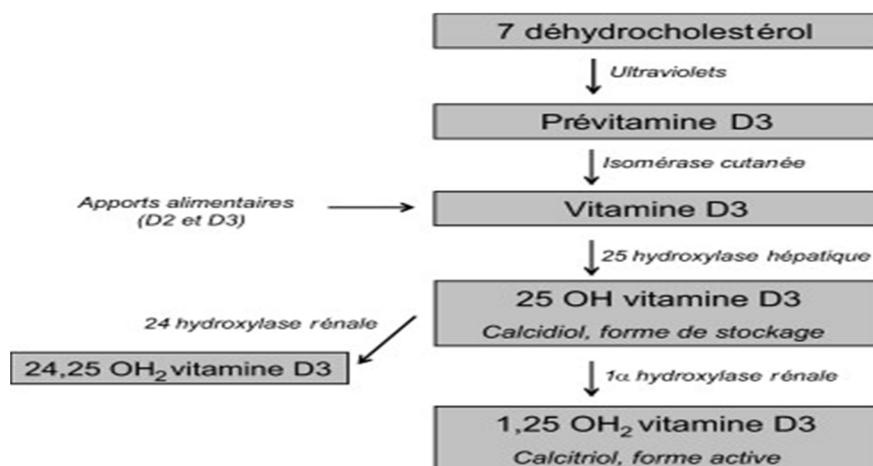


Figure 1.7 Les grandes étapes de la biosynthèse de la vitamine D.
(Bacchettaa *et al.*,2010)

1.3.2 Les deux formes vitaminiques

Le terme « vitamine D » inclut la vitamine D2 ou ergocalciférol, d'origine végétale et la vitamine D3 ou cholécalciférol, d'origine animale, qui sont des sécostéroïdes (Schoindre *et al.*,2012). Elle existe sous 2 formes principales : la forme de stockage (25 OH vitamine D3 ou calcidiol) et la forme active (1-25 OH₂ vitamine D3 ou calcitriol) (Bacchettaa *et al.*,2010).

La 1-25 OH₂ vitamine D3 est une hormone stéroïde qui agit au niveau cellulaire après une liaison initiale cytoplasmique au récepteur de la vitamine D (VDR) qui appartient à la superfamille des récepteurs nucléaires, puis migration dans le noyau de la cellule et fixation sur une séquence rétinol X récepteur (RXR). L'hétérodimère ainsi formé se fixe sur le site de réponse à la vitamine D (VDRE) et déclenche l'expression ou la répression des gènes cibles contrôlés par la vitamine D (Hollick *et al.*, 2006).

Même si classiquement, la 25 OH vitamine D3 est considérée comme une forme de stockage sans activité biologique, il est important de noter que le VDR peut également se lier à elle, avec cependant une affinité 3 fois plus faible qu'avec la 1-25 OH₂ vitamine D3 (St Arnaud *et al.*, 2003).

1.3.3 La vitamine D et système immunitaire

Globalement, de nombreuses études expérimentales sont en faveur d'une inhibition de l'immunité acquise et d'une stimulation de l'immunité innée par la vitamine D (Saggese *et al.*, 1989).

Les cellules dendritiques et les monocytes-macrophages expriment le VDR à l'état basal, les lymphocytes T et B essentiellement à l'état activé (Mora *et al.*, 2008). Les macrophages et certaines cellules dendritiques possèdent l'équipement enzymatique nécessaire aux deux étapes d'hydroxylation de la vitamine D native, alors que les lymphocytes T activés et les lymphocytes B n'expriment que la 1 α -hydroxylase (Mora *et al.*, 2008).

À la différence de l'enzyme rénale, la 1 α -hydroxylase exprimée par les cellules du système immunitaire n'est pas régulée par les paramètres du métabolisme phosphocalcique, mais par des stimuli immunologiques comme l'interféron- γ (Arnson *et al.*, 2007). Le calcitriol produit localement serait physiologiquement concentré dans le microenvironnement lymphoïde et agirait sur le système immunitaire de façon intracrine, autocrine ou paracrine (Mora *et al.*, 2008).

1.3.4 Vitamine D et cellules dendritiques régulatrices

Les cellules dendritiques, « sentinelles » du système immunitaire, capturent l'antigène en périphérie, migrent vers les organes lymphoïdes secondaires où elles initient la réponse immunitaire primaire en présentant l'antigène aux lymphocytes T naïfs. Pendant leur migration, elles subissent un processus de maturation augmentant leurs propriétés immunostimulatrices (Adorini *et al.*, 2009).

On distingue les cellules dendritiques myéloïdes (M-DC) et les cellules dendritiques plasmacytoïdes (P-DC), Les P-DC jouent un rôle-clé dans le maintien de la tolérance périphérique et sont considérées comme naturellement tolérogènes. Les M-DC sont les cellules présentatrices d'antigène les plus efficaces mais peuvent être selon les conditions immunogènes ou tolérogènes. Les M-DC tolérogènes se caractérisent par leur immaturité relative, caractérisé notamment par une diminution de l'expression des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II et des molécules de costimulation comme CD40, CD80 et CD86, une diminution de la synthèse d'IL-12 et une augmentation de la production d'IL-10 (Schoindre *et al.*, 2012).

Parfois considérée comme un simple inhibiteur de la différenciation et de la maturation des cellules dendritiques, il a été montré par une approche transcriptomique que la 1,25(OH)₂D induisait un programme transcriptionnel autonome en grande partie indépendant de la différenciation et de la maturation (Szeles *et al.*, 2009).

Le calcitriol permet d'obtenir une réponse immunitaire à la fois systémique et muqueuse à la vaccination. C'est en partie via cette action sur les M-DC que le calcitriol induit à partir de lymphocytes T naïfs la différenciation de lymphocytes T régulateurs (Adorini *et al.*, 2009).

Le blocage de PD-L1 qui est une molécule capable d'inhiber la costimulation, par les cellules dendritiques modulées par le calcitriol, empêche la différenciation des lymphocytes T naïfs en lymphocytes T régulateurs sécréteurs d'IL-10 et induit leur différenciation en lymphocytes T effecteurs de profil T-helper-1 (Th1) (Unger *et al.*, 2009). Il a été montré que seuls les lymphocytes T régulateurs induits par les M-DC exposées au calcitriol, par opposition aux lymphocytes T régulateurs induits par les MDC exposées à la dexaméthasone, étaient spécifiques d'un antigène (Unger *et al.*, 2009).

De même, le calcitriol module la différenciation des lymphocytes T naïfs en lymphocytes T effecteurs en partie par le biais de son action sur les M-DC. La diminution de la synthèse d'IL-12 et d'IL-23 par les M-DC sous l'effet du calcitriol aboutit à un blocage de la différenciation en lymphocytes Th1 et Th17, considérés comme des chefs d'orchestre de l'auto-immunité (Mora *et al.*, 2008).

Enfin, il a été montré que les M-DC exposées au calcitriol entraînaient une anergie et induisaient l'apoptose des lymphocytes T autoréactifs (van Halteren *et al.*, 2004).

1.3.5 Vitamine D et tolérance lymphocytaire T

Les MAI (maladies autoimmunes) traduisent une rupture de la tolérance au soi. Parmi les mécanismes impliqués dans la tolérance immunitaire, la tolérance lymphocytaire T est la plus étudiée. La vitamine D intervient dans la tolérance lymphocytaire T à différents niveaux (Schoindre *et al.*, 2012).

1.3.5.1 Vitamine D et tolérance centrale

Dans le thymus, la tolérance centrale repose, d'une part, sur la délétion clonale des lymphocytes T dont le TCR présente une trop forte affinité pour les peptides issus d'auto-antigènes présentés par les molécules du CMH, et d'autre part, sur la différenciation de lymphocytes T régulateurs naturels exprimant Foxp3 (Zanoni *et al.*, 2011).

De nombreuses MAI sont associées à des polymorphismes de certains gènes du CMH, facteurs génétiques de susceptibilité prépondérants dans des maladies comme le diabète de type 1 (Israni *et al.*, 2009).

l'expression de l'allèle HLA-DRB1*15 est dépendante du calcitriol, ce qui n'est pas le cas des autres allèles du gène *HLA-DRB1* contenus dans d'autres haplotypes (Ramagopalan *et al.*, 2009). Plus récemment, une étude a trouvé un VDRE au niveau du promoteur de l'allèle HLA-DRB1*0301 associé au risque de diabète de type 1 (Israni *et al.*, 2009).

l'hypothèse que chez les individus porteurs de l'haplotype HLA-DR2 ou de l'allèle HLA-DRB1*0301, une carence prolongée en vitamine D dans les premières années de la vie entraînerait une diminution de l'expression de ces allèles dans le thymus, ce qui induirait une perte de la tolérance centrale vis-à-vis de certains auto-antigènes, exposant à un risque ultérieur d'auto-immunité (Israni *et al.*, 2009 ; Ramagopalan *et al.*, 2009).

1.3.5.2 Vitamine D et tolérance périphérique

La tolérance périphérique est destinée à contrôler les lymphocytes T autoréactifs de faible affinité ayant échappé à la sélection thymique. Elle repose schématiquement sur plusieurs mécanismes, comme l'anergie, la délétion clonale, la modulation de la réponse effectrice parfois appelée « déviation immune » et la différenciation périphérique de lymphocytes T régulateurs (Zanoni *et al.*, 2011).

Plusieurs populations lymphocytaires T ont des propriétés régulatrices : les plus emblématiques sont les lymphocytes T régulateurs exprimant Foxp3 dit « naturels » dérivés du thymus, mais il existe également des lymphocytes T régulateurs exprimant Foxp3 dit « adaptatifs », induits en périphérie à partir de cellules T naïves, et des lymphocytes T régulateurs exprimant l'IL-10 appelés Tr1, également induits en périphérie (Buckner, 2010).

Il semble que la suppression dépendante du CTLA-4 exprimé par les lymphocytes T régulateurs exprimant Foxp3 soit essentielle pour maintenir la tolérance au soi (Wing *et al.*, 2010).

Comme indiqué plus haut, les M-DC devenues « régulatrices » sous l'action de la vitamine D sont capables d'induire l'anergie et la délétion clonale des lymphocytes T autoréactifs (van Halteren *et al.*, 2004).

De même, l'effet du calcitriol sur la différenciation lymphocytaire T, l'induction de lymphocytes T régulateurs et l'inhibition des réponses Th1 et Th17, est souvent considéré comme principalement médié par la modulation du phénotype des M-DC (Baeke *et al.*, 2011).

Toutefois, il est désormais bien établi que le calcitriol exerce une action directe sur les lymphocytes T, indépendante de son action sur les cellules dendritiques, notamment sur les lymphocytes T activés dont l'expression du VDR est accrue par rapport aux lymphocytes T naïfs. Il a ainsi été montré que l'exposition de lymphocytes T CD4⁺ activés au calcitriol diminuait l'expression de cytokines pro-inflammatoires comme l'interféron- γ et l'IL-17, cytokines effectrices des réponses Th1 et Th17 respectivement, sans modifier la prolifération, et favorisait en synergie avec l'IL-2 l'émergence de lymphocytes T régulateurs exprimant Foxp3 et CTLA-4 (Jeffery *et al.*, 2009).

Par une approche transcriptomique sur des lymphocytes T activés exposés à un analogue de la vitamine D en l'absence de cellule présentatrice d'antigènes, un travail récent a pu montrer que la mise en jeu du VDR diminuait la prolifération des lymphocytes CD4 et CD8, réprimait la synthèse d'interféron- γ et d'IL-17, augmentait la synthèse d'IL-10, diminuait l'activation lymphocytaire évaluée par l'expression du CD69 et du CD40L, induisait des lymphocytes T exerçant des propriétés régulatrices via l'expression de CTLA-4 et modulait l'expression de récepteurs aux chimiokines ayant pour effet de favoriser leur migration au niveau des sites inflammatoires (Baeke *et al.*, 2011).

Les données concernant l'impact du calcitriol sur la synthèse d'IL-4 et in fine sur la réponse Th2 sont en revanche contradictoires (Schoindre *et al.*, 2012). La mise en évidence d'un VDRE au niveau du promoteur du gène de l'interféron- γ avait démontré que le calcitriol était un régulateur transcriptionnel de la synthèse de cette cytokine (Cippitelli *et al.*, 1998).

Il a également été montré que le calcitriol, en combinaison avec la dexaméthasone, induisait en l'absence de cellule présentatrice d'antigènes la différenciation de lymphocytes T naïfs en lymphocytes T régulateurs particuliers, sécrétant de l'IL-10 mais différents des lymphocytes Tr1 précédemment cités (Adorini *et al.*, 2009).

1.3.6 Vitamine D et lymphocytes B

Un grand nombre de MAI se caractérisent par une hyperactivation lymphocytaire B et par la production d'auto-anticorps. L'effet bénéfique dans les MAI de certaines biothérapies comme le rituximab, dont l'action est médiée par la déplétion lymphocytaire B, ou le bélimumab, agissant sur l'activation lymphocytaire B, illustrent le rôle central des lymphocytes B et l'importance de la modulation des lymphocytes B dans la prise en charge thérapeutique de ces pathologies (Schoindre *et al.*, 2012).

Le calcitriol diminue la prolifération des lymphocytes B activés qui expriment le VDR en induisant leur apoptose, inhibe la différenciation plasmocytaire et par là-même la sécrétion d'IgG et d'IgM, ainsi que la génération de cellules B mémoire (Chen *et al.*, 2007).

La vitamine D est également susceptible de moduler la réponse immune en augmentant l'expression d'IL-10 par les lymphocytes B (Heine *et al.*, 2008).

Des effets indirects de la vitamine D sur les lymphocytes B via son action sur les cellules dendritiques les cellules T CD4 sont vraisemblablement également en cause (Mora *et al.*, 2008). Il a été montré au cours du lupus systémique que l'exposition au calcitriol et à ses analogues de cellules mononuclées du sang (PBMC) de patients présentant une maladie active réduisait la différenciation lymphocytaire B et freinait la production d'immunoglobulines G (IgG) polyclonales et d'IgG anti-ADN natif (Linker-Israeli *et al.*, 2001).

1.4 Complément C3

1.4.1 Système du complément

Le système du complément est un ensemble de protéines qui participe aux mécanismes de défense naturels de l'hôte contre l'infection, au maintien en solution et à l'élimination des complexes immuns. Compte tenu des fonctions du système du complément, une exploration de ces protéines est principalement indiquée pour le diagnostic et le suivi de maladie auto-immune et pour rechercher des facteurs favorisant des infections (Frémeaux-Bacchia *et al.*, 2012). Le système du complément comprend des protéines plasmatiques et membranaires. Certaines protéines participent à l'activation du complément (par les voies classique, alterne, des lectines ou finale commune) et la plupart d'entre elles acquièrent leurs activités biologiques séquentiellement en cascade (Figure 1.8) (Walport 2001). Un test fonctionnel du système du complément : le CH50 (Complément hemolytic 50) est effectué en première intention, complété par un dosage du C3 et du C4 par néphélométrie. Ces trois analyses permettent de diagnostiquer une activation du complément et de préciser son mécanisme mais aussi de dépister un grand nombre de déficit complet. Si le lien entre les déficits en

protéines de la voie alterne et les infections est connu de longue date (Frémeaux-Bacchia *et al.*, 2012).

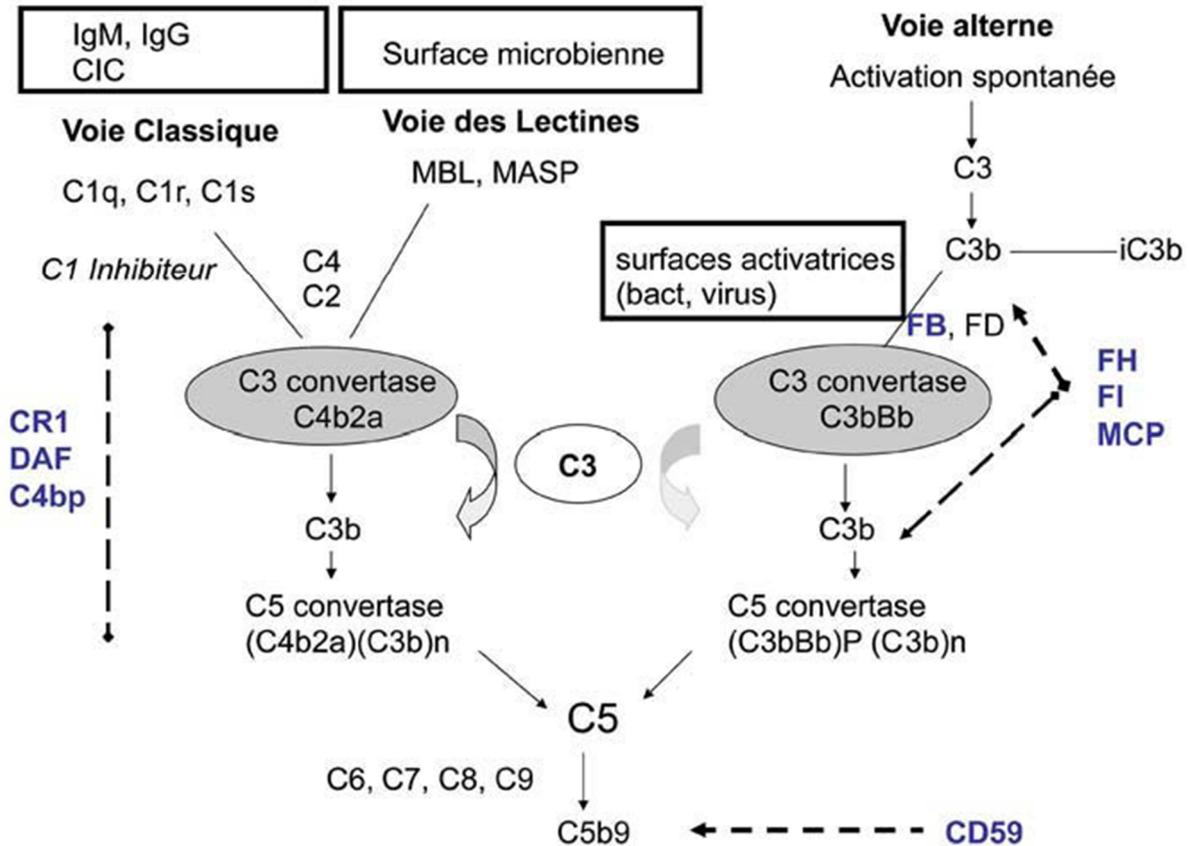


Figure 1.8 Représentation schématique des voies d'activation du complément (Frémeaux-Bacchia *et al.*, 2012)

1.4.2 Structure du complément C3

C3 est une glycoprotéine sérique abondante (1,3 mg/ml) formée de deux chaînes, α (110kDa) et β (75 kDa), reliées par un pont disulfure (De Bruijn, 1985). La caractéristique sans doute la plus importante de cette protéine réside dans sa capacité transitoire de se lier de façon covalente à de nombreuses autres molécules. Cette liaison est par la suite stabilisée à l'intérieur de la structure tridimensionnelle du C3 natif. Au moment de la formation de C3b, c'est-à-dire lorsque C3 est clivé au cours de l'activation du complément ou par action d'autres protéases (trypsine, élastase, etc.), un changement de conformation dans la protéine provoque l'exposition du thioester aux attaques nucléophiles permettant, en théorie, une réaction avec les groupements -OH ou -NH₂ (villier, 1995).

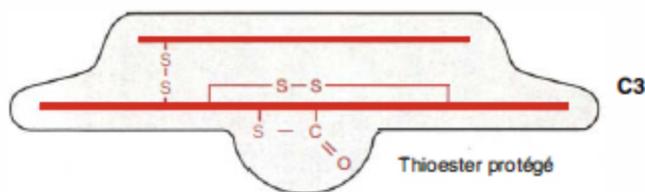


Figure1.9 Structure du complément C3 (villier, 1995).

1.4.3 Rôle du complément C3 dans l'immunité

La molécule C3 du complément a non seulement un rôle central dans le fonctionnement du système complémentaire, mais elle tient aussi, en se liant de façon covalente à l'antigène, une place très importante dans la réponse immunitaire (Erdei *et al.*, 1991). Son clivage protéolytique modifie la conformation de la molécule de manière qu'un pont thioester intramoléculaire se rompt, permettant l'établissement d'une liaison covalente avec des accepteurs tels que des bactéries, des complexes immunitaires et d'autres protéines. Le complexe fragment de C3/antigène pénètre dans les cellules présentatrices de l'antigène après liaison aux récepteurs de C3, et la présence de fragments du C3 modifie l'apprêtement des peptides antigéniques dans les endosomes (villier, 1995). Des modèles animaux déficients en C3 ont permis de montrer qu'il est impliqué dans la commutation IgM/IgG et à plusieurs niveaux de la réponse immunitaire: opsonisation, prolifération cellulaire, cytotoxicité et établissement de la mémoire immunologique (Dierich *et al.*, 1993).

1.5 Problématique

Le diabète de type 1 est une maladie auto-immune correspondant à la destruction progressive et sélective des cellules β des îlots de Langerhans, qui normalement synthétisent l'insuline, aboutissant à une carence absolue en insuline.

Récemment il a été constaté que le Lymphocyte B peut avoir un rôle à jouer dans la réponse inflammatoire et la présentation de l'antigène au cours du DT1.

Par-ailleurs le lymphocyte B est pourvu de récepteurs pour la Vitamine D, appelé VDR (Vitamine D Receptor).

A son tour le complément C3, a non seulement un rôle central dans le fonctionnement du système complémentaire, mais il tient aussi, en se liant de façon covalente à l'antigène, une place très importante dans la réponse immunitaire.

A cet égard, je vais essayer de mettre en évidence la relation qui peut exister entre l'apport en vitamine D et le complément C3 au cours du DT1, pour cela une étude rétrospective sera réalisée chez des diabétiques de type 1 et chez des control sains, au niveau des différents services du CHU service de médecine interne et services de pédiatrie.

1.5.1 Objectif de l'étude

Notre travail a pour objectif d'étudier la relation entre l'apport en vitamine D et le risque inflammatoire du développement du diabète de type 1.

1.5.2 Intérêt de l'étude

Les données recueillis dans notre étude pourraient être utiles en vue de montrer l'implication de la vitamine D dans le processus inflammatoire du DT1 et ainsi contribuer à mieux connaître la prévention du DT1 par la consommation de la vitamine D.

Chapitre 2. Matériels et méthodes

2.1 Sujets et patients

il s'agit d'une étude prospective cas témoins effectuée sur 10 patients atteints de diabète de type 1 (6 masculins, 4 féminins ; âge : 23.5) et 10 témoins sains (6 masculins, 4 féminins ; âge : 24), recrutés aux services de pédiatrie de médecine interne du centre hospitalier et universitaire de Tlemcen et du centre de Sidi chaker de Tlemcen durant une période printanière de 3 mois allant du 10 Avril au 26 juin 2013, les caractéristiques démographiques des diabétiques ont été enregistrées à l'aide d'un questionnaire.

2.2 Prélèvements sanguins

Les prélèvements ont été réalisés le matin (8 :30-10 :00), au niveau de la veine du pli du coude. Le sang est collecté dans des tubes secs identifiés préalablement.

Les tubes ont été centrifugés après quelques heures du prélèvement à 1000g pendant 20 minutes et les sérums ont été transférés dans des tubes Eppendorf, puis congelés à -20°C (Congélateur du laboratoire d'Immunologie) jusqu'au moment du dosage.

2.3 Etude épidémiologique

2.3.1 Questionnaire individuel

La collecte d'informations des patients atteints du Diabète de type 1 a été recueillie à l'aide d'un questionnaire portant sur les paramètres épidémiologiques que sont l'âge, le sexe, l'indice de la masse corporelle (IMC), les paramètres environnementaux qui sont la durée d'exposition au soleil.

2.3.2 Enquête alimentaire

L'objectif de cette enquête rétrospective est de contribuer à la connaissance de l'alimentation de la population étudiée, de leur comportement alimentaire et leur habitude alimentaire. Elle est réalisée en deux parties, le questionnaire de fréquence alimentaire et le rappel alimentaire de 24 heures (Annexe c).

2.3.2.1 le questionnaire de fréquence alimentaire

A l'origine de nature qualitative, il s'agit d'estimer directement la fréquence de consommation en divers aliments pour chaque individu enquêté.

2.3.2.2 Le rappel alimentaire de 24 heures

Le rappel alimentaire de 24 heures est fréquemment utilisé pour estimer l'apport alimentaire d'un groupe d'individus. L'enquêteur formé demande au participant d'indiquer en détail les aliments consommés au cours des 24 heures précédant l'enquête.

L'enquêteur note la description détaillée de tous les aliments et les boissons consommés de même que les quantités. Il note aussi le type de repas, les modes de préparation et de cuisson des aliments, les marques de commerce et le lieu de préparation des repas.

2.3.2.3 Traitement des données

Après le recueil des données, les aliments consommés sont convertis en énergie et en nutriment par l'utilisation d'un logiciel intégrant la composition des aliments consommés (Nutrilog version 3.31). Les calculs pour la consommation moyenne en élément nutritifs ont été réalisés en utilisant la base de données alimentaire française.

Ce logiciel permettra de connaître : L'apport énergétique quotidien, la consommation journalière globale de protéines de lipides, et de glucides et l'apport en micronutriments.

2.4 Description des méthodes utilisées

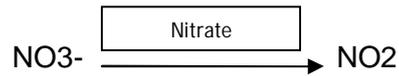
2.4.1 Dosage de NOx par la méthode de Griess

Il ya plusieurs méthodes pour le dosage de NOx dans le sérum, y compris la méthode de Griess. Elle est choisie dans cette étude, en raison de sa popularité au sein des travaux de recherche actuels, sa simplicité, sa rapidité et son faible cout (Asghar*et al.*, 2007).

2.4.1.1 Principe

Afin de déterminer la concentration de NO sérique, il faut d'abord mesurer le taux des nitrates et nitrites(NOx), considérés comme produits dérivés de NO et marqueurs indirects de sa formation in vivo.

Le sérum collecté est d'abord déproeinisé par une solution saline de TCA. Le surnageant ainsi récupéré est additionné à du Vanadium III chloride qui a pour rôle la réduction du nitrate en nitrite selon la réaction suivante :



Cette étape est suivie par l'ajout du réactif de Griess qui absorbe le NO₂ en formant une coloration diazoiquerosse. L'absorbance est ensuite mesurée à 520 nm et les concentrations de NO_x sont déterminées à partir d'une courbe d'étalonnage établie à l'aide du nitrate sodique NaNO₃ (Asghar *et al.*, 2007).

2.4.1.2 Technique

1. Déprotéiniser le sérum par addition de 99µL de TCA (5%) à 11µL de sérum. Vortexer, puis centrifuger (1000g/10min).
2. Dans un tube Eppendorf, mettre 100µL du surnageant récupéré de l'étape précédente et 100µL de Vanadium III chloride (8mg/ml).
3. Ajouter 50µL du réactif de Griess. Une couleur rose est ainsi formée.
4. Incuber à 37°C pendant 30min.
5. Les concentrations du NO_x dans les échantillons de sérums sont ensuite déterminées à partir d'une courbe d'étalonnage établie par 0-150 µmol/L de nitrate sodique NaNO₃.



Centrifugation 1000g/10mn



récupération du sérum

2.4.2 Dosage de CRP par technique d'immunoagglutination (kit BIOSYSTEMS : C-REACTIVE PROTEIN (CRP) – SLIDE , REF : 31012)

2.4.2.1 Principe

Le dosage de la CRP se fait à partir d'échantillon sanguin par une technique d'immunoagglutination associée à des dilutions sériées de deux en deux, en utilisant des anticorps anti-CRP fixés sur des particules de latex.

2.4.2.2 Réactifs

-Particules de latex fixant des anticorps de type IgG anti-CRP humain (pH 8.2 azide de sodium 0.95g/L).

-Contrôle positif : sérum humain avec concentration de CRP > 20 mg/L. azide de sodium 0.95g/L.

-Contrôle négatif : sérum animal. Azide de sodium 0.95 g/L.

Les latex de CRP sont calibrés à la référence du matériel : 31012



Dosage de CRP par technique d'immunoagglutinationkit BIOSYSTEMS

2.4.2.3 Procédure

2.4.2.3.1 Test qualitatif

50µL du sérum est mis sur un cercle de la plaque de test, une goutte de contrôle positif sur un autre cercle, et une goutte de contrôle négatif sur un troisième cercle de la plaque de test.

Une goutte (50µL) de réactif CRP-latex est ajoutée sur les cercles de la plaque de test.

Les gouttes sont mélangées par une strie, en utilisant toute la surface du cercle, et en utilisant une différente strie pour chaque sérum, après un mouvement de rotation est réalisé à la plaque ; ensuite l'agglutination est examinée pendant une période n'excédant pas les 2 minutes.

2.4.2.3.2 Test semi-qualitatif

Des dilutions sériées de deux en deux sont réalisées à l'aide d'eau physiologique.

Pour calculer la concentration de CRP dans la méthode semi-quantitative, on multiplie la valeur de la grande dilution par le seuil de détection (6mg/L).

2.4.2.4 Interprétation des résultats

La présence d'agglutination indique une concentration de CRP supérieur ou égale à 6 mg/L. Pour calculer la concentration de CRP dans la méthode semi-quantitative, on multiplie la valeur de la grande dilution par le seuil de détection (6 mg/L).

2.4.3 Electrophorèse des protéines par - Kit SEBIA HYDRAGEL PROTEIN K20

2.4.3.1 Principe

L'électrophorèse des protéines du sérum ou d'autres liquides biologiques humains est une analyse très utile en laboratoire d'analyses cliniques pour rechercher les modifications de profil protéique. Des techniques d'électrophorèse de zone ont été développées sur différents supports, chacun donnant un fractionnement des protéines sériques en fonction de leur charge, dans un tampon de pH donné. L'agarose, d'utilisation très facile, a été choisi comme support. Il donne une séparation des constituants sériques humains en six fractions majeures de mobilités différente : albumine, alpha-1 globulines, alpha-2 globuline, bêta-1 globulines, bêta-2 globulines et gamma globulines.

La technique HYDRAGEL PROTEN(E) K20 permet en particulier la séparation des fractions β_1 et β_2 . La fraction β_1 correspond à la transferrine et aux bêta lipoprotéines, la fraction β_2 correspond au complément C₃. Chaque zone contient un ou plusieurs constituants sériques.

2.4.3.2 Réactifs

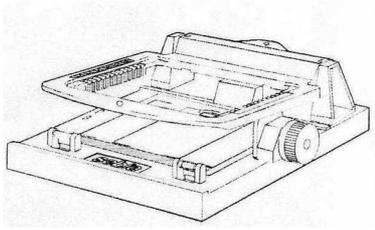
- Gel d'agarose (prêts à l'emploi)
- tampon tris-Barbital (solution concentrée)
- Diluant colorant (solution concentrée)
- Décolorant (solution concentrée)

2.4.3.3 Technique

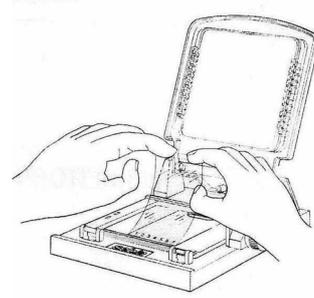
a) Migration

Nous avons :

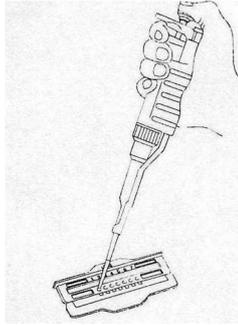
1. Posé le porte-applicateur HYDRAGEL K20 à plat sur la paillasse et relevé le chariot porte-applicateur ;
2. Déposé 120 μL d'eau distillée ou déminéralisée sur le plateau de porte-applicateur dans le tiers inférieur du cadre sérigraphie ;
3. Sorti le gel de son emballage ;
4. Éliminé rapidement l'excès du liquide en surface, en effleurant le gel avec un papier filtre fin ;
5. placé le gel (face orientée vers le haut) sur le plateau du porte-applicateur contre la barrette, à l'intérieur du cadre sérigraphie ;
6. Donné un forme concave au gel et on le déroule sur le plateau jusqu'au contact de la goutte d'eau qui doit se répartir sur toute la largeur du gel. On relève légèrement le gel pour éliminer les bulles d'air éventuellement puis dérouler totalement le gel au contact du plateau. La goutte d'eau doit s'étaler sous toute la surface du film ;
7. Abaissé le chariot du porte-applicateur jusqu'en position intermédiaire, la manette situé sur le coté du porte-applicateur en position haute ;
8. Posé un applicateur à plat sur la paillasse, la numérotation vers le haut (puits) ;
9. Déposé 10 μL de sérum pur dans chaque puits. Le chargement de l'applicateur ne doit pas excéder 2 minutes ;
-L'applicateur doit être utilisé immédiatement après le chargement ;
-Pour un dépôt diffère (8 heures maximum), placer l'applicateur dans la chambre humide dents vers le haut (en manipulant l'applicateur par la protection en plastique), placer la chambre humide au réfrigérateur et ne placer le gel sur le porte-applicateur HYDRAGEL K20 qu'au moment de l'utilisation ;
10. Éliminé la protection des dents de l'applicateur ;
11. Place l'applicateur en position n° 5 sur le porte-applicateur ;
12. Abaisse le chariot porte-applicateur jusqu'en butée, à l'aide de la manette du porte-applicateur pour amener l'applicateur au contact du gel ;
13. Après 40 secondes d'application, on tourne la manette du porte applicateur pour relever l'applicateur et le jeter par la suite ;
14. Placé le gel dans la cuve d'électrophorèse, selon la polarité indiqué sur le gel, bas du gel coté cathodique ;
15. Branché la cuve au générateur ;
16. Après migration, nous avons branché la cuve et sorti le gel.



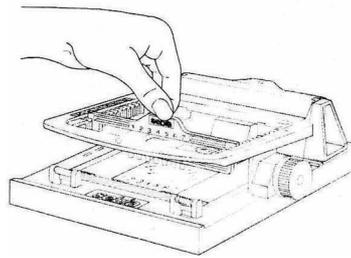
porte-applicateur HYDRAGEL K20



placement du gel à l'intérieur du cadre



Dépôt du sérum dans les puits de l'applicateur



Abaissement du chariot porte-applicateur

B). Fixation des protéines

Elle peut se faire de deux façons : fixation à la chaleur ou l'aide de la solution de fixation.

Fixation à la chaleur (uniquement avec l'incubateur-sécheur IS 80 SEBIA) :

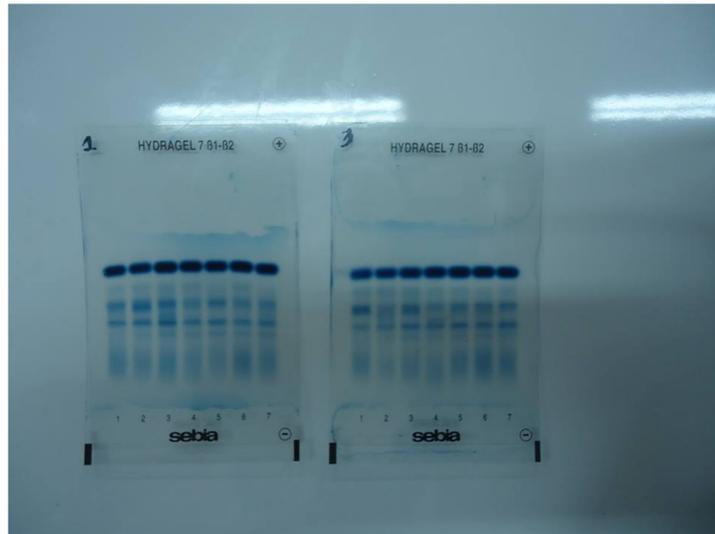
On sèche le gel sous un air chaud à 80 °c dans l'incubateur-sécheur IS 80 jusqu'à séchage complet (pendant 10 minutes minimum).

Fixation avec la solution de fixation :

1. On place le gel dans un portoir (fourni dans le kit accessoire HYDRAGEL K20 SEBIA) ;
2. On remplit un bac (fourni dans le kit accessoire HYDRAGEL K20 SEBIA) avec 150 mL de solution de fixation ;
3. IMMERGE le gel dans la solution de fixation pendant 15 minutes ;
4. On sort le gel et le sèche sous l'air chaud à 80 °c dans l'incubateur -sécheur.

c) Coloration – Décoloration

1. On immerge le gel sec et refroidi dans la solution colorante pendant 4 minutes ;
2. On décolore dans trois bains successifs minimum de décolorant jusqu'à obtention d'un fond parfaitement clair ;
3. Elimine l'excès de liquide en surface du gel avec un papier ouaté ou sèche le gel sous air chaud à 80°C. Nettoyer le dos du gel (support plastique) avec un papier ouaté humide.



Electrophoregramme

d) Lecture

La lecture a été faite à l'aide du logiciel d'interprétation d'electrophoregramme PHORESIS.

2.5 Traitement statistique

La comparaison de moyennes a été réalisée au moyen du test-t de Student. La relation entre deux variables a été effectuée par le test de Pearson ou Spearman. Le logiciel SPSS 16.0 a été utilisé pour l'ensemble des analyses et les valeurs de $p < 0.05$ ont été considérées comme seuils de signification.

Résultats et interprétations

1. Apport alimentaire en vitamine D chez la population étudiée

Les résultats de la comparaison entre patients atteints de diabète de type 1 et contrôles pour l'apport en vitamine D sont présentés dans la figure 2.1.

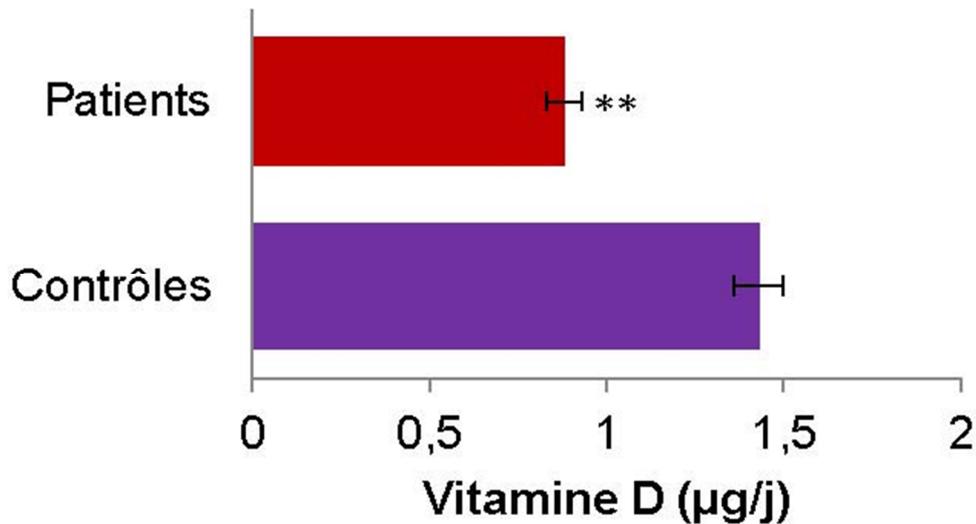


Figure 2.1 Apport alimentaire en vitamine D chez les malades diabétiques de type 1 et chez les contrôles, sains. ** $p < 0,01$.

On remarque que le taux de l'apport en vitamine D est significativement faible $p < 0,01$ chez les diabétiques de type 1 par rapport aux contrôles.

2. l'électrophorèse des protéines

Les résultats de la comparaison des taux des fractions protéiques entre patients atteints de diabète de type 1 et contrôles pour l'apport en vitamine D sont présentés dans la figure 2.2

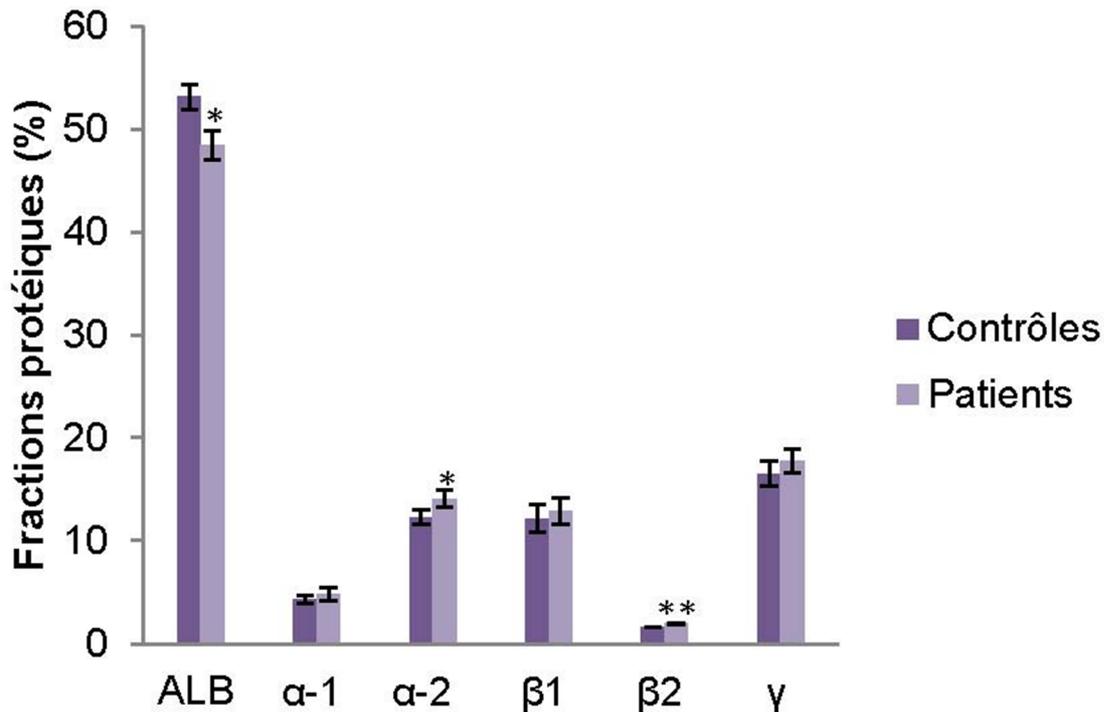


Figure 2.2. Taux des fractions protéiques chez les malades diabétiques de type 1 et chez les contrôles, sains. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$. NO: *nitricoxide*.

Le taux de l'albumine est significativement plus bas $p < 0,05$ chez les patients par rapport aux contrôles, les taux de l'alpha 1 et le beta 1 chez les patients que chez les contrôles; on remarque aussi que le taux de l'alpha 2 est significativement plus élevé $p < 0,05$ chez les patients par rapport aux contrôles, le taux du beta 2 est aussi significativement plus élevé $p < 0,01$ chez les patients par rapport aux contrôles.

Le niveau du complément C3 chez les malades diabétiques de type 1 et chez les contrôles, sains ; sont présent dans la figure 2.3.

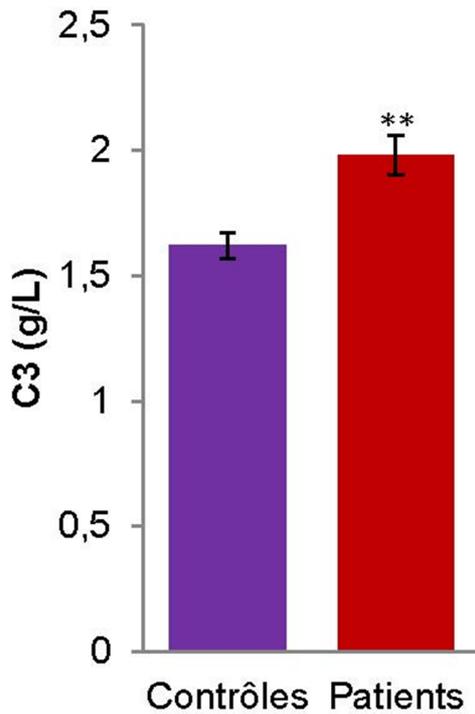


Figure 2.3. Niveaux du complément C3 chez les malades diabétiques de type 1 et chez les contrôles, sains. ** $p < 0,01$.

Sur cette figure on remarque que le niveau du complément 3 est significativement élevé $p < 0,01$ chez les patients par rapport aux contrôles.

3. Monoxyde d'azote

Les résultats de la comparaison niveaux du NO entre patients atteints de diabète de type 1 et contrôles pour l'apport en vitamine D sont présentés dans la figure 2.4 ; on remarque que le niveau de l'oxyde nitrique est significativement plus élevé $p < 0,01$ chez les patients diabétiques de type 1 par rapport aux témoins.

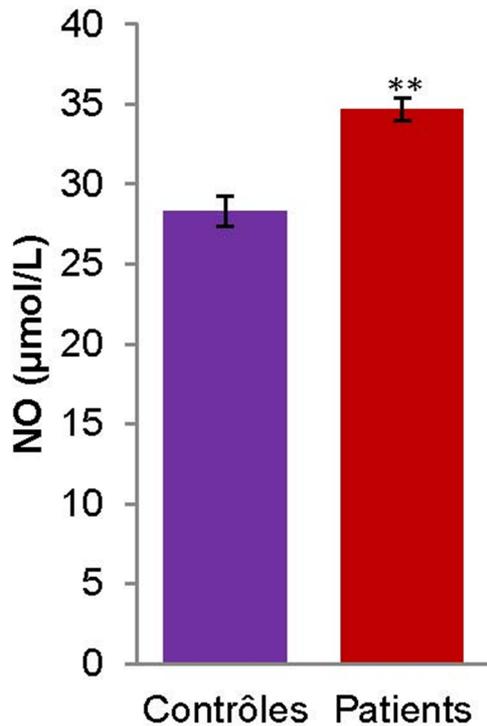


Figure 2.4. Niveaux du NO chez les malades diabétiques de type 1 et chez les contrôles, sains. ** $p < 0,01$. NO: nitricoxide.

4. Protéine C-réactive

Les résultats de la comparaison concentrations sériques chez entre patients atteint de diabète de type 1 et contrôles pour l'apport en vitamine D sont présent dans la figure 2.5

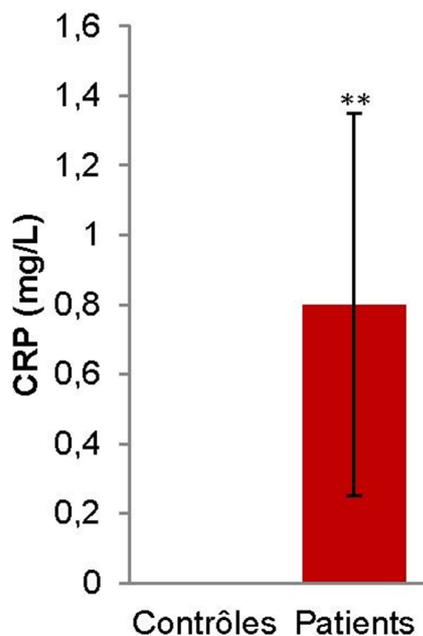


Figure 2.5. Concentrations sériques chez les malades diabétiques de type 1 et chez les contrôles, sains. ** $p < 0,01$. CRP: C-reactiveprotein.

La concentration sérique en CRP chez les patients est hautement significative $p < 0,01$ par rapport aux contrôles.

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. 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 (Knipet *al.*, 2010 ; Norris, 2010).

Cependant, des modes particuliers d'alimentation des jeunes enfants, ont été suspectés comme facteur précipitant l'expression de la maladie (Hennen, 2001). Fait important la vitamine D est un nutriment immunomodulateur (Briot, 2009); des études épidémiologiques ont montré que la supplémentation en vitamine D dans l'enfance réduit le risque de développer un diabète de type 1. Une étude finlandaise a montré que l'administration de 2 000 UI de vitamine D/j à 10366 enfants durant la première année de leur vie était associée à une réduction du risque de diabète de type 1 de 80 % (suivi de 30 ans) (Hyppönen, 2001). Par contre l'hypovitaminose D est associée à une augmentation de l'insulinorésistance, à une diminution de la production d'insuline, et à l'apparition du syndrome métabolique (Chiu, 2004).

L'électrophorèse de zone sur gel d'agarose (β_1 , β_2) donne une séparation des constituants sériques humains de six fractions majeurs de mobilités différentes au lieu de cinq : albumine, alpha-1, globuline, alpha-2 globulines, beta-1 globulines, beta-2 globulines et gamma globulines (Szymanowicz, 2006).

La fraction β_1 correspond à la transferrine et aux béta-lipoprotéines, la fraction β_2 correspond au complément C3. La fraction béta-2 globulines (le complément C3) et la fraction des gammaglobulines (Szymanowicz, 2006).

La fraction béta-2 globulines résultant de l'électrophorèse de zone sur gel d'agarose renferme les fractions du complément C3 et C4 et les IgA largement prépondérantes (Szymanowicz, 2006).

Cette zone est augmentée modérément dans les hypercomplémentémies d'origine inflammatoire ou secondaire à une obstruction biliaire intra ou extra hépatique. Une diminution sera associée à une hypocomplémentémie (sérum vieilli, consommation du complément, présence d'un C3 Nef-anticorps anti C3 ou rare déficit en C3). Signalons aussi la possibilité de déformation de cette zone par la présence d'une immunoglobuline monoclonale IgA le plus fréquemment mais qui pourra aussi être d'un autre isotype. Dans la zone des début des gamma peut migré le fibrinogène, forment un épaulement après le pique

des bêta-2 l'orsque la coagulation *invitron*'a pas été possible ou pas complète (Szymanowicz, 2006).

La fraction gammaglobulines : Elle correspond aux immunoglobulines (Ig) prépondérentes IgG, IgA et IgM et celles de très faibles concentrations de classe IgD et IgE (Szymanowicz, 2006). L'observation de cette zone est très importante et toute anomalie significative devra être clairement signalée pour effectuer des examens complémentaires (Szymanowicz, 2006).

Il faudra rappeler que l'inflammation est un mécanisme de défense extrêmement important. Activé de façon ponctuelle, ce mécanisme est d'une efficacité redoutable. Cependant, lorsqu'il est activé trop longtemps, il s'emballe et cause des dommages cellulaires parfois irréparables (Labbé, 2009). La réponse inflammatoire débute lorsque les cellules du tissu lésé libèrent des signaux chimiques, les médiateurs de l'inflammation, qui activent l'endothélium interne des capillaires proches et attirent les leucocytes (neutrophiles, monocytes, macrophages) vers le site de l'infection (Coleman, 2001).

La CRP (protéine C-réactive) est une des deux protéines de la phase aigüe de l'inflammation. Synthétisée à des taux élevés par les hépatocytes en réponse à la production locale de cytokines pro-inflammatoire, comme l'IL-1 et l'IL-6 suite à une agression antigénique (Dayer, Bayer, 2006). C'est un pentamère composé de sous unités identiques, qui font partie de la famille protéinique des pentaxines. Elle se lie à la phosphorylcholine des lipopolysaccharides de parois bactériennes et fongiques qui amplifient la fixation du complément à la surface de pathogène et disparaît plus tard lors de la formation d'anticorps (Parham, 2003).

Le NO est impliqué dans de nombreuses fonctions immunes, où il agit comme une molécule stimulatrice du système immunitaire et régulatrice de la synthèse de cytokines proinflammatoires par les monocyte/macrophage (Baker *et al.*, 2009). Il régule aussi la migration des polynucléaires neutrophiles lors de l'inflammation (Tadié *et al.*, 2009).

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 second messenger. Aussi les effets des oxydes d'azotes (Nox) sur le système immunitaire correspondent notamment à une atteinte de l'intégrité de l'immunité humorale et cellulaire (Aribiet *al.*, 2012).

Une étude ressentie (Aribi *et al.*, 2012) a montré que le taux du No sérique est significativement plus élevé chez les diabétique de type 1 comparé aux contrôles, ce qui

concorde avec nos résultats figures 2.4 , et qui indique la présence d'inflammation chez les diabétiques de type 1.

Conclusion

Les connaissances sur le métabolisme de la vitamine D ont énormément progressé ces dernières années. Il est désormais établi que la vitamine D agit comme une hormone, via un récepteur nucléaire, son action est ubiquitaire, et concerne plusieurs et différents tissus. Les conséquences constatées en termes cliniques suggèrent un effet protecteur de la vitamine D vis-à-vis de plusieurs maladies.

Les résultats de notre présente étude ont apportés une association entre apport en vitamine D et le risque inflammatoire du développement du diabète de type 1. De plus, l'analyse des résultats obtenus des différents dosages effectués montre qu'il y a une inflammation chez les diabétiques de type 1.

Malgré l'analyse de notre étude, il est difficile de dégager une relation claire entre l'apport en vitamine D et l'incidence du développement du diabète de type 1. Une étude de plus grande ampleur serait souhaitable afin de confirmer ces résultats.

Une alimentation doit rester équilibrée pour apporter à l'organisme tous les nutriments nécessaires capables d'aider à la prévention des risques de santé la qualité des nutriments et tout aussi importante que leur quantité. L'alimentation n'apporte que 100 à 200 UI de vitamine D par jour c'est la synthèse cutanée qui est la principale source de la vitamine D₃, sous l'action d'un rayonnement UVB (290 à 315 nm), des recommandations de bonne pratique pourraient donc être établies, afin de faciliter et améliorer la prise en charge des patients atteints de diabète de type 1.

Toutefois, les liens entre le régime alimentaire et le risque du diabète de type 1 sont complexes et des recherches additionnelles seront nécessaires afin d'établir l'importance du régime alimentaire et les facteurs d'ordre diététique les plus importants.

Le travail que nous avons réalisé est le prologue pour d'autres travaux et investigations qui pourraient apporter un éclaircissement sur le diabète de type 1.

Chapitre. 6 Bibliographie

A

L, Penna G. Adorini Induction of tolerogenic dendritic cells by vitamin D receptor agonists. *HandbExpPharmacol.* 2009;251–73.

Alexandre J, Balian A, et al. Le tout en une révision. *IFSI.* 2009;472–476.

Aribi M, Mezane W, Smahi M, Bendeddouche S. Nox et son implication dans le diabète de type 1, VI eme Rencontre Pédiatrique. *UABT Tlemcen.* 25-26 Mai 2012.

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

Arnson Y, Amital H, Shoenfeld Y. Vitamin D and autoimmunity: new aetiological and therapeutic considerations. *Ann Rheum Dis.* 2007;66:1137–42.

B

Bacchetta J, Ranchin B, Dubourg L, Cochat P. Vitamine D : un acteur majeur en santé ? *Archives de Pédiatrie.* 2010 Dec;17:1687–1695.

Baeke F, Korf H, Overbergh L, Verstuyf A, Thorrez L, Van Lommel L, et al. The vitamin D analog, TX527, promotes a human CD4 + CD25 high CD127 low regulatory T cell profile and induces a migratory signature specific for homing to sites of inflammation. *J Immunol.* 2011;186:132–42.

Baufreton C, Corbeau J, Pinaud F. Réponse inflammatoire et perturbations hémathologique en chirurgie cardiaque : vers une circulation extracorporelle plus physiologique. *Ann fran d'annest et de reanim.* 2006 Mai ; 25 :510-520.

Baker P, Schpfer F, O'Donnell B, et al. Convergence of Nitric oxide and Lipid Signaling: Anti-inflammatory Nitro-Fatty Acids. *Biol Med.* 2009 Avr;15:989-1003.

Benotmane A, Mohammedi F, Ayad F, Kadi K, Azzouz A. Diabetic foot lesions : etiologic and prognostic factors. *Diabetes Metab.* 2000;26 : 113-7.

Berthie–Pagliano. C, Actualités sur la vitamine D et étude clinique prospective sur les modalités de correction rapide d'une carence profonde. Thèse pour Doctorat en Médecine, Université Paris Descartes 2009.

Bezzaoucha A. Le diabète sucré connu à Alger : fréquence et conséquences. *Diabetes Metab.* 1992;18 : 229-35.

Bonner-Weir S. beta-cell turnover: its assessment and implications. *Diabetes.* 2001;50(Suppl 1):S20-S24.

Bouhours-Nouet N, Coutant R. Clinique et diagnostic du diabète de l'enfant. *ELSEVIER. EMC- Pédiatrie 2.* 2005;220–242.

Buckner JH. Mechanisms of impaired regulation by CD4(+)CD25(+)FOXP3(+)regulatory T-cells in human autoimmune diseases. *Nat Rev Immunol.* 2010;10:849–59.

Briot K, Réflexion rhumatologique, Dossier vitamine D N°128 avril 2010 Tome 14 *Service de Rhumatologie*, Hôpital Cochin, 75014 Paris.

Briot K, Audran M, Cortet B, Fardellone P *et al.*, Vitamine D : effet osseux et extra-osseux recommandations de bon usage; *La Presse Médicale*, tome 38 :n81 :janvier 2009.

C

Chen S, Sims GP, Chen XX, Gu YY, Lipsky PE. Modulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on human B cell differentiation. *J Immunol.* 2007;179:1634–47.

Chiu KC, Chu A, Go VLW, Saad MF. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and b cell dysfunction. *Am J Clin Nutr* 2004;79:820-5.

Cippitelli M, Santoni A. Vitamin D3: a transcriptional modulator of the interferon-gamma gene. *Eur J Immunol.* 1998;28:3017–30.

Coleman J.W. Nitric oxide in immunity and inflammation. *Int IMM Pharm.* 2001;1:1397-1406.

D

Dahlquist G. The aetiology of type 1 diabetes : an epidemiological perspective. *Acta Paediatr.* 1998;425 (suppl):5-10.

Dahlquist G, Blom L, Tuvemo T et al. 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.

Dayer E, Bayard J. Marqueurs d'inflammation. *CONSILIA*, Sion 2006, Vol. 5, n°8.

De Bruijn MHL, Fey GH. Human complement component C3 :eDNA coding sequence and derived primary Sequence. *ProcNatlAcadSci USA* 1985 ; 82 : 708-12

Delovitch TL, Singh B. The nonobese diabetic mouse as a model of autoimmune diabetes: immune dysregulation gets the NOD. *Immunity.* 1997;7(6):727-738.

Diabète Epidemiology Reserch International Group. Geographic patterns of chidhood insulin-dependent diabetes mellitus.*Diabetes.* 1988;37:1113-1119.

Dierich MP, Ebenbichler CF, MarschangP. Füst G, Thielens NM, Arlaud GJ.Hiv andhuman complement : mechanisms of interactionand biological implication. *Immunol Today* 1993 ; 1 4 : 435-40.

Dorman J. Molecular epidemiology of insulin-dependent diabetes.*Epidemiol Rev.* 1997;19:91-98.

Dowse GK, Zimmet PZ, Collins VR. Insulin levels and the natural history of glucose intolerance in Nauruans.*Diabetes.* 1996;45:1367-72.

Dubois-Laforgue D, Timsit J. Diabète de type 1 et environnement. *m/s* 2000. 2000 Oct; 1616:1045-50.

E

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

Erdei A, Füst G, Gergely I. The role of C3 in the immune response. *Immunol Today* 1991 ; 12 : 332-7.

F

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

Frémeaux-Bacchia.V, Ngo Sa, Bordereau.P, Poulain.N *et al.*, Exploration du complément : actualités 2012 ; REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES, Elsevier Masson SAS, juil-août 2012 ;n° 444 :31-37.

G

GuenaneH, Hartani D, ChachouaL,etal.Production des cytokine Th1/Th2 et du monoxyde d'azote au cours du L'uveit « Behçet » et de l'uveit « idiopathique ». *Journal frandophtalmo*, 2006 fév ; 29 :146-152.

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

Green A, Gale E. Etiologie et pathologie du diabète insulinodépendant. A pproche épidémiologique. *In* : L Papoz, R Williams, J Fuller. Le diabète en Europe. Paris: Les éditions INSERM/John Libbey ; 1994. P. 15-31.

Grimaldi A. *Traité de Diabétologie*. 2eme édition. Paris : Flammarion; 2009.

H

Heine G, Niesner U, Chang HD, Steinmeyer A, Zugel U, Zuberbier T, et al.1,25-dihydroxyvitamin D(3) promotes IL-10 production in human B cells. *Eur J Immunol*. 2008;38:2210–8.

Hennen Georges. Endocrinologie. De Boeck, 2001; 134-135.

Holick M.F, Garabedian M. Vitamin D: photobiology, metabolism, mechanism of action, and clinical applications M.J. Favus (Ed.), Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism, American Society for Bone and Mineral Research, Washington. 2006. p. 106–114.

Humbel RL, Gilson G. Les marqueurs immunologiques du diabète insulino-dépendant I.RGEAP.1999 Mar;14:159-165.

Hyppönen E, Läärä E, Reunanen A, Järvelin MR., et al. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birthcohort study. Lancet 2001;358:1500-3.

I

Ide A, EisenbarthGS. Genetic susceptibility in type 1 diabetes and its associated autoimmune disorders. Rev EndocrMetabDisord 2003;4(3):243-253.

Israni N, Goswami R, Kumar A, Rani R. Interaction of vitamin D receptor with HLA DRB1*0301 in type 1 diabetes patients from North India. PLoS One. 2009;4:e8023.

J

Jeffery LE, Burke F, Mura M, Zheng Y, Qureshi OS, Hewison M, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 and IL-2 combine to inhibit T cell production of inflammatory cytokines and promote development of regulatory T-cells expressing CTLA-4 and FoxP3. J Immunol. 2009;183:5458–67.

K

Karpuzoglu E, Asnar Ahmed S. Estrogen regulation of nitric oxide and inducible nitric oxide synthase (iNOS) in immune cells: Implications for immunity, autoimmune diseases, and apoptosis Nitric oxide. 2006 Nov; 15:177-186.

Karvonen M, Pitkaniemi J, Tuomilehto J. The onset age of type 1 diabetes in Finnish children has become younger. The Finnish Childhood Diabetes Registry Group. *Diabetes Care*. 1999;22(7):1066-1070.

Kemali Z, Hanaizi H, Kara B, Kanoun N, Kemali N, Ferrah T. Le diabète sucré et ses facteurs de risque dans une population adulte. *Rev. Alg Santé Mil*. 1995;XXIV : 7-14.

King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995-2025. Prevalence, numerical estimates and projections. *Diabetes Care*. 1998;21:1414-31.

Knip M, Akerblom HK. Environmental factors in the pathogenesis of type 1 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 1999;107(suppl. 3):S93-100.

Knip M, Virtanen SM, Seppa K, Ilonen J, Savilahti E, Vaarala O, Reunanen A, Teramo K, Hamalainen AM, Paronen J, Dosch HM, Hakulinen T, Akerblom HK; Finnish TRIGR study Group. Dietary intervention in infancy and later signs of beta-cell autoimmunity. *N Engl J Med*, 2010; 363: 1900-8.

L

La Revue de Médecine Interne. 2012 Fev;33:87–93.

Labbé D. inflammation et cancer quand le système immunitaire se tourne contre le soi. 2009.

Linker-Israeli M, Elstner E, Klinenberg JR, Wallace DJ, Koeffler HP. Vitamin D(3) and its synthetic analogs inhibit the spontaneous in vitro immunoglobulin production by SLE-derived PBMC. *Clin Immunol*. 2001;99:82–93.

M

Malek R, Belateche F, Laouamri S, et al. Prévalence du diabète de type 2 et de l'intolérance au glucose dans la région de Sétif (Algérie). *Diabetes Metab* 2001;27:164-71.

Mathis D, Vence L, Benoist C. beta-Cell death during progression to diabetes. *Nature*. 2001;414(6865):792-798.

Matzinger P. The danger model: a renewed sense of self. *Science*. 2002;296(5566):301-305.

Mold C.;Nakayama S.; Holzer TJ. et al. C-reactive protein is protective against Streptococcus pneumonia infection in mice. 1981 Nov.1;154(5): 1703-08.

Mora JR, Iwata M, vonAndrian UH.Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. Nat Rev Immunol. 2008;8(9):685–98.

N

Noris JM. Infant and child hound diet and type 1 diabetes risk: recent andvences and prospects. Curr Diab Rep, 2010; 10: 345-9.

O

Ohashi PS. T-cell signalling and autoimmunity: molecular mechanisms of disease. Nat Rev Immunol. 2002;2(6):427-438.

Onkamo P, Vaananen S, Karvonen M, Tuomilehto J. Worldwide increase in incidence of Type I diabetes-the analysis of the data on published incidence trends. Diabetologia. 1999;42(12):1395-1403.

P

Parham P. Le système immunitaire. Paris: De Boeck Université, 2003. P. 406.ISBN: 2-7445-0146-8.

R

Rabinovitch A, Suarez-Pinzon WL. Roles of cytokines in the pathogenesis and therapy of type 1 diabetes. Cell BiochemBiophys, 2007; 48: 159-63.

Ramagopalan SV, Maugeri NJ, Handunnetthi L, Lincoln MR, Orton SM, Dymment DA, et al. Expression of the multiple sclerosis-associated MHC class II Allele HLA-DRB1*1501 is regulated by vitamin D. PLoS Genet 2009;5:e1000369.

Humbel RL, Gilson G. Les marqueurs immunologiques du diabète insulino-dépendant I.Revues générales et analyses prospectives. 1999 Mar;14:159-165.

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

S

Saggese G, Frederico G, Balestri M et al. Calcitriol inhibits the PHA-induced production of IL-2 and IFN-gamma and the proliferation of human peripheral blood leukocytes while enhancing the surface expression of HLA class II molecules. J Endocrinol Invest. 1989;12:329-335.

Saron., 1996

Schoindre Y, Terrier B, Kahn J.-E, Saadoun D, Souberbielle J.-C et al. Vitamine D et auto-immunité. Première partie : aspects fondamentaux. La Rev de Méd Interne. ELSEVIER. 2012Fev; 33:80–86.

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.

St Arnaud R, Demay MB. Vitamin D biology. In: Glorieux FH, editor. Pediatric bone, biology and diseases. London: Elsevier Science; 2003. p. 193–215.

Szeles L, Keresztes G, Torocsik D, Balajthy Z, Krenacs L, Poliska S, et al. 1,25-dihydroxyvitamin D3 is an autonomous regulator of the transcriptional changes leading to a tolerogenic dendritic cell phenotype. J Immunol. 2009;182:2074–83

Szymanowicz A, Cartier B, Couaillac J-P, Gibaud C, Poulin G, Rivière H, Le Carrer D. proposition de commentaire interprétatifs près a l'emploi pour l'électrophorèse des protéines sériques. Ann Biol clin. 2006, vol.64, N 4, P.367-80 .

T

Tadié J.M, Guerot E, Delclaux C. Supplémentation en l-arginine en réanimation. Reanim. 2009 Juin;18:511-517.

The EurodiabSubstudy 2 Study Group. Infections and vaccinations as risk factors for childhood type 1 (insulindependent) diabetes mellitus: a multicenter case-control investigation. *Diabetologia*. 2000;43:47–53.

Tonson la Tour A, Wilhelm-Bals A, Gonzalez Nguyen Tang E, Girardin E. Le point sur la vitamine D.PAEDIATRICA. 2012;23,4.

Trudeau JD, Dutz JP, Arany E, Hill DJ, Fieldus WE, Finegood DT. Neonatal beta-cell apoptosis: a trigger for autoimmune diabetes?.*Diabetes*. 2000;49(1):1-7.

Turley S, Poirot L, Hattori M, Benoist C, Mathis D. Physiological {beta} cell death triggers priming of self-reactive T cells by dendritic cells in a type-1 diabetes model. *J Exp Med* 2003;198(10):1527-1537.

U

Unger WW, Laban S, Kleijwegt FS, van der Slik AR, Roep BO. Induction of Treg by monocyte-derived DC modulated by vitamin D3 or dexamethasone: differential role for PD-L1. *Eur J Immunol* 2009;39:3147–59.

V

Van Halteren AG, Tysma OM, van Etten E, Mathieu C, Roep BO. 1alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 or analogue treated dendritic cells modulate human autoreactive T-cells via the selective induction of apoptosis. *J Autoimmun*. 2004;23:233–9.

Villier C, C3, protéine du complément: une molécule aux multiples capacités, *medecine /science*, octobre 1995 ;11 : 1419-29.

Virtanen SM, Laara E, Hypponen E, Reijonen H, Rasanen L, Aro A, Knip M, Ilonen J, Akerblom HK, and the childhood diabetes in Finland study group. Cow's milk consumption, HLA-DQB1 genotype, and type 1 diabetes.*Diabetes*. 2000;49:912-7.

W

Walport MJ. Complement. Second of two parts. *N Engl J Med* 2001;344:1140-4.

Wing K, Sakaguchi S. Regulatory T-cells exert checks and balances on self tolerance and autoimmunity. *Nat Immunol.* 2010;11:7–13.

Woo M, M.D., FRCPC, Ph.D. Endocrinologie conférences scientifiques. Nouveaux avancements dans le diabète de type 1 : Espoirs pour l'avenir. *ECS.* 2004 Mar;4,3.

Z

Zanoni I, Granucci F. The regulatory role of dendritic cells in the induction and maintenance of T-cell tolerance. *Autoimmunity.* 2011;44:23–32.

Zaoui S, Biémont C, Meguenni K. Approche épidémiologique du diabète en milieux urbain et rural dans la région de Tlemcen (Ouest algérien). *Cahiers Santé.* 2007mars; 17,1:15-21.

Annexe 1



Biomolim

Centre de Biologie Moléculaire Appliquée et d'Immunologie

CODE

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

Centre Hospitalo-Universitaire de Tlemcen

Service de Pédiatrie (Pr. Z MASSEN) -Service de Médecine Interne (Pr. MS KENDOUCI-TANI)

Recherche fondamentale sur le diabète de type 1. ***Vitamine D et complément C3 au cours du DT1.***

Investigateurs principaux :

Professeur ARIBI Mourad, PhD, Dr. Hab.

Professeur Mohammed-Sghir KENDOUCI-TANI, MD,

Professeur Zouhir MASSEN, MD

Consentement éclairé

Je soussigné(e),

Mr/Mme/Mlle

Né (e) le :

Demeurant à :

Autorise le Médecin Chef du Service de la Structure Hospitalière (Médecine Interne/Pédiatrie)(i) à 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 pois 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).....

Lesquels ?

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).....

Lesquels ?

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)....

ANNEXE C

Pr. Z MASSEN- Service de Pédiatrie ,Pr. MS KENDOUCI-TANI- Service de Médecine Interne -CHU-TLEMCEN. Code :

Pr. M. Aribi. Laboratoire de biologie moléculaire appliquée et d'immunologie nouveau-pôle

Université de TLEMCEN.

Enquête diététique d'évaluation de la consommation alimentaire quotidienne.

Etude prospective dans la région de TLEMCEN.

Patient : M

né(e) le :

Le : / /	Menu précis	Quantités
Petit déjeuner Lieu : Heure : Pensez aux boissons		
Matinée Lieu : Heure : Pensez aux boissons		
Déjeuner Lieu : Heures Pensez aux graisses d'ajout au sel et aux boissons.		

Le : / /	Menu précis	Quantités
Après –midi Lieu : Heure : Pensez aux boissons		
Dîner Lieu : Heure : Pensez aux graisses d'ajout au sel et aux boissons		
Soirée et nuit Lieu : Heure Pensez aux boissons		

Le rôle immuno-régulateur de la Vitamine D au cours du diabète de type 1

Sari-Ali Nouria, Master II 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. Les effets extraosseux de la vitamine D sont de mieux en mieux documentés notamment l'effet sur l'immunité, comme son action sur les cellules dendritiques, lymphocytes T et B, et les maladies auto-immunes.
Objectif	Etudier la relation entre l'apport en vitamine D et le risque inflammatoire du développement du diabète de type 1.
But	Montrer l'implication de la vitamine D dans le processus inflammatoire du DT1.
Matériels et méthodes	Au total, 20 sujets repartis en deux groupes égaux, comprenant 10 diabétiques de type 1 et 10 sujets sains ont été recrutés dans cette étude.
Résultats	Les résultats de notre étude ont apportés une association entre apport en vitamine D et le risque inflammatoire du développement du diabète de type 1. De plus, l'analyse des résultats obtenus des différents dosages effectués (No, CRP, C3), montre qu'il y a une inflammation chez les diabétiques de type 1.
Conclusion	Nos résultats préliminaires ne permettent pas de conclure à un rôle clef de la Vitamine D dans le processus inflammatoire du diabète de type 1, mais cette étude permettra d'envisager de nouvelles perspectives de recherches et donc une nouvelle stratégie thérapeutique du diabète de type 1.
Mots clés	DT1, vit D, Lymphocytes T, Lymphocytes B, VDR, NOx, CRP, C3, inflammation.
ABSTRACT	
Introduction	The type 1 diabetes (DT1) is the result of the specific destruction of pancreatic islet β cells by a self-immun. The process extrasketal effects of vitamin D are better documented, especially the effect on immunity, as its action on dendritic cells, T and B lymphocytes, and autoimmune diseases.
Objectif	Studying the relationship between vitamin D and inflammatory risk of developing type 1 diabetes.
Aim	Show the involvement of vitamin D in the inflammatory process of DT1.
Materials and Methods	A total of 20 subjects divided into two equal groups, including 10 with type 1 diabetes and 10 healthy subjects were enrolled in this study.
Results	The results of our study have made an association between vitamin D and inflammatory risk of developing type 1 diabetes. In addition, analysis of the results of the various assays performed (No, CRP, C3) shows that there is an inflammation in type 1 diabetes.
Conclusion	Our results do not suggest a key role of vitamin D in the inflammatory process of type 1 diabetes, but this study will consider new research perspectives and therefore a new therapeutic strategy for type 1 diabetes.
Keywords	DT1, vitamin D, T cells, B cells, VDR, NOx, CRP, C3, inflammation.
ملخص	تم تعيين 20 شخص لهذه الدراسة. قسموا لمجموعتين متساويتين. من بينهم 10 يعانون من مرض السكري نوع 1 و 10 أصحاء.