

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم بيولوجيا الحيوان

Mémoire présentée en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : *Génétique*

N° d'ordre :
N° de série :

Intitulé :

Diabète infantile : étude statistique et moléculaire

Présenté et soutenu par : BENELMADANI Khadidja
FERGATI Chourouk

Le 01/07/2018

Jury d'évaluation :

Président (e) : SATT A D (Prof. Université des Frères Mentouri, Constantine 1).
Rapporteur : REZGOUN-CHELLAT D (MCA. Université des Frères Mentouri, Constantine 1).
Examineur : CHAOU I N (MCA. Université des Frères Mentouri Constantine 1).

Année universitaire
2017 – 2018

Remerciements

Nous remercions **Dieu** tout puissant de nous avoir aidés
à réaliser ce mémoire, et de nous avoir donnés la
volonté, la force et le courage de terminer ce travail.

Notre reconnaissance et nos remerciements s'adressent à notre encadreur **Mme REZGOUN-CHELLAT Dj**, Maître de conférences A à l'université des frères Mentouri Constantine 1, pour ses conseils, sa compréhension, sa patience et son orientation.

Nous tenons à remercier **Mme SATTA D**, Professeur à l'Université des frères Mentouri Constantine 1, nous sommes très honorées de vous avoir comme président du jury.

Nous remercions **Mme CHAOUI N**, Maître de conférences A à l'Université des frères Mentouri Constantine 1, d'avoir acceptée d'examiner notre travail et avoir fait l'honneur de siéger au jury de notre soutenance.

Finalement nous remercions tous les professeurs et les enseignants de la filière génétique qui nous ont dispensé les cours durant notre passage dans ce département avec dévouement et patience.

Notre reconnaissance à toute personne qui nous a été un soutien moral ou physique de près ou de loin.

Merci

Dédicaces

Avec tout respect et amour je dédie ce modeste travail

*A ma très chère mère **Yasmina** la plus belle chose dans ma vie, aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance. Ce travail et le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour que je sois la meilleure.*

*A mon cher père **Bachir**, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jours et nuit pour mon éducation.*

*A mes anges sur terres, **Meriem, Ikram, Amani**, avec qui je partage le meilleur comme le pire, Je vous souhaite tout le succès et le bonheur du monde.*

*Notre encadrant **REZGOUN-CHELLAT Dj** pour ses précieux conseils et son orientation ficelée tout au long de notre recherche.*

*A ma chère et aimable amie **Chourouk** pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.*

*A toute ma famille et mes amis : **Rayen, Lamis, Imen, Assia.***

*A mademoiselle **ZIDOUNE Housna** pour son aide précieuse et sa gentillesse.*

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.

Khadija

Je dédie cet humble travail à :

*A ma mère **Dalila**, ma vie, mon bonheur et mon courage.*

Tu as su être pour moi la mère, la sœur et l'amie. Sans tes prières, tes précieux conseils, je n'en serais pas là aujourd'hui. Que dieu le tout puissant te préserve et t'accorde la santé, te prête une longue vie et bonheur.

*A la mémoire de mon Père **Abdelhak**, mon exemple éternel*

J'aurais tant aimé qu'il soit présent aujourd'hui.

Puisse Dieu, le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde !

*A mon frère **Mohamed Mounder** qui n'a cessé d'être pour moi un exemple de persévérance, de courage et de générosité.*

*A ma chère amie **Khadidja** qui a partagé avec moi les moments difficiles de ce travail*

*A mes chères amies **Soumia B, Rima, Rayene, Lamis, Maroua, Asma et Assia.***

*A toute ma famille : mon oncle, mes cousines **Selma et Sara**, mes tantes et surtout à ma chère tante **Warda.***

*A notre encadreur madame **Rezgoun-Chellat Dj** pour son aide et ses précieux conseils.*

A tous mes enseignants.

A toutes les personnes qui ont une place spéciale dans mon cœur.

Chourouk

Table des matières

Remerciement et dédicaces

Liste des abréviations

Listes des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Partie bibliographique

I. Anatomie et physiologie du pancréas.....	3
1. Anatomie du pancréas.....	3
1.1 La tête	4
1.2 L'isthme.....	4
1.3 Le corps	4
1.4 La queue	5
2. Physiologie du pancréas.....	5
3. L'insuline.....	6
3.1 Définition et structure.....	6
3.2 Gène de l'insuline.....	7
3.3 Rôle de l'insuline dans la régulation de glycémie	7
3.4 Pharmacocinétique	8
II. Le diabète.....	9
1. Historique	9
2. Épidémiologie	9
3. Classification	9
3.1 Le diabète de type 1.....	10
3.2 Le diabète de type 2.....	10
3.3 Les autres types de diabète	11
3.3.1 Les diabètes MODY (Maturity Diabetes Of the Young)	11
3.3.2 Le diabète néonatal	11
3.3.3 Le diabète mitochondrial	12
4. Facteurs de risque	12
4.1 Facteurs génétiques.....	12
4.2 Obésité	12
4.3 Facteurs environnementaux	13
4.3.1 Infections.....	13
4.3.2 Toxiques.....	13
4.3.3 Alimentation.....	13
4.3.4 Stress.....	13
5. Complication	13
5.1 Complications aiguës	14
5.1.1 Hyperglycémie	14
5.1.2 Hypoglycémie.....	14

5.2	Complications chroniques.....	14
5.2.1	Maladies cardiovasculaires.....	14
5.2.2	Neuropathie.....	14
5.2.3	Néphropathie.....	15
5.2.4	Rétinopathie.....	15
6.	Diagnostic	15
6.1	Glycémie à jeun	15
6.2	Test d'hyperglycémie provoquée	15
6.3	Hémoglobine glyquée	15
6.4	Autres tests	16
6.4.1	Glycémie post prandial	16
6.4.2	Test de charge glucidique	16
III.	Génétique du diabète	17
1.	Génétique du diabète de type 1.....	17
1.1	Mutations géniques.....	17
1.1.1	Mutation du gène <i>SIRT1</i>	17
1.1.2	Autres mutations	17
1.2	Polymorphisme et diabète de type 1.....	17
1.2.1	Polymorphisme des gènes <i>HLA</i>	17
1.2.2	Polymorphisme du gène <i>IDDM2</i>	18
1.2.3	Polymorphisme du gène <i>SUMO4</i>	18
1.2.4	Polymorphisme du gène <i>PTPN22</i>	18
1.2.5	Polymorphisme du gène <i>ERBB3</i>	18
1.2.6	Polymorphisme du gène <i>CTLA4</i>	19
2.	Génétique du diabète de type 2.....	19
2.1	Mutations géniques	19
2.1.1	Mutation du gène <i>PPARg2</i>	19
2.1.2	Mutation du gène <i>IRSI</i>	19
2.2	Polymorphismes géniques	19
2.2.1	Polymorphisme du gène <i>SLC30A8</i>	19
2.2.2	Polymorphisme du gène <i>SREBF-2</i>	20
2.2.3	Polymorphisme du gène <i>CAPN10</i>	20
2.2.4	Polymorphisme du gène <i>TCF7L2</i>	20
2.2.5	Polymorphisme du gène <i>WFS-1</i>	20
2.2.6	Polymorphisme des gènes <i>HNF1A, HNF1B, HNF4A</i>	20
2.2.7	Polymorphisme du gène <i>MTHFR</i>	21
3.	Génétique du diabète néonatal.....	21
3.1	Génétique du diabète néonatal transitoire (TNDM).....	21
3.2	Génétique du diabète néonatal permanent (PNDM).....	21
IV.	Traitement.....	22
1.	Traitement des diabétiques	22
2.	La recherche des complications dégénératives	22

Partie pratique

I. Patients et méthodes	23
1. Type d'étude	23
2. Patients	23
2.1 Recrutement	23
2.1.1 Critères d'inclusion	23
2.1.2 Critères d'exclusion	23
2.2 Prélèvement	23
3. Méthodes	23
3.1 Extraction d'ADN.....	23
3.2 PCR/RFLP.....	24
3.2.1 PCR du polymorphisme C677T du gène de la <i>MTHFR</i>	24
3.2.2 Digestion des produits de PCR par <i>Hinf</i> I.....	26
II. Résultats et discussion	28
1. Nombre d'enfants diabétiques annuel enregistré depuis 2014	28
2. Classification selon le sexe	28
3. Classification selon l'âge	29
4. Classification selon le type du diabète	30
5. Classification selon les antécédents familiaux	31
6. Classification selon le taux de glycémie	32
7. Classification selon le taux d'hémoglobine glyquée	32
8. Classification selon les complications	33
9. Classification selon le régime alimentaire	34
10. Classification selon l'obésité	34
11. Classification selon l'activité physique	35
12. Classification selon le stress	36
13. Classification des patients selon le génotypage du polymorphisme C677T du gène <i>MTHFR</i>	36
Conclusion et perspectives	40
Références bibliographiques	41
Annexes	
Résumés	

Liste des abréviations

ABCC8:	ATP Binding Cassette subfamily C member 8.
ADN :	L'Acide DésoxyriboNucléique.
ADP :	Adénosine Diphosphate.
AINS :	Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens.
AMPc :	Adénosine MonoPhosphate Cyclique.
ARNm :	Acide RiboNucléique messenger.
ATP :	Adénosine TriPhosphate.
AVC :	Accident Vasculaire Cérébral.
BBP :	Bleu de Bromo Phénol.
BET :	Bromure d'ETHidium.
bHLHd2:	Sterol regulatory element-binding transcription factor 2.
CAPN10:	Calcium-Activated Neutral Proteinase 10.
CMH :	Complexe Majeur d'Histocompatibilité.
CSK :	C-terminal Src Kinase.
CTLA-4 :	Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated protein 4.
CUE :	Evolutionarily Crucial.
DID :	Diabète Insulino-Dépendant.
DM :	Diabète Mellitus.
DM1 :	Diabète Mellitus type 1.
DM2 :	Diabetes Mellitus type 2.
DNase :	DésoxyriboNucléase.
DO :	Densité Optique.
DR :	antigen D Related.
DSNIS :	Diabète Sucré INSulino-dépendant.
DT1 :	Diabète de Type 1.
EDTA :	EthylèneDiamineTétraAcétique.
ERBB3 :	ERB-B2 receptor tyrosine kinase 3.
FID:	Federation for Internet Development.
GCK:	GluCoKinase.
GLUT2 :	GLUcose Transporter 2.
GLUT4 :	GLUcose Transporter 4.
GWAS:	Genome-Wide Association Study.
HbA1c:	L'hémoglobine glyquée.
HLA:	Human Leukocyte Antigen.
HNF1A:	Hepatocyte Nuclear Factor 1 homeobox A.
HNF1B:	Hepatocyte nuclear factor-1-Beta.
HNF4A:	Hepatocyte Nuclear Factor 4 Alpha.
IDDM2 :	Insulin-Dependent Diabetes Mellitus 2.
IFH1 :	Interacts with Forkhead 1.
IGF2:	Insulin-like Growth Factor 2.
IL2RA :	InterLeukin-2 Receptor subunit Alpha.
IL7RA :	Interleukin-7 Receptor- α .

Liste des abréviations

IMC :	Indice de Masse Corporelle.
INS :	INSulin.
IPT1:	Insulin Promoter factor-1.
IRS1:	Insulin Receptor Substrate 1.
KCNJ11:	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily J Member 11.
LYP:	Lymphoïde Tyrosine Phosphatase.
MIDD:	Maternal Inherited Diabetes and Deafness.
MODY:	Maturity Diabetes Of the Young.
MTHFR :	MéthylèneTétraHydroFolate Réductase.
NDDG :	National Diabetes Data Group.
NDM :	Neonatal Diabetes Mellitus.
NIDDM1 :	Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus 1.
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé.
PCR/RFLP :	Polymerase Chain Reaction /Restriction Fragment Length Polymorphism
PNDM :	Permanent Neonatal Diabetes Mellitus.
PPARg2:	Peroxisome Proliferator Activated Receptor gamma 2.
Protéinase K :	Protéinase Kératine.
PTPN22 :	Protein Tyrosine Phosphatase, Non receptor type 22.
RG :	Récepteur au Glucagon.
SDS :	Sodium Dodecyl Sulfate.
SIRT1:	SIRTuin 1.
SLC30A8:	Solute Carrier Family 30 Member 8.
SNP:	Single-Nucleotide Polymorphism.
SREBP2:	Sterol Regulatory Element-Binding Protein-2.
SUMO4:	Small Ubiquitin-related MOdifier 4.
T1DM :	Diabetes Mellitus Type 1.
T2D :	Type 2 Diabetes.
Taq :	Thermophilus aquaticus.
TCF7L2 :	TransCription Factor 7 Like 2.
TE :	Tris-EDTA.
TNDM:	Transient Neonatal Diabetes Mellitus.
VNTR :	Variable Number Tandem Repeat.
WFS1 :	Wolframin ER transmembrane glycoprotein.

Liste des figures

Figure 1 :	Situation du pancréas.....	3
Figure 2 :	Structure du pancréas.....	4
Figure 3 :	Structure de l'insuline.....	6
Figure 4 :	Le profil électrophorétique de la PCR du C677T du <i>MTHFR</i>	26
Figure 5 :	Les sites de restriction de l'enzyme <i>Hinf I</i>	27
Figure 6 :	Classification des enfants diabétiques enregistrés depuis 2014.....	28
Figure 7 :	Classification des enfants diabétiques selon le sexe.....	28
Figure 8 :	Classification des enfants diabétiques selon l'âge.....	29
Figure 9 :	Classification des enfants diabétiques selon le type du diabète.....	30
Figure 10 :	Classification des enfants diabétiques selon les antécédents familiaux.....	31
Figure 11 :	Classification des enfants diabétiques selon le taux de la glycémie.....	32
Figure 12 :	Classification des enfants diabétiques selon le taux de l'hémoglobine glyquée.....	32
Figure 13 :	Classification des enfants diabétiques selon la présence des complications.....	33
Figure 14 :	Classification des enfants diabétiques selon le régime alimentaire.....	34
Figure 15 :	Classification des enfants diabétiques selon l'obésité.....	34
Figure 16 :	Classification des enfants diabétiques selon l'activité physique.....	35
Figure 17 :	Classification des enfants diabétiques selon le stress.....	36
Figure 48 :	Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose (3%) des fragments après digestion par l'enzyme <i>Hinf I</i>	37
Figure 19 :	Fréquences génotypiques du C677T de la <i>MTHFR</i>	38
Figure 20 :	Fréquences alléliques du C677T de la <i>MTHFR</i>	38

Liste des tableaux

Tableau 1 :	Réponse des tissus à l'insuline.....	8
Tableau 2 :	Composants du milieu réactionnel pour la PCR.....	25
Tableau 3 :	La programmation des cycles de la PCR.....	26
Tableau 4 :	Répartition des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme C677T de la <i>MTHFR</i>	37

Introduction

Le diabète est un problème de santé répandue dans le monde entier, dont la prévalence est en constante augmentation. L'OMS (2011) estimait de 220 millions de diabétiques dans le monde et que leur nombre pourrait bien doubler d'ici 2030. L'essentiel de cette augmentation se produira dans les pays en développement et sera dû à l'accroissement démographique, au vieillissement de la population, à des régimes alimentaires déséquilibrés, à l'obésité ou à un mode de vie sédentaire (Chahboub et Makhoul, 2015).

Le diabète sucré est caractérisé par des niveaux anormalement élevés de sucre (glucose) dans le sang. Lorsque la quantité de glucose dans le sang augmente, elle déclenche la libération de l'insuline par le pancréas. L'insuline stimule les cellules musculaires et adipeuses pour éliminer le glucose du sang et stimule son métabolisme, ce qui fait baisser son taux dans le sang et le maintient à un niveau normal. Chez les personnes atteintes de diabète, les niveaux de sucre dans le sang restent élevés soit en raison d'une absence de production de l'insuline, soit que son taux n'est pas suffisant (Dean et McEntyre, 2004).

Le diabète est classé en deux types : le diabète de type 1 qui représente une maladie auto-immune dans laquelle le système immunitaire du corps attaque le pancréas, le rendant incapable de produire de l'insuline, et le diabète de type 2 dans lequel une résistance à l'insuline ou un défaut de sécrétion d'insuline peuvent être observés. D'autres types de diabète peuvent également exister.

Selon American Diabetes Association, l'attribution d'un type de diabète à un individu dépend souvent des circonstances présentes au moment du diagnostic, et de nombreuses personnes diabétiques ne s'intègrent pas facilement dans une seule classe (Dean et McEntyre, 2004).

Les symptômes classiques du diabète tels que la polyurie, la polydipsie et la polyphagie sont fréquents dans le diabète de type 1, qui présente un développement rapide d'hyperglycémie sévère et également dans le diabète de type 2 avec des taux d'hyperglycémie très élevés. Une perte de poids sévère n'est fréquente que dans le diabète de type 1 ou si le diabète de type 2 n'est pas détecté pendant une longue période. La perte de poids inexplicable, la fatigue et l'agitation et la douleur corporelle sont également des signes communs de diabète non détecté. Les symptômes qui sont légers ou ont un développement progressif pourraient également rester inaperçus (Ramachandran, 2014).

Le diabète insulino-dépendant (DID) actuellement appelé de type 1 (DT1) est l'endocrinopathie la plus fréquente de l'enfant, il constitue une pathologie chronique aux

répercussions lourdes sur la qualité de vie de l'enfant et de sa famille et sur sa santé actuelle et future (Niar, 2014).

Pendant de nombreuses années, les scientifiques ont cherché des indices dans notre composition génétique qui pourraient expliquer pourquoi certaines personnes sont plus susceptibles que d'autres (Dean et McEntyre, 2004).

Nous avons assigné comme objectifs :

- d'identifier les facteurs de risque génétiques et environnementaux du diabète à travers une étude bibliographique.
- de réaliser une étude statistique au niveau du service de pédiatrie afin de déterminer la fréquence du diabète chez l'enfant dans la population de l'Est algérien.
- d'étudier les associations entre le diabète infantile et les caractéristiques sociodémographiques et les facteurs de risque.
- de rechercher d'éventuelle relation entre le polymorphisme C677T de la *MTHFR* et le diabète chez l'enfant à travers une étude moléculaire (PCR/RFLP).

Partie bibliographique

Le pancréas est divisé en quatre portions qui sont, de droite à gauche : la tête, l'isthme, le corps et la queue (Figure 2), la tête est la plus large et est entourée par le duodénum (Gosling et al., 2003).

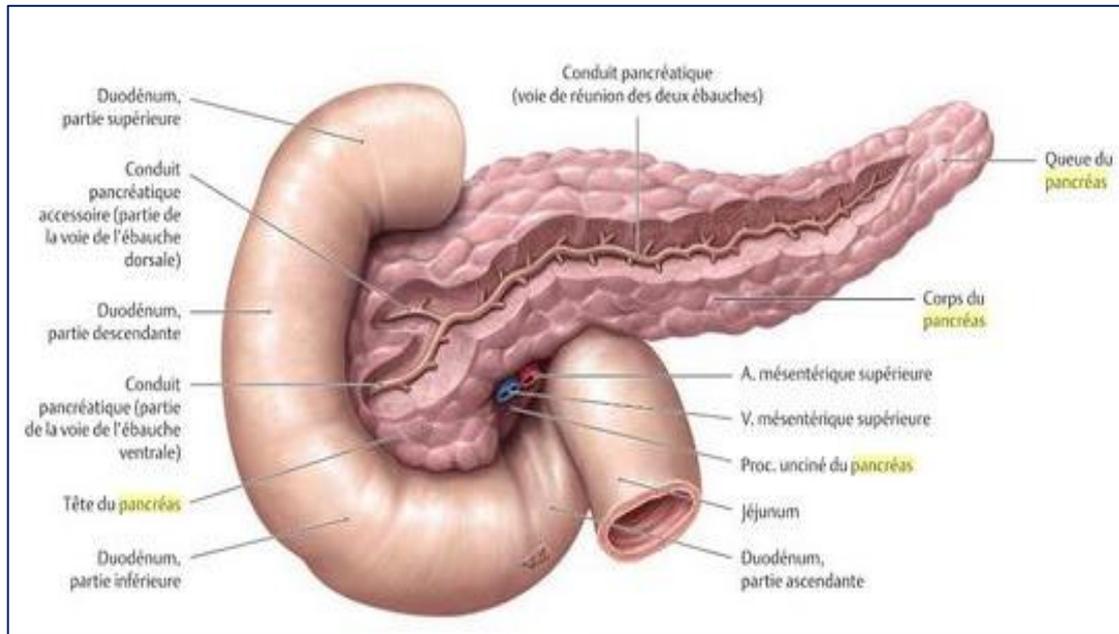


Figure 2 : Structure du pancréas (Schunke et al., 2017).

1.1 La tête

Elle est vaguement arrondie, volumineuse, grossièrement quadrilatère et bien encastrée dans la cavité du cadre duodénel. Elle émet un prolongement qui s'engage en arrière des vaisseaux mésentériques : c'est le processus uncinatus ou petit pancréas de Winslow. Cette tête pancréatique semble avoir participé à l'enroulement duodénel autour de l'axe de la mésentérique supérieure (Bennani, 2015 ; Kziz, 2017).

1.2 L'isthme

C'est une portion rétrécie au niveau de sa partie inférieure et qui en haut se termine par le tubercule épiploïque du pancréas. Elle est située immédiatement en avant des vaisseaux mésentériques, relie la tête au corps (Bennani, 2015 ; Kziz, 2017).

1.3 Le corps

Situé plus à gauche, en avant de la colonne vertébrale, c'est un segment allongé, aplati dans le sens antéropostérieur (Bennani, 2015).

1.4 La queue

Extrémité mince et mobile creusée d'une gouttière pour les vaisseaux spléniques, située à gauche en direction du hile hépatique. C'est le seul segment pancréatique intra-péritonéal (Bennani, 2015).

2. Physiologie du pancréas

Le pancréas comprend deux composants fonctionnels :

- le pancréas exocrine, constitué d'acini impliqués dans la synthèse et la sécrétion de plusieurs enzymes digestives transportées dans le duodénum par un système canalaire.
- le pancréas endocrine (2 % de la masse pancréatique), formé par les ilots de Langerhans disséminés au sein de la glande (Kierszenbaum, 2002). Chaque ilot de Langerhans est formé de deux composants :
 - **des cordons de cellules endocrines anastomosés** (cellules alpha, bêta, delta et F) dont chacun sécrète un seul type d'hormones.

Les cellules alpha (20%) produisent du glucagon. en réponse à une hypoglycémie. Dans le foie, il stimule la glycogénolyse en activant la phosphorylase. Au contraire de l'adrénaline, le glucagon n'a pas d'effet sur la phosphorylase musculaire. Le glucagon augmente aussi la gluconéogenèse à partir des acides aminés et du lactate (Kierszenbaum, 2002 ; Botham et al., 2017). Dans tous ces cas, l'action du glucagon passe par la génération d'AMPC. La glycogénolyse et la gluconéogenèse hépatique contribuent toutes deux à l'effet hyperglycémique du glucagon, dont les actions s'opposent à celles de l'insuline, la plus grande partie du glucagon endogène (et de l'insuline) est éliminée de la circulation par le foie (Botham et al., 2017).

Les cellules bêta (70%) synthétisent l'insuline, les cellules delta (environ 10%) sécrètent de la gastrine et de la somatostatine et les cellules F (environ 2%) produisent du polypeptide pancréatique (Kierszenbaum, 2002).

- **Un composant vasculaire, le système porte insulo-acinaire** constitué d'une artériole afférente donnant naissance à un réseau capillaire bondé de cellules endothéliales fenêtrées. Les veinules quittant les ilots de Langerhans apportent le sang aux acini pancréatiques adjacents. Ce système porte permet aux hormones insulaires d'agir localement sur le pancréas exocrine (Kierszenbaum, 2002). Un système vasculaire

indépendant, le système vasculaire acinaire, apporte le sang directement aux acini pancréatiques exocrine.

3. L'insuline

3.1 Définition et structure

C'est un polypeptide hormonal, formé par deux chaînes peptidiques A (acide) et B (basique) réunies par des ponts disulfures et secrété par les cellules β des îlots de Langerhans (pancréas endocrinien) sous forme de préproinsuline (Adiza, 2006). Ce précurseur est une molécule de 98 AA. Par élimination des 16 AA du peptide signal en position N-terminal, le précurseur se transforme en pro-insuline (PM = 12000) qui est également une longue chaîne aminoacidique comprenant trois parties de l'extrémité N-terminale à l'extrémité C-terminale :

- une chaîne de 30 AA dites chaîne B ;
- un peptide de 31 AA ou peptides de connexion (peptide C)
- et une chaîne A qui comporte 21 AA (Cano et al., 2007) (Figure 3). Par

coupe enzymatique, le peptide C est détaché de l'ensemble et les deux chaînes sont reliées par deux ponts sulfures, ce qui constitue la molécule d'insuline (PM = 6000) (Adiza, 2006).

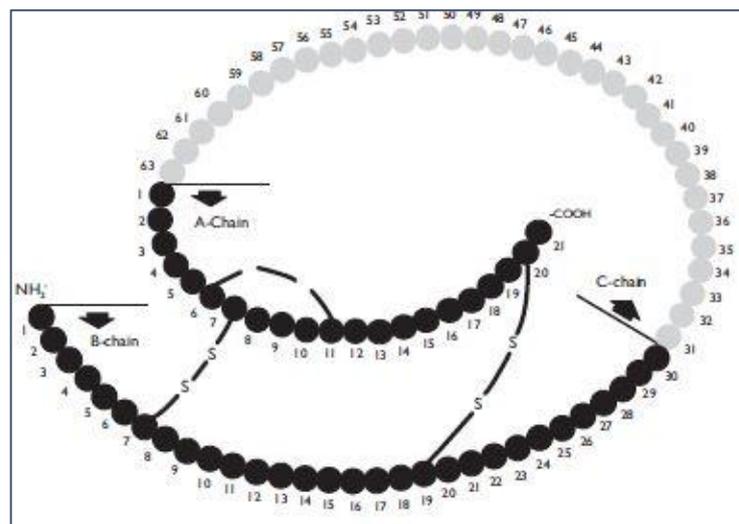


Figure 3 : Structure de l'insuline (Joshi et al., 2007).

3.2 Gène de l'insuline

Le gène de l'insuline humaine est localisé sur le bras court du chromosome 11 à proximité du gène de l'insuline-like growth factor 2 (*IGF-2*). Il contient 1355 paires de bases et sa région codante comporte 3 exons, séparés de 2 introns. Le produit initial de la traduction de l'ARNm de l'insuline est la préproinsuline, prototype des préprohormone à l'origine d'hormone peptidique (Moussard, 2005 ; Cano et al., 2007).

La structure du gène de l'insuline a été remarquablement conservée au cours de l'évolution. Ce qui reflète son rôle crucial de l'hormone dans le contrôle du métabolisme énergétique. Dans toutes les espèces de mammifères, l'espèce humaine comprise, il n'existe qu'un exemplaire de ce gène (Cano et al., 2007).

3.3 Rôle de l'insuline dans la régulation de glycémie

L'insuline joue un rôle prédominant dans la régulation de la glycémie qui s'ajoute aux effets directs de l'hyperglycémie, qui augmente l'entrée du glucose dans le foie. Les cellules B des îlots de Langerhans du pancréas sont complètement perméables au glucose via le transporteur GLUT 2, et le glucose est phosphorylé par la glucokinase (Botham et al., 2017).

Ainsi, l'augmentation du glucose sanguin augmente le flux métabolique vers la glycolyse, le cycle de l'acide citrique et la formation d'ATP. L'augmentation de la concentration d'ATP inhibe les canaux à K^+ sensibles à l'ATP, causant une dépolarisation de la membrane cellulaire, ce qui accroît l'influx de Ca^{2+} , via les canaux du Ca^{2+} voltage dépendants, il y a ainsi stimulation de la sécrétion de l'insuline par exocytose. Ainsi, la concentration d'insuline dans le sang suit celle du glucose. Parmi les autres substances qui provoquent une libération d'insuline par le pancréas, citons les AA, les acides gras libres, les corps cétoniques, le glucagon, la sécrétion et les médicaments de la famille des sulfonylurées tels le tolbutamide et le gluburide. Ces médicaments servent à stimuler la sécrétion de l'insuline en cas de diabète sucré de type 2 (DSNIS, diabète sucré insulino-dépendant), ils agissent en inhibant les canaux K^+ , sensibles à l'ATP. L'adrénaline et la noradrénaline bloquent la libération de l'insuline (Botham et al., 2017).

L'insuline diminue instantanément la glycémie en augmentant l'entrée du glucose dans le tissu adipeux et le muscle suite au recrutement des transporteurs du glucose (GLUT 4) de l'intérieur de la cellule vers la membrane plasmique. Bien que l'insuline n'exerce aucun

effet direct sur l'entrée du glucose dans le tissu hépatique, elle augmente cette entrée à long terme par son action sur les enzymes contrôlant la glycolyse, la glycogénogenèse et la gluconéogenèse (Botham et al., 2017).

Tableau 1 : Réponse des tissus à l'insuline (Botham et al., 2017).

	Foie	Tissu adipeux	Muscle
Stimulée par l'insuline	<ul style="list-style-type: none"> - Synthèse des acides gras - Synthèse du glycogène - Synthèse protéique 	<ul style="list-style-type: none"> - Entrée du glucose - Synthèse des acides gras 	<ul style="list-style-type: none"> - Entrée du glucose - Synthèse du glycogène - Synthèse protéique
Inhibée par l'insuline	<ul style="list-style-type: none"> - Cétogenèse - Gluconéogenèse 	<ul style="list-style-type: none"> - Lipolyse 	

3.4 Pharmacocinétique

La destruction de l'insuline se fait par les enzymes protéolytiques du tractus digestif, par conséquent son administration doit se faire par voie parentérale. La durée d'action est variable selon les préparations d'insuline utilisées. Son métabolisme se fait au niveau du foie et du rein, et son élimination rénale justifie la réduction des doses chez les insuffisants rénaux (Adiza, 2006).

1. Historique

Les caractéristiques cliniques similaires au diabète sucré ont été décrites il y a 3000 ans par les anciens égyptiens (Ahmed, 2002). Les médecins grecs de l'Antiquité donnèrent à cette maladie le nom de diabète, qui signifie « passer au travers ». Les romains avaient constaté que les urines des personnes atteintes avaient un goût de miel (diabète mellitus), mais la mise en évidence de sucre dans les urines n'est établie pour la première fois qu'au XVII^e siècle, par un anatomiste anglais, Willis, et ce n'est qu'au XIX^e siècle que des recommandations diabétiques, dans le sens d'une restriction en sucre sont proposées aux malades. Parallèlement, Minokowski en 1890 provoque un diabète chez un chien par ablation du pancréas démontrant la responsabilité de cet organe dans l'apparition de la maladie (Popelier, 2006).

2. Épidémiologie

Le diabète mellitus (DM) est très répandu dans le monde et constitue une véritable pandémie. En France, où les données sont similaires à ceux du bassin méditerranéen, la fréquence du diabète infantile et juvénile (âge de 0 à 14 ans) est de 1 nouveau cas pour une population de 100.000 habitants par an (Toufiki, 2008).

La prévalence globale de DM1 est estimée à environ 0,3 à 0,4%. L'Atlas du diabète de la Fédération internationale du diabète (FID, 2015) estime que chaque année environ 86 000 enfants de moins de 15 ans développent un DM1 dans le monde entier, parmi les dix pays avec le plus grand nombre d'enfants avec DM1, le Brésil occupe la troisième position, avec 30 900 cas. Cependant, l'analyse la plus complète des personnes âgées de moins de 20 ans vient de l'étude américaine SEARCH, réalisée en 2009 et qui a rapporté une prévalence de 2,22 cas /1000 jeunes, représentant 1,93 / 1000 pour DM1, 0,24 / 1000 pour DM2 et 0,05 / 1000 pour d'autres formes de diabète (Manna et al., 2016).

L'épidémiologie du diabète en Algérie évolue continuellement et devient de plus en plus problématique. Les données nationales algériennes suggèrent que la prévalence du diabète en Algérie est passée de 6,8% en 1990 à 12,29% en 2005, mais qu'elle est plus élevée dans certains groupes et certaines régions du pays (Lamri et al., 2014).

3. Classification

La classification actuelle est basée sur la connaissance physiopathologie existante (Manna et al., 2016). Le diabète de type 1 représente plus de 90 % des diabètes de l'enfant. Le

diabète de type 2 et les autres types de diabète sont beaucoup plus rares (Silvestre da Conceicao, 2010).

3.1 Le diabète de type 1

Le diabète de type 1 est lié à la destruction auto-immune des cellules bêta du pancréas. Chez un individu présentant une prédisposition génétique et sous l'influence de facteurs environnementaux, les îlots de Langerhans sont infiltrés par les cellules mononuclées donnant le statut d'insulite. Dans ces infiltrats sont retrouvés principalement des lymphocytes T CD8 dirigés contre des auto-antigènes de la cellule bêta, avec lesquels coexistent des lymphocytes T CD4, des lymphocytes B et des macrophages. Le processus de destruction implique essentiellement l'immunité à médiation cellulaire (de type Th1) et pourrait passer, entre autres, par des mécanismes d'apoptose (Silvestre da Conceicao, 2010).

La maladie se présente en 3 phases :

- Une phase de latence caractérisée par les prédispositions génétiques ;
- Une phase pré-clinique silencieuse comprenant l'atteinte auto-immune responsable de l'insulite suivie de la phase de pré-diabète où la glycémie à jeun est encore préservée mais la glycémie après charge en glucose est pathologique du fait d'une sécrétion d'insuline diminuée mais encore équivalente à 20 % de la sécrétion normale ;
- La phase clinique de diabète avec l'état d'hyperglycémie par carence en insuline ; moins de 10-15 % des cellules bêta sont fonctionnelles ;
- Le diabète de type 1 se déclare habituellement chez des enfants sans surpoids par un syndrome polyuro-polydipsique et une perte de poids. Cependant, du fait de l'augmentation de l'incidence de l'obésité chez l'enfant, actuellement 24% des enfants sont en surpoids au moment du diagnostic du diabète de type 1. Les symptômes sont de courte durée et une acidocétose est présente dans 30 à 40 % des cas (Silvestre da Conceicao, 2010).

3.2 Le diabète de type 2

Le diabète de type 2 est un désordre métabolique causé par différents facteurs (sociaux, comportementaux, environnementaux et génétiques) entraînant dans un premier temps une résistance à l'insuline avec hyperinsulinémie et dans un second temps un défaut de sécrétion de l'insuline par la cellule bêta. La part de la génétique dans le diabète de type 2 est mal connue car multigénique (Silvestre da Conceicao, 2010).

Résistance à l'insuline : dans le diabète de type 2, il existe une résistance à l'insuline de l'ensemble de l'organisme. L'augmentation de la sécrétion d'insuline peut limiter l'hyperglycémie (Gurnell, 2009).

Défaut de sécrétion d'insuline : chez les diabétiques de type 2, le taux d'insuline est bas par rapport au degré d'hyperglycémie, avec disparition des pics précoces et autres anomalies liées à la stimulation chronique de l'insulinosécrétion. Le diabète résulte de l'incapacité de la cellule bêta à compenser le degré d'insulino-résistance présent (Gurnell, 2009).

Ce diabète est rare chez l'enfant mais son incidence est en augmentation continue parallèlement à l'augmentation de l'incidence de l'obésité. Il apparaît généralement à la puberté (période d'insulinorésistance via l'augmentation de sécrétion des hormones stéroïdes et de l'hormone de croissance) chez des enfants obèses avec des antécédents familiaux de diabète de type 2. Certaines ethnies semblent présenter des prédispositions génétiques (Afro-Américains, Hispaniques, Indiens, Asiatiques) (Silvestre da Conceicao, 2010).

3.3 Les autres types de diabète

3.3.1 Les diabètes MODY (Maturity Diabetes of the Young)

Les diabètes MODY sont une forme rare de diabète causés par un défaut fonctionnel des cellules bêta d'origine monogénique et de transmission autosomique dominante. Ils représentent 2 à 5 % des diabètes non insulino-dépendants de l'adulte. Ce diabète est non cétosique et non associé à une obésité (Silvestre da Conceicao, 2010). Actuellement, cinq défauts différents sont connus dans le diabète de type MODY :

MODY 1 : défaut de l'Hepatocyte nuclear factor 4 α (HNF-4 α).

MODY 2 : défaut de la glucosinase.

MODY 3 : défaut de l'HNF-1 α .

MODY 4 : défaut de l'IPT-1 (insulin promoter factor-1).

MODY 5 : défaut de l'HNF-1 α , diabète mitochondrial, autres (Bouhouche, 2014).

3.3.2 Le diabète néonatal

Le diabète néonatal est défini par un état d'hyperglycémie persistant survenant avant le 6^{ème} mois de vie, il en existe deux types :

- Le diabète néonatal transitoire se manifeste dans les premières semaines de vie dans le cadre d'un retard de croissance intra-utérin, puis disparaît en quelques mois. Il récidive sous forme d'un diabète définitif, souvent vers l'adolescence ;

- Le diabète néonatal définitif se manifeste très rapidement après la naissance (mauvaise prise pondérale, déshydratation, hyperglycémie) car la sécrétion d'insuline devient insuffisante (Silvestre da Conceicao, 2010).

3.3.4 Le diabète mitochondrial

Le diabète mitochondrial représente 1 % des diabètes (enfants et adultes) et est secondaire à une mutation de l'ADN mitochondrial. Dans 80 % des cas, il se présente comme un diabète de type 2, dans 20 % des cas c'est l'insulinopénie qui prime. L'intolérance glucidique serait liée à une détérioration progressive avec l'âge de l'insulinosécrétion par les cellules β du pancréas, en rapport avec une diminution des concentrations cytosoliques en ATP/adénosine diphosphate (ADP).

Le plus fréquent est le MIDD (Maternal Inherited Diabetes and Deafness) associant des troubles de l'audition, des altérations de l'épithélium pigmentaire rétinien, des troubles neurologiques et des anomalies de la régulation glycémique. La transmission est toujours maternelle. Enfin, le diabète mitochondrial a été rapporté dans des maladies comportant des réarrangements complexes de l'ADN mitochondrial, comme le syndrome de Pierson ou le syndrome de Kearns-Sayre (Silvestre da Conceicao, 2010).

4. Facteurs de risque

4.1 Facteurs génétiques

La présence d'un diabétique de type 2 dans une famille augmente le risque de survenue du diabète chez les autres membres de cette famille. Ce qui est en faveur d'une participation génétique dans l'apparition du diabète de type 2. De plus, des études de concordance entre jumeaux dont l'un au moins est atteint de diabète de type 2 montrent une concordance plus importante chez les homozygotes (58 % à 80 % selon les études) que pour les hétérozygotes (17 % à 40 %). Cela suggère un support génétique important au diabète de type 2, mais l'absence de concordance à 100 % suggère aussi que cette participation est dépendante d'autres facteurs (Chahboub, 2015 ; Makhoul, 2015).

4.2 Obésité

Le niveau d'obésité est connu depuis de longue date pour être associé à une prévalence augmentée du diabète de type 2. La durée de l'obésité est un facteur de risque additionnel à l'obésité. Chez les indiens Pima qui présentent un IMC supérieur ou égal à 30, le risque de diabète augmente de 24,8 pour 1000 pour ceux qui sont obèses depuis moins de 5 ans, à 35,2 pour 1000 entre 5 et 10 ans et jusqu'à 59,8 pour 1000 pour ceux qui le sont depuis plus de

10 ans. Un travail épidémiologique réalisé en Suède a montré que c'était surtout en cas de distribution abdominale et viscérale de la graisse qu'un obèse avait un risque important de développer un diabète de type 2 ; cette distribution est reflétée par le rapport du tour de taille sur le tour de hanche (Ohlson et al., 1985 ; Chahboub et Makhoulf, 2015).

4.3 Facteurs environnementaux

4.3.1 Infections

Le rôle potentiel d'une infection virale dans la pathogénie du diabète de type 1 fut suspecté initialement à partir d'études épidémiologiques (augmentation de l'incidence du diabète en automne et en hiver, association significative entre diabète et rubéole congénitale, oreillons, coxsackie B4, cytomégalovirus, virus Epstein-Barr) et par l'existence de modèles de diabètes viro-induits chez l'animal. Les mécanismes potentiels sont multiples : réaction antigénique croisée (homologie entre protéines virales et autoantigènes), activation lymphocytaire T, modification de l'expression antigénique des cellules β , rôle cytopathogène direct (peu probable) (Raverot, 2004).

4.3.2 Toxiques

L'alloxane, la streptozocine, la pentamidine et le pyrinuron (raticide) affectent directement la cellule bêta ; la susceptibilité à chaque agent est variable selon les espèces (Raverot, 2004)

4.3.3 Alimentation

L'implication possible des protéines du lait de vache ou des nitrosamines dans la pathogénie du diabète de type 1 a été envisagée, mais elle reste non confirmée (Raverot, 2004).

4.3.4 Stress

Toute agression peut révéler l'existence d'un diabète de type 1 chez un sujet prédisposé (Raverot, 2004).

5. Complications

Les complications liées au diabète ont une origine commune : l'excédent de glucose dans le Sang. Après un certain temps, une trop grande quantité de glucose dans le sang a des effets néfastes sur les reins (néphropathie), les yeux (rétinopathie), le système neurologique (neuropathie), le cœur (infarctus) et les vaisseaux sanguins (hypertension, artériosclérose, etc.) (Chettab et Djamil, 2017).

5.1 Complications aiguës

5.1.1 Hyperglycémie

Le coma acido-cétosique avec hyperglycémie apparaît en cas de déficit sévère en insuline. Il complique le diabète de type 1 insulinodépendant le plus souvent (Stratton et al., 2000).

5.1.2 Hypoglycémie

L'hypoglycémie est une complication fréquente. Les causes d'hypoglycémies sont multiples. Dans le diabète de type 1, il s'agit d'une inadéquation entre le régime alimentaire, l'activité physique et la dose d'insuline (Raccach, 2004). Dans le diabète de type 2, il peut s'agir d'interactions médicamenteuses avec un sulfamide hypoglycémiant (sulfamide Antibactérien, anti-vitamine K, aspirine, certains AINS) ou de tares viscérales surajoutées (insuffisance rénale) (Chettab et Djamil, 2017).

5.1.3 Complications chroniques

5.1.3.1 Maladies cardiovasculaires

Le diabète contribue à l'émergence des maladies cardiovasculaires. En effet, le diabète favorise le développement de l'athérosclérose au niveau des grosses artères et augmente ainsi le risque d'obstruction de vaisseaux sanguins près du cœur (infarctus), au cerveau (AVC) ou aux pieds (gangrène). L'âge, l'hérédité, l'hypertension, l'embonpoint et le tabagisme influencent aussi leur apparition. Les diabétiques de type 2 ont souvent un profil qui les rend au départ plus à risque de ce genre de maladie. Les maladies cardiovasculaires sont deux à quatre fois plus fréquentes chez les diabétiques que chez les autres (Chevenne et Fonfrède, 2001).

5.1.3.2 Neuropathie

La neuropathie est le nom générique donné aux affections qui touchent les nerfs et qui peuvent être douloureuses, quelle qu'en soit la cause. Les troubles du système nerveux se développent dans les dix premières années du diabète chez 40% à 50% des personnes diabétiques de type 1 ou 2. Cela en raison d'une mauvaise circulation sanguine (donc d'un apport en oxygène insuffisant pour les nerfs) et du taux élevé de glucose, qui altère la structure des nerfs. Le plus souvent, le sujet ressent des picotements, des pertes de sensibilité et des douleurs qui se manifestent d'abord au bout des orteils ou des doigts, puis remontent progressivement le long des membres atteints. La neuropathie peut aussi toucher les nerfs qui contrôlent la digestion, la pression sanguine, le rythme cardiaque et les organes sexuels (Raccach, 2004).

5.1.3.3 Néphropathie

Le terme néphropathie provient du grec néphrose = rein. Le tissu des reins est constitué d'une multitude de minuscules vaisseaux sanguins qui forment un filtre dont le rôle est d'éliminer les toxines et déchets du sang. Comme le diabète cause des troubles vasculaires, ces petits vaisseaux peuvent en être affectés au point d'entraîner une détérioration progressive des reins qui se manifesteront par divers troubles, allant de l'insuffisance rénale à la maladie rénale irréversible (Collart, 2003).

5.1.3.4 Rétinopathie

Elle est caractérisée par une hyperperméabilité et une fragilité capillaire. Après 20 ans de diabète, la rétinopathie est présente chez 90% des diabétiques, elle est proliférative chez 50 à 60% des diabétiques de type 1 ; et moins fréquente, selon les enquêtes, chez les diabétiques de type 2. Les chiffres vont de 5% à 25 % (Chevenne et Fonféde, 2001). La survenue de la rétinopathie est corrélée à la durée du diabète et au degré d'équilibre glycémique. Elle menace donc les patients diabétiques après quelques années d'hyperglycémie mal maîtrisée, l'hypertension artérielle est un facteur aggravant majeur de la maladie (Stratton et al., 2001).

6. Diagnostic

6.1 Glycémie à jeun

D'après l'OMS et le National Diabetes Data Group (NDDG), une valeur supérieure ou égale à 7,8 mmol (1,4g/l) sur plasma veineux confirme le diagnostic de diabète (Adiza, 2006).

6.2 Test d'hyperglycémie provoquée

Il s'agit de doser la glycémie à jeun puis de faire consommer 75g de glucose et de répéter le dosage régulier de la glycémie toutes les 30 minutes pendant 2 heures. L'aspect de ce test permet de dépister des anomalies du métabolisme du glucose (Ménat, 2005).

6.3 Hémoglobine glyquée

L'hémoglobine glycolysée ou glyquée (HbA1c) est le résultat de la réaction non enzymatique entre une protéine (l'hémoglobine) et le glucose dans le sang, elle reflète l'équilibre glycémique moyen de chaque individu durant les 8 à 12 semaines précédentes. Il existe donc des valeurs normales pour le sujet non diabétique et normo tolérant au glucose et des valeurs pathologiques chez le diabétique avéré (Adiza, 2006).

6.4 Autres tests

6.4.1 La glycémie post prandiale

Correspond à un dosage de la glycémie après le repas. Un taux qui s'élève trop peut être révélateur de l'intolérance au glucose (Ménat, 2005).

6.4.2 Le test de charge glucidique

Le même principe que le précédent mais le repas est remplacé par une quantité de sucre précise (Ménat, 2005).

En cas d'anomalie d'un de ces tests, des conseils hygiéno-diététiques peuvent permettre d'éviter l'apparition du diabète. Un dépistage régulier par le dosage de la glycémie, surtout en cas d'obésité ou d'antécédents familiaux de diabète, est indispensable car les signes cliniques sont toujours trop tardifs (Ménat, 2005).

1. Génétique du diabète de type 1

Le diabète de type 1 est sous le contrôle d'un petit nombre de gènes qui interfèrent d'une part les uns avec les autres et d'autre part avec des facteurs environnementaux. À ce titre, le diabète de type 1 doit être considéré comme une maladie complexe.

Les études de famille ont permis de caractériser les risques respectifs que confèrent l'existence d'un cas de diabète de type 1 dans une famille : 5% pour les germains, 3% pour les enfants d'une mère diabétique et 4% pour ceux d'un père diabétique. Dans les paires des jumeaux monozygotes, la concordance pour la maladie représente environ 40% dans la plupart des études (Colette et Monnier, 2014).

1.1 Mutations géniques

Plusieurs mutations géniques ont été associées au diabète de type 1, parmi lesquelles :

1.1.1 Mutation du gène *SIRT1* (SIRTuin 1)

L'histone déacétylase *SIRT1* joue un rôle essentiel dans la modulation de plusieurs maladies liées à l'âge. Le séquençage direct et exome a identifié la présence d'un changement T en C dans l'exon 1 de *SIRT1*, correspondant à une mutation leucine-proline au résidu 107. L'expression de *SIRT1-L107P* dans les cellules productrices d'insuline a entraîné une surproduction d'oxyde nitrique, les cytokines et les chimiokines. Ces observations identifient un rôle de *SIRT1* dans l'auto-immunité humaine et dévoilent une forme monogénique de diabète de type 1 (Biaison-Lauber, 2013).

1.1.2 Autres mutations

D'autres mutations pouvant créer des anomalies des réseaux cytokiniques ont été aussi associées au diabète de type 1 comme *IL2RA* (InterLeukin-2 Receptor subunit Alpha), *IL7RA* (Interleukin-7 receptor- α), *IFH1* (Interacts with Forkhead 1) (Colette et Monnier, 2014).

1.2 Polymorphisme et diabète de type 1

1.2.1 Polymorphisme des gènes *HLA* (Human Leukocyte Antigen)

Les études de déséquilibre de liaison dans des analyses cas-témoins ont permis d'identifier dans les années soixante-dix une région critique sur le bras court de la sixième paire chromosomique (6p21). Cette région abrite les gènes du complexe majeur d'histocompatibilité. L'association avec le diabète se fait essentiellement avec certains allèles de gènes de classe 2 codant pour les molécules HLA DR et DQ. Certains sont prédisposant à des degrés divers et d'autres protecteurs. Le génotype conférant le risque le plus élevé est représenté par une hétérozygotie DR3-DQ2/DR4-DQ8. En revanche, le

génotype HLA DQB1*0602 confère une protection vis-à-vis du risque de diabète même chez les sujets porteurs d'autoanticorps dirigés contre le pancréas. La nature des allèles de prédisposition peut varier selon le fond génétique de la population (Colette et Monnier, 2014).

1.2.2 Polymorphisme du gène *IDDM2* (Insulin-dependent diabetes mellitus 2)

Le gène *IDDM2* est représenté par le VNTR (Variable Number of Tandem Repeat) du gène de l'insuline. Cette zone, très polymorphe est située en amont du gène de l'insuline (11p15). On distingue des allèles de classe I avec un petit nombre de répétition (26 à 63) et des allèles de classe II avec un grand nombre de répétitions (140 à 200). L'homozygotie pour des allèles VNTR du gène de l'insuline de classe I confère un risque accru d'un facteur 2 à 5, alors que la même situation pour les allèles de classe III est protectrice dans les mêmes proportions (Colette et Monnier, 2014).

1.2.3 Polymorphisme du gène *SUMO4* (Small Ubiquitin-related MOdifier 4)

Une substitution (M55V) à un résidu conservé évolutif du domaine CUE (evolutionarily crucial) crucial du gène *SUMO4* était fortement associée au DT1 (Guo et al., 2004).

1.1.4 Polymorphisme du gène *PTPN22* (Protein tyrosine phosphatase, non receptor type 22)

Des polymorphismes aussi du gène *PTPN22* ont aussi été décrits, le *PTPN22* est un gène qui code la protéine lymphoïde tyrosine phosphatase (LYP), *PTPN22* est bien connu comme le troisième locus génétique majeur qui contribue au risque de développement du DT1. Il est localisé en 1p13.2 et comprend 24 exons. Le polymorphisme du gène *PTPN22* rs2476601 est localisé dans l'exon 14 et est associé au DT1. Ce polymorphisme également connu sous le nom de R620W (Trp → Arg) ou (c.1858T>C), est une mutation faux-sens dans le domaine P1, ce qui réduit la capacité de liaison de la LYP à la tyrosine kinase Csk. Il existe des études qui soutiennent une association entre le polymorphisme du gène *PTPN22* rs2476601 et un risque accru de DT1 chez les enfants (Welter et al., 2018).

1.1.5 Polymorphisme du gène *ERBB3* (erb-b2 receptor tyrosine kinase 3)

Certaines études d'association à l'échelle du génome ont identifié le gène *ERBB3* comme un locus de susceptibilité pour le DT1, avec le signal d'association le plus fort observé pour le SNP rs2292239 dans l'intron 7 du gène (Lemos et al., 2018).

1.1.6 Polymorphisme du gène *CTLA4* (Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4)

Des polymorphismes du gène *CTLA4* situé sur le chromosome 2q33 ont été associés à une faible augmentation du risque de diabète et/ou de thyroidopathies auto-immunes (Colette et Monnier, 2014). Un dimorphisme A/G en position 49 de l'exon 1 du gène *CTLA-4* est significativement associé au diabète type 1 (Kamoun Abid, 2001).

2. Génétique du diabète de type 2

2.1 Mutations géniques

2.1.1 Mutation du gène *PPAR g2* (Peroxisome proliferator activated receptor gamma 2)

Le récepteur activé par les peroxyosomes-proliférateurs (PPAR g) est un membre de la superfamille des récepteurs nucléaires. Ce régulateur de la transcription a été identifié comme un récepteur fonctionnel pour des médicaments sensibilisants à l'insuline. PPAR g2, l'isoforme principalement adipeuse de PPAR g s'exprime sélectivement et à un niveau supérieur dans le tissu adipeux, où il module l'expression des gènes cibles impliqués dans la différenciation adipocytaire et l'homéostasie du glucose. Deux mutations naturelles dans ce gène ont été identifiées et associées avec l'obésité et /ou le diabète (Clement et al., 2000).

2.1.2 Mutation du gène *IRS1* (Insulin Receptor Substrate 1)

Le substrat du récepteur de l'insuline-1 (IRS1) est un élément essentiel dans les voies de signalisation de l'insuline, et des mutations dans le gène *IRS1* ont été décrites comme ayant un rôle dans la prédisposition aux traits liés au diabète de type 2 (Kovacs et al., 2003).

2.2 Polymorphismes géniques

2.2.1 Polymorphisme du gène *SLC30A8* (Solute Carrier Family 30 Member 8)

L'association la plus importante et la plus intéressante est due à un polymorphisme non-synonyme sur le gène *SLC30A8* situé sur le chromosome 8, codant un transporteur de zinc exprimé exclusivement dans les cellules bêta. Compte tenu de l'importance du zinc dans la formation des hexamères du peptide de l'insuline, une modulation subtile de son transport par ce polymorphisme peut jouer sur la capacité sécrétoire des cellules β (Polychronakos, 2008).

2.2.2 Polymorphisme du gène *SREBF-2*(Sterol regulatory element binding transcription factor-2)

SREBF-2, également connu *SREBP-2* et *bHLHd-2* est un gène situé sur le chromosome 22q13.2. Il régule la transcription des gènes régulés par les stéroïdes dans l'hémostase du cholestérol. Les chercheurs ont trouvé des preuves importantes d'une forte association entre le variant rs2267439 (C/T) et la susceptibilité au DT2 dans une population iranienne (Galavi et al., 2018).

2.2.3 Polymorphisme du gène *CAPN10* (Calcium-Activated Neutral Proteinase 10)

CAPN10 encode une protéase cystéine qui fait partie de la famille des calpaïnes, une grande famille de gènes exprimés de façon omniprésente qui jouent de multiples rôles dans le remodelage intracellulaire, la signalisation post-récepteur et d'autres fonctions intracellulaires. Des méta-analyses ont montré que des polymorphismes dans *CAPN10* sont susceptibles d'être vraiment associés au DT2 (Ali, 2013).

2.2.4 Polymorphisme du gène *TCF7L2* (Transcription Factor 7 like 2)

TCF7L2 a été découvert en tant que gène de susceptibilité de DT2. L'association entre le DT2 et un certain nombre de polymorphismes mononucléotidiques dans ce gène a été fortement confirmée dans plusieurs études d'association génomique (GWAS) dans différents groupes ethniques (Ali, 2013).

2.2.5 Polymorphisme du gène *WFS-1* (wolframin ER transmembrane glycoprotein)

Le gène *WFS-1* code pour la protéine Wolframin, qui est défectueuse chez les individus souffrant du syndrome de Wolfram (caractérisé par diabète insipide, diabète juvénile, atrophie optique et surdité). Le gène *WFS1* semble être impliqué dans la fonction des cellules bêta et 2 SNP dans *WFS-1* sont significativement associés au DT2 dans une vaste étude cas-témoins impliquant environ 24000 échantillons (Ali, 2013).

2.2.6 Polymorphisme des gènes *HNF1A*, *HNF1B* et *HNF4A*

Sont tous des gènes MODY connus (*c'est-à-dire*, des gènes qui contiennent des mutations rares de pénétrance élevée qui provoquent le diabète monogénique des jeunes). Ces gènes jouent un rôle dans le développement du foie, dans la régulation des fonctions métaboliques hépatiques et dans le développement et le fonctionnement des cellules bêta. Des variants de ces gènes qui ne conduisent pas à MODY ont été associés à une diminution de la sécrétion

d'insuline et une augmentation du risque de DT2 dans diverses populations, mais comme pour les autres gènes candidats, leur rôle dans la prévalence mondiale du diabète semble relativement faible (Ali, 2013).

2.2.7 Polymorphisme du gène *MTHFR* (MéthylèneTétraHydroFolate Réductase)

La méthylènetétrahydrofolate réductase (MTHFR), une enzyme clé dans le métabolisme du folate, a eu des effets significatifs sur les taux d'homocystéine. Le polymorphisme fonctionnel commun *MTHFR* C677T avait été largement étudié. Il y a une relation significative entre le polymorphisme *MTHFR* C677T et DT2M dans la population Han chinoise (Zhu et al., 2014).

3. Génétique du diabète néonatal

Contrairement aux formes polygéniques du diabète, les troubles monogéniques sont provoqués par des mutations héréditaires ou sporadiques hautement pénétrantes dans des gènes uniques qui sont critiques pour la fonction des cellules β . La plupart des cas de DMN sont sporadiques et résultent de mutations de novo. Cependant, dans certains de ces cas, il existe un risque de récurrence chez un deuxième enfant à la suite d'un mosaïcisme germlinal (Naylor et al., 2011).

3.1 Génétique du diabète néonatal transitoire (TNDM)

Un total de 70% de TNDM est causé par des défauts provoquant la surexpression de gènes exprimés paternellement dans la région imprimée du chromosome 6q2414.

3.2 Génétique du diabète néonatal permanent (PNDM)

La NDM permanente est le plus souvent le résultat de mutations dans le canal potassique sensible à l'ATP des cellules β (K_{ATP}) causées par des mutations activatrices hétérozygotes dans *KCNJ11* (Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily J Member 11) et *ABCC8* (ATP binding cassette subfamily C member 8), qui représentent respectivement 31 et 10% de tous les cas de PNDM. Des mutations dans le gène de l'insuline lui-même causent 12% du PNDM (Naylor et al., 2011).

Les médicaments sont de plus en plus nombreux et efficaces mais ils n'agissent en général pas sur les causes. Ces traitements peuvent être regroupés en trois classes :

- **Les médicaments qui améliorent le métabolisme du glucose** : ils diminuent la fabrication du glucose par l'organisme. Ce sont des médicaments faciles à utiliser, plutôt bien tolérés, mais efficaces uniquement tant que le pancréas est encore fonctionnel.
- **Des médicaments ralentissent l'absorption du sucre dans l'intestin** (assez récent) : ils sont bien tolérés mais ont une puissance d'action limitée car ils ne réduisent pas la quantité totale de sucre absorbée. Ils complètent bien le régime et les autres médicaments.
- **Les sulfamides** : sont les produits les plus efficaces car ils stimulent la sécrétion d'insuline par le pancréas. Le principal risque de ces produits est l'hypoglycémie, parfois sévère. De nouveaux médicaments, non sulfamides, agissent de la même façon avec peut-être moins d'effets secondaires (Ménat, 2005).

Tous ces médicaments peuvent s'associer entre eux pour augmenter les résultats sur la glycémie mais aucun ne peut se passer d'un régime bien suivi (Ménat, 2005).

De nouvelles approches thérapeutiques du diabète basées sur l'inhibition des actions du glucagon sont actuellement à l'étude. Elles confirment, s'il en était besoin, le rôle du glucagon dans la physiopathologie du diabète de type 2. Différentes stratégies visant à bloquer les effets du glucagon sont actuellement explorées : des anticorps monoclonaux du récepteur au glucagon (RG), des oligonucléotides anti sens, des peptides, ainsi que des petites molécules antagonistes du RG (Moller et al., 2011).

La recherche des complications dégénératives

- La recherche de la néphropathie diabétique dépend essentiellement du dosage de la micro albuminurie.
- L'infarctus du myocarde peut se présenter de façon typique ou plus souvent atypique chez un diabétique, ce qui justifie la pratique annuelle d'un ECG.
- L'examen ophtalmique comprend une acuité visuelle de près et de loin, une mesure de pression intraoculaire, un examen du fond d'œil et peut être complété par une angiographie rétinienne (Toufiki, 2008).

Partie pratique

1. Type d'étude

Nous avons réalisé deux études :

- une étude statistique de type transversal qui a duré 4 mois (de Février à Mai 2018) et réalisée au niveau du service de pédiatrie, du service des urgences de CHU Ibn Badis Constantine et à la pédiatrie d'El Mansourah.

- une étude moléculaire au niveau du laboratoire de biologie et génétique moléculaire du CHU Ibn Badis Constantine (extraction d'ADN) et au laboratoire de biologie moléculaire - Faculté SNV de l'université des frères Mentouri Constantine 1 (PCR/ RFLP).

2. Patients

2.1 Recrutement

40 enfants atteints du diabète venant de différentes régions de l'Est algérien ont été inclus dans cette étude. Chaque individu a été soumis à un questionnaire (Annexe 1).

2.1.1 Critères d'inclusion

Tous les enfants atteints du diabète âgés entre 0 et 15 ans et dont le diagnostic a été confirmé par un bilan glycémique.

2.1.2 Critères d'exclusion

Tous les patients qui ont dépassé l'âge de 15 ans.

2.2 Prélèvement

Le prélèvement du sang veineux au pli du coude est réalisé sous des conditions stériles et est recueilli dans des tubes vacutainer contenant l'anticoagulant EDTA (Ethylene Diamine Tetra-acetic Acid) qui est un inhibiteur de l'action des enzymes DNase ou nucléases, préservant ainsi l'intégrité du génome moléculaire. Tous les prélèvements ont été stockés à +4°C avant extraction.

3. Méthodes

3.1 Extraction d'ADN

L'extraction de l'ADN consiste en l'isolation de l'ADN pur des leucocytes sanguins de chaque individu. Au cours de cette étude, la méthode d'extraction au NaCl a été entreprise (Annexe 2). Les étapes d'extraction de l'ADN leucocytaire se résument en cinq étapes :

- hémolyse du sang et préparation du culot leucocytaire.
- lyse des leucocytes.
- extraction de l'ADN.
- précipitation de l'ADN.
- solubilisation de l'ADN purifié.

3.2 PCR/RFLP

La PCR permet l'amplification exponentielle d'une faible quantité d'ADN en utilisant un mélange réactionnel contenant tous les réactifs nécessaires. L'ensemble est soumis à une succession de réactions appelées cycles de réplication. Chaque cycle est composé de 3 étapes : une dénaturation des brins d'ADN, une hybridation des amorces et une élongation.

La technique PCR-RFLP est l'association entre les techniques d'amplification et d'observation de polymorphismes sur des fragments digérés par des enzymes de restriction. D'un point de vue technique, la méthode RFLP est utilisée pour refléter directement des variations dans la séquence primaire de l'ADN. Cette technique a permis d'observer de nombreuses variations à différentes échelles taxonomiques de la population à l'espèce.

3.2.1 PCR du polymorphisme C677T du gène de la *MTHFR*

Le génotypage du variant allélique C677T du gène *MTHFR* a été réalisé en utilisant l'enzyme de restriction *Hinf*I (*Haemophilus influenzae* I).

Plusieurs étapes successives sont nécessaires afin d'obtenir le profil de la digestion :

- PCR et contrôle de PCR sur gel d'agarose à 2 %,
- digestion des produits de PCR par l'enzyme de restriction *Hinf*I,
- séparation des produits de digestion par migration électrophorétique sur gel d'agarose à 3%,
- visualisation des produits de digestion par trans-illumination sous UV.

Avant de préparer la PCR, les ADN fortement concentrés doivent être dilués comme suit :

- mettre 10µl d'ADN concentré dans chaque tube Eppendorf,
- rajouter 10µl d'eau distillée.

Les réactifs utilisés dans la PCR doivent d'abord être dilués selon la formule suivante :

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

Sachant que :

C_1 : concentration initiale de chaque réactif (mentionnée sur le tube).

V_1 : volume initial nécessaire à la dilution (inconnu).

C_2 : concentration finale (mentionnée dans le protocole utilisé).

V_2 : volume final (selon le nombre de tubes).

Donc :

$$V_1 = C_2 \times V_2 / C_1$$

Le volume de l'eau distillée nécessaire pour la dilution de chaque réactif est calculé comme suit :

$$V_2 - V_1 = V_{\text{eau distillée}}$$

Le volume de chaque réactif est ensuite multiplié par le nombre de tubes (nombre d'individus), plus deux tubes (témoin négatif et positif).

Le protocole utilisé dans notre étude est indiqué dans le tableau ci-dessous (Tableau 1).

Tableau 2 : Les composants du milieu réactionnel pour la PCR.

Composant	Volumes nécessaires pour un échantillon (20 µl)
H ₂ O	8,04
MgCl ₂ à 1,5 final (50mM)	0,6
Amorce sens (100 ng/µl)	2
Amorce anti-sens (100 ng/µl)	2
Tampon 10X	2
Taq DNA 5U/µl	0,16
dNTP 0,2mM final	3,2
ADN 20 à 50 ng/µl	2

Les séquences d'amorces du gène *MTHFR* utilisées sont :

- l'amorce sens (oligo F) : 5'CCA AAG GCC ACC CCG AAG3'
- l'amorces anti-sens (oligo R) : 5'GAA AGA TCC CGG GGA CGA TG3'

Pour chaque patient, 2µl d'ADN dilué sont mélangés à 18µl du mélange réactionnel dans un tube à PCR. Les tubes de PCR préparés sont mis dans le thermocycleur programmé au préalable. Les conditions pour le déroulement des cycles d'amplification sont présentées dans le tableau 3.

Tableau 3 : La programmation des cycles de la PCR

Nombre de cycles	Étape	Température (°C)	Durée
1	Dénaturation initiale	94	4 min
37	Dénaturation	94	30 sec
	Hybridation	69	30 sec
	Élongation	72	30 sec
1	Élongation finale	72	4 min

Les produits de PCR obtenus sont contrôlés par une électrophorèse sur gel d'agarose à 2% (2g d'agarose+ 100 ml de TBE « Tris Borate EDTA » + 10µl de BET « Bromure d'Éthidium »). Cette méthode permet la séparation de particules chargées sous l'action d'un champ électrique. La migration des produits amplifiés dépend de la taille et de la concentration du gel d'agarose.

Dans chaque puits du gel et du côté cathode (-), un mélange de 7µl du produit d'amplification et 3µl du marqueur de mobilité BBP (Bleu de Bromo Phénol) est déposé. Un puits est toujours consacré pour le témoin négatif. Ce dernier, sert à détecter si une éventuelle contamination de l'ADN est survenue au cours de la PCR. Ensuite, le système est soumis à une migration sous un courant de 100 volts pendant 30 min. Après migration, la visualisation des produits amplifiés est réalisée sous U.V (Figure 4).

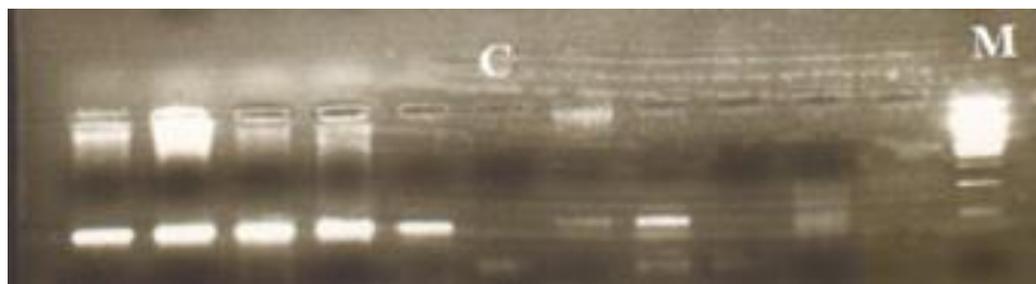


Figure 4 : Le profil électrophorétique de la PCR du C677T de la *MTHFR*.
M : marqueur de taille ; C : controle

3.2.2 Digestion des produits de PCR par *Hinf I*

Les produits de PCR obtenus sont soumis à une digestion enzymatique clivant la molécule à des endroits précis appelés sites de restriction. Dans la présente étude, 10µl de produit de PCR sont mélangés à 0,5µl d'enzyme de restriction *Hinf I*. L'ensemble est ensuite incubé à 37°C pendant une nuit.

Le variant C677T crée un site de reconnaissance pour l'enzyme de restriction *Hinf* I. Elle reconnaît et clive la séquence G/ANTC codant pour l'Alanine en position 222 (Figure 5).

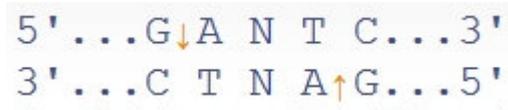


Figure 5 : Les sites de restriction de l'enzyme *Hinf*I.

La migration et la visualisation des fragments de restriction obtenus ont été effectuées dans les mêmes conditions que celles des produits PCR. Cependant, la petite taille de ces fragments a nécessité la préparation d'un gel d'agarose plus résolutif à 3 %.

Résultats et discussion

1. Nombre d'enfants diabétiques annuel enregistré depuis 2014

Les effectifs des enfants diabétiques repartis selon les années sont représentés dans la figure 6.

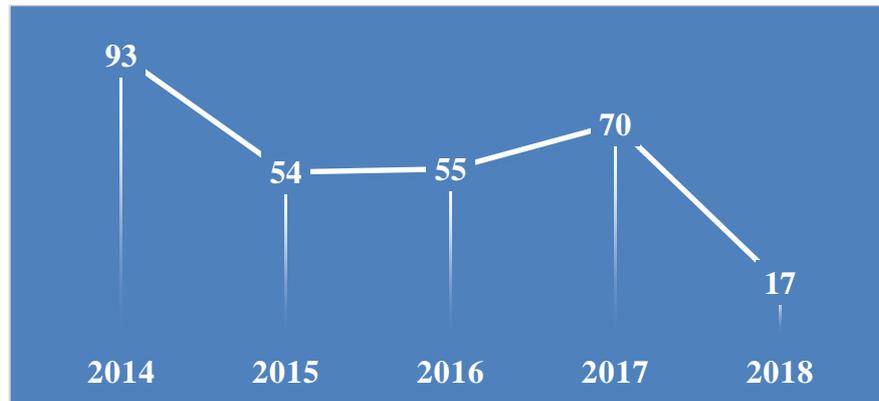


Figure 6 : Nombre d'enfants diabétiques enregistrés depuis 2014

La figure 6 montre que le plus grand nombre des enfants diabétiques enregistré dans le service de pédiatrie de CHU de Constantine était dans l'année 2014 (93 enfants), après le nombre a diminué dans les années 2015 et 2016 (54 et 55 respectivement) puis le nombre a augmenté de nouveau en 2017 (70 enfants).

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Chettab et Djamil (2017) qui ont indiqué que le nombre des enfants diabétiques enregistrés depuis 2014 varie d'une manière fluctuante d'une année à une autre.

Par contre, les résultats obtenus par Piffaretti et al (2017) indiquent que le nombre des diabétiques augmente continuellement depuis 2014.

2. Classification selon le sexe

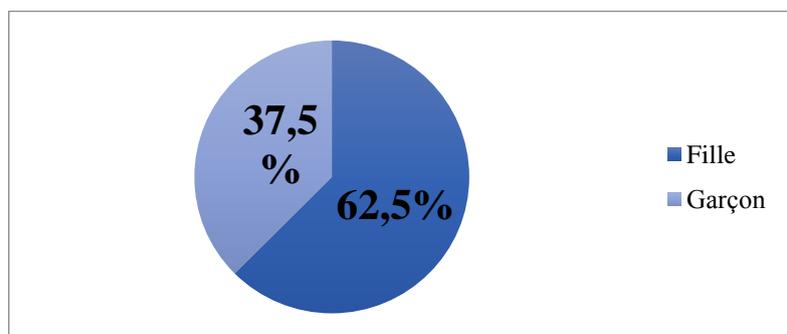


Figure 7 : Classification des enfants diabétiques selon le sexe

Selon la figure 7, une prédominance féminine avec un pourcentage de 62,5% contre 37,5% pour le sexe masculin a été observée.

Chettab et Djamil (2017) et conformément à nos résultats ont trouvé une prévalence de 62,93% pour le sexe féminin et 37,03% pour le sexe masculin avec une moyenne de $27 \pm 9,89$. Nos résultats concordent également avec les résultats de Fagmebi et al (2017) et de Timóteo et al (2012) qui ont rapporté que le sexe féminin est le plus représenté (51,4%) avec un sexe ratio de 1,06.

Par contre les résultats obtenus par Jarosz-Chobot (2011) soulignent que le sexe masculin est le plus représenté. Les mêmes résultats ont été rapportés par Tuomilehto et al (1992) qui ont montré que l'incidence était plus élevée chez les garçons par rapport aux filles.

3. Classification selon l'âge

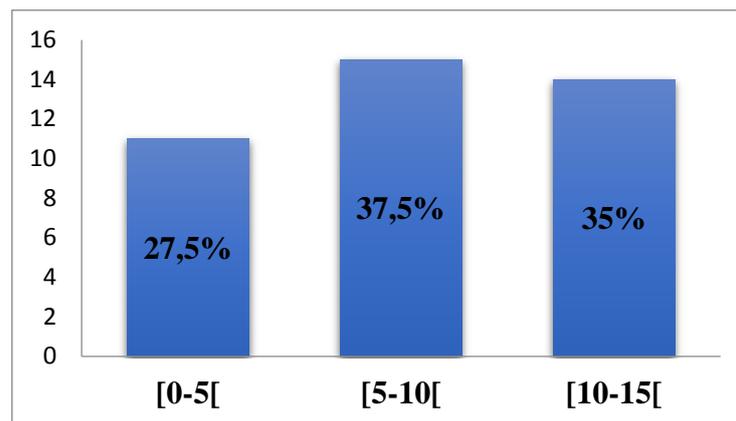


Figure 8 : Classification des enfants diabétiques selon l'âge

La classification des enfants diabétiques selon l'âge rapportée dans la figure 5 montre que la tranche d'âge la plus représentée est la tranche d'âge de [5-10 [ans avec un pourcentage de 37,5%, la deuxième tranche est celle de [10-15[ans avec un pourcentage de 35%, la troisième tranche est celle de [0-5[ans qui représente un pourcentage de 27,5%.

Pareillement à nos résultats, Barat et Lévy-Marchal (2013) ont signalé que seulement environ 25% des diagnostics de diabète de type 1 concernent des enfants de moins de 5 ans. Selon The DIAMOND Project Group (2006), les enfants des classes d'âge 5-9 ans et 10-14 ans avaient un risque respectivement de 1,6 et 1,94 fois plus élevé que les enfants âgés de 0 à 4 ans. Cependant, Tuomilehto et al (1999) ont indiqué que l'incidence est élevée dans le groupe d'âge de 1 à 4 ans : 33,2 chez les garçons et 29,5 chez les filles.

4. Classification selon le type du diabète

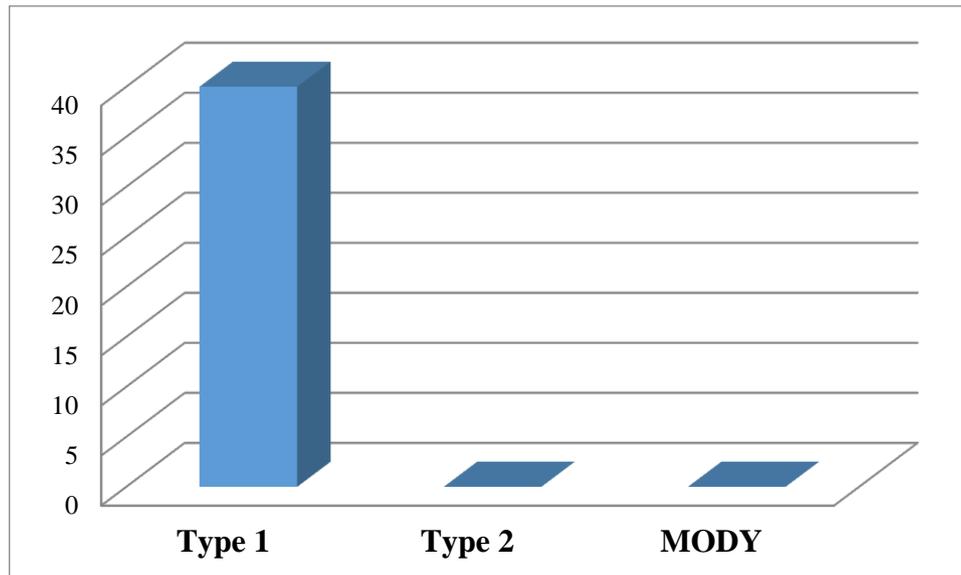


Figure 9 : Classification des enfants diabétiques selon le type du diabète

La répartition des enfants diabétiques selon le type du diabète montre que tous les patients recrutés ont un diabète de type 1 avec un pourcentage de 100%. Nos résultats concordent avec plusieurs travaux comme ceux de Montout (2016) qui avait trouvé que le DT1 était la forme prédominante (92,9%) contre (5,9%) de DT2, et 0,6% de MODY dans une population composée de 169 enfants. Le même chercheur avait montré que le diabète de l'enfant âgé de moins de 15 ans est le plus souvent un diabète de type 1 lié à un processus auto-immune responsable de la destruction progressive des îlots de Langherans et que les autres causes de diabète de l'enfant (diabète de type MODY et diabète non insulino-dépendant) sont beaucoup plus rares. En outre, nos résultats sont semblables aux résultats rapportés par Patterson et al. (2009) qui ont souligné que l'incidence du diabète de type 1 chez les enfants de moins de 15 ans est la plus élevée.

Par contre, nos résultats diffèrent de ceux de Reinehr (2013) qui a montré que plusieurs rapports récents indiquent une prévalence croissante du diabète sucré de type 2 chez les enfants et les adolescents du monde entier dans toutes les ethnies. Le travail mené par Amutha et Mohan (2016) a rapporté que le scénario a changé et l'incidence du DT2 chez les enfants de moins de 15 ans est en augmentation.

5. Classification selon les antécédents familiaux

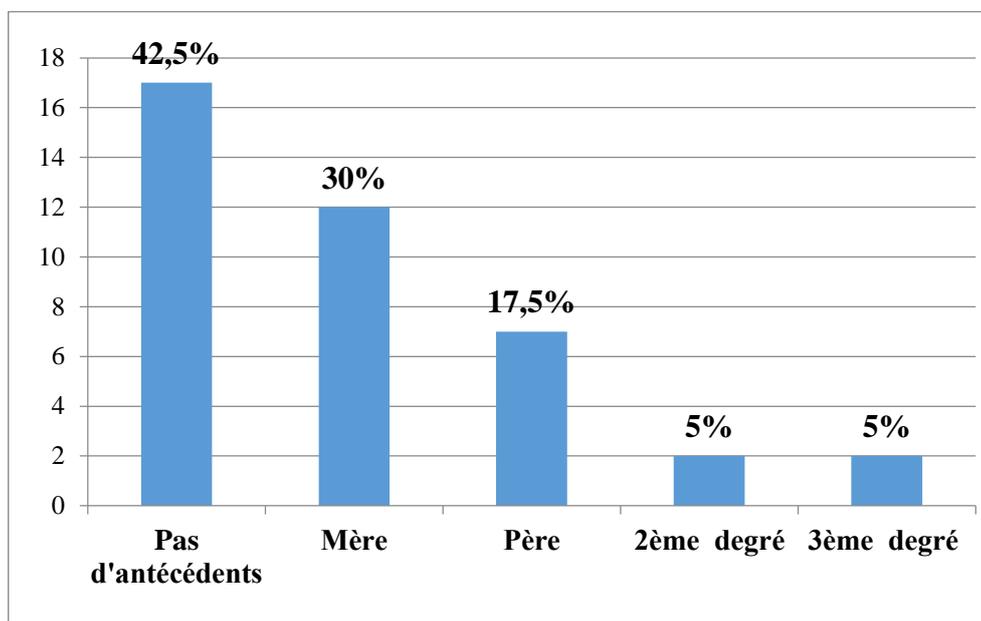


Figure 10 : Classification des enfants diabétiques selon les antécédents familiaux

La répartition des enfants diabétiques selon les antécédents familiaux rapportée dans la figure 10 montre qu'une forte proportion de cette population n'avait pas d'antécédents familiaux du diabète ce qui représente un pourcentage de 42,5% ; ceux qui ont leurs mères diabétiques représentent un pourcentage de 30%, ceux qui ont leurs pères diabétiques représentent un pourcentage de 17,5% et ceux qui ont des antécédents de 2^{ème} et 3^{ème} degré représentent uniquement 5 % pour chacun.

L'étude de Zaoui et al. (2007) a également signalée que plus de 50 % des diabétiques avaient des antécédents familiaux. L'étude menée par Malata (2013) à Tlemcen a rapporté que la consanguinité était présente à un taux de 38,59% ce qui suggère que le facteur consanguinité semble jouer un rôle indéniable dans la transmission du diabète de type 1 et que ce type est influencé par des facteurs génétiques et environnementaux.

En revanche, les résultats obtenus sont différents de ceux publiés par Andrea et Marian (2011) qui disent qu'une proportion d'environ 85% des patients atteints de DT1 n'avait pas d'antécédents familiaux.

6. Classification selon le taux de glycémie

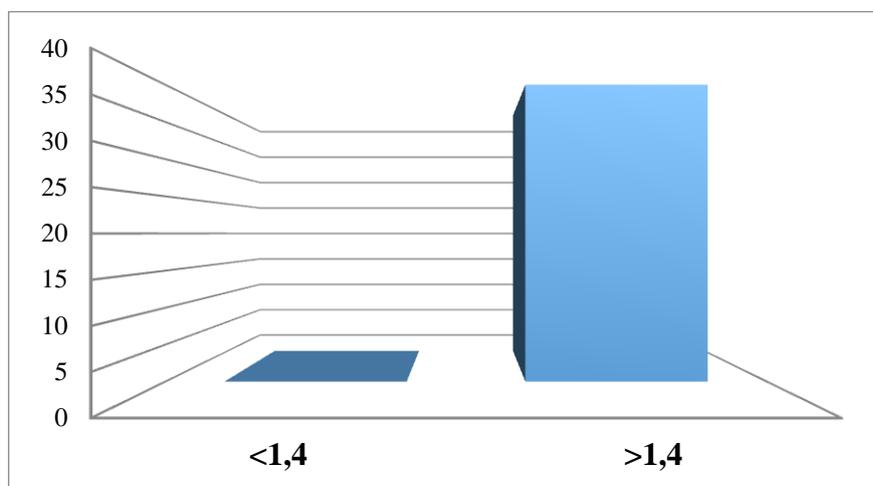


Figure 11 : Classification des enfants diabétiques selon le taux de la glycémie

La répartition de la population selon le taux de la glycémie, rapportée dans la figure 11 montre que tous les enfants diabétiques recrutés ont une valeur élevée de la glycémie (hyperglycémie) $>1,4\text{g/l}$ et cela est parce qu'il n'y a pas un contrôle régulier de taux de glycémie, de plus c'est une population des enfants, ils ne peuvent pas contrôler leur appétit. Ceci est en accord avec les observations de Chettab et Djamil (2017) qui ont mentionné que la plupart des enfants diabétiques avaient une hyperglycémie soit 87,03% contre 12,69% qui avaient une valeur de glycémie normale. De même, les résultats de Benharrat et Habi (2017) ont trouvé que 98% des patients avaient une hyperglycémie.

7. Classification selon le taux d'hémoglobine glyquée

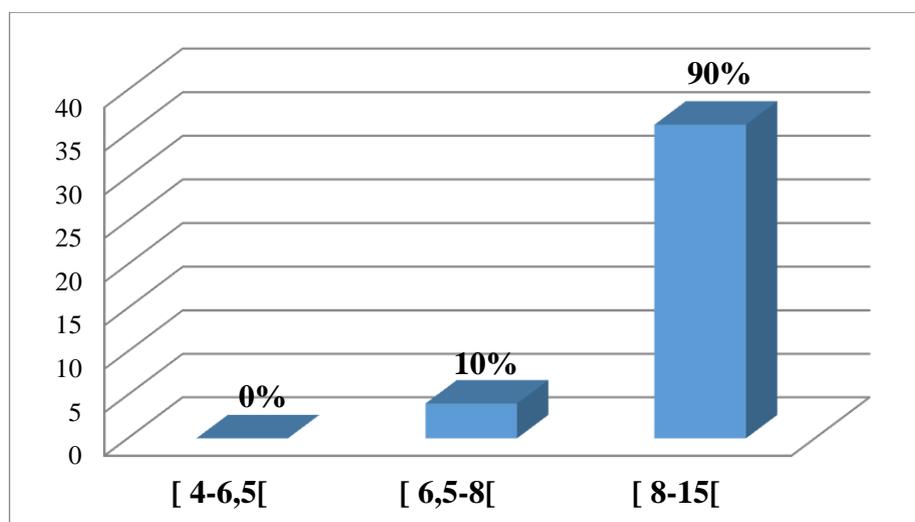


Figure 12 : Classification des enfants diabétiques selon le taux d'hémoglobine glyquée

La répartition de la population selon le taux d'hémoglobine glyquée, rapportée dans la figure 12 montre que les enfants diabétiques possédant un mauvais contrôle entre [8-15[sont de 90 %, ceux qui ont un contrôle acceptable entre [6,5-8[sont de 10% et ceux qui ont un bon contrôle sont de 0%. Ces résultats sont différents de ceux de Habi (2015) qui a trouvé que 45% de sa population avait des valeurs de l'HbA1c supérieures à 7,5% (un mauvais contrôle), 24% avaient un contrôle acceptable et 31% de la population avait un bon contrôle.

8. Classification selon les complications

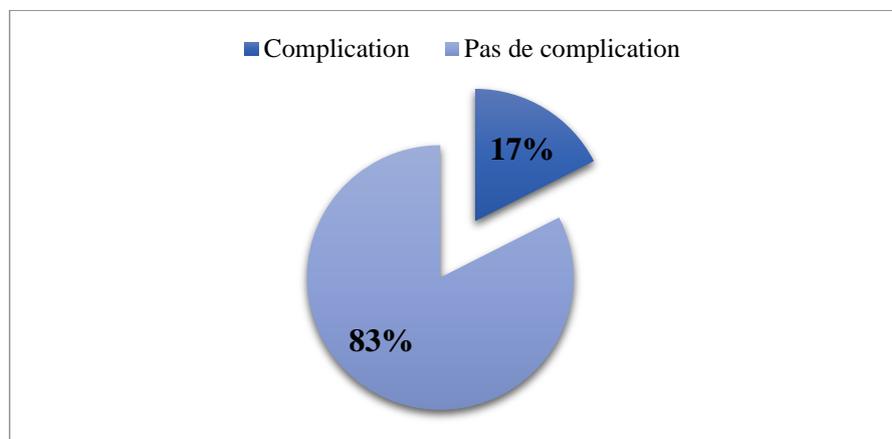


Figure 13 : Classification des enfants diabétiques selon la présence des complications

La classification de la population selon la présence des complications selon la figure 9 montre que seulement 17 % des enfants diabétiques présentent des complications et 83 % n'ont pas de complications. C'est ce qui est en accord avec l'étude menée par Sochett (1999) qui a montré que les enfants peuvent être touchés par des complications microvasculaires et macrovasculaires de la maladie et qui les exposent davantage à une morbidité grave et à une mortalité prématurée.

Nos résultats ne sont pas en concordance avec ceux de Zaoui et al (2007) qui ont trouvé des complications dégénératives chez 60% des patients diabétiques de la population étudiée.

9. Classification selon le régime alimentaire

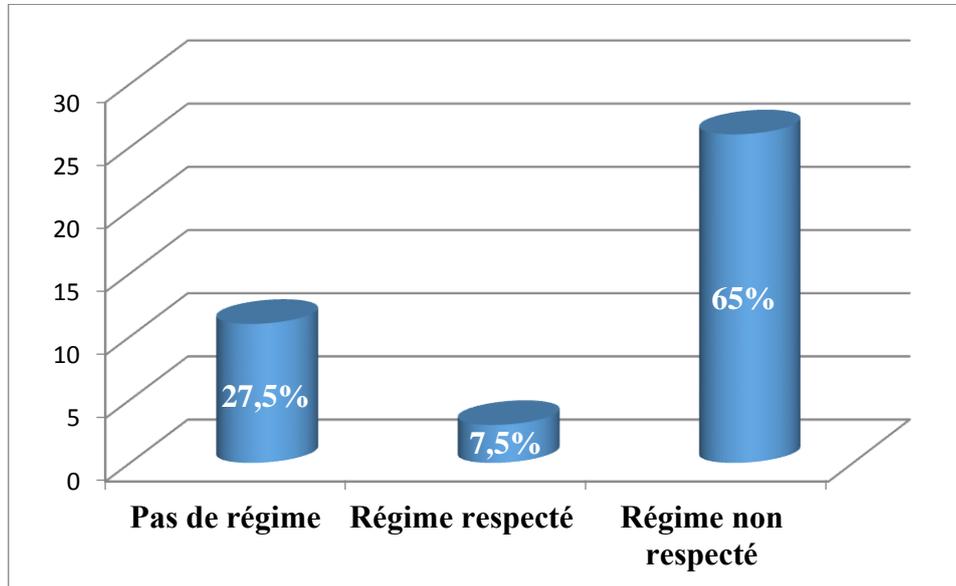


Figure 14 : Classification des enfants diabétiques selon le régime alimentaire

La classification de la population selon le régime alimentaire mentionnée dans la figure 14 montre que 65 % des enfants diabétiques ne respectent pas leur régime, 27,5% des enfants diabétiques n'ont pas encore un régime à suivre et seulement 7,5% de la population sont ceux qui respectent leur régime, ce qui suggère l'importance de régime alimentaire pour les diabétiques. Nos résultats concordent avec ceux d'Overby (2007) qui a montré qu'un régime alimentaire régulier est associé à un meilleur contrôle de la glycémie.

10. Classification selon l'obésité

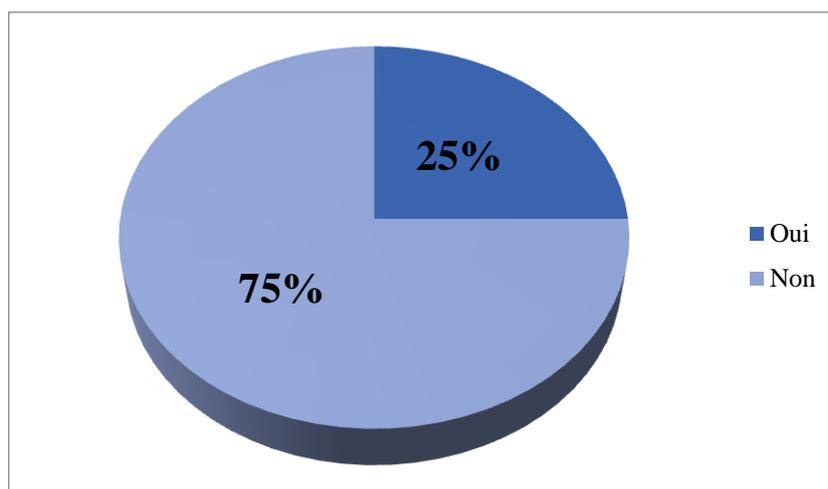


Figure 15 : Classification des enfants diabétiques selon l'obésité

La répartition de la population selon l'obésité indiquée dans la figure 11 montre que 75 % des enfants ne sont pas obèses et seulement 25 % souffrent de l'obésité. Betts et al (2005) ont également montré que le poids semble être un accélérateur environnemental important qui peut contribuer à l'augmentation frappante dans les deux types de diabète pendant l'enfance.

11. Classification selon l'activité physique

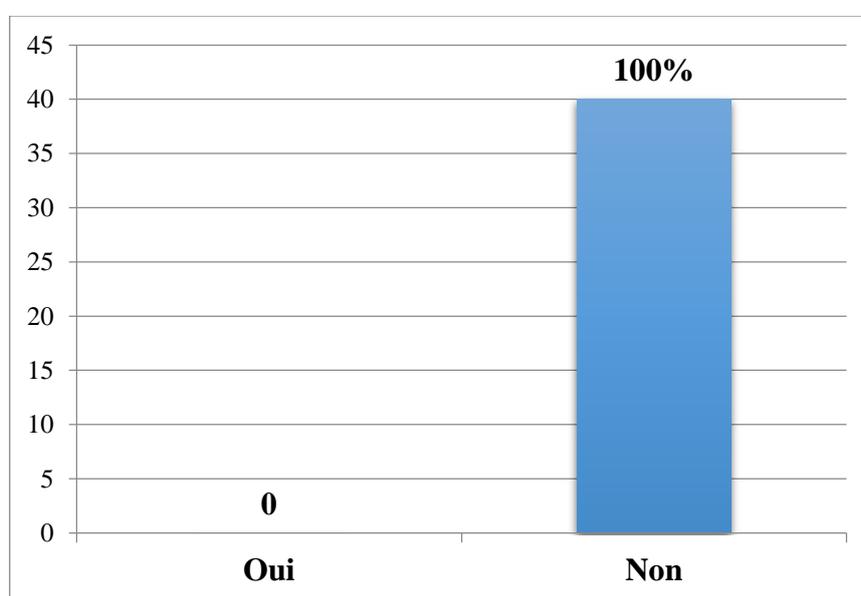


Figure 16 : Classification des enfants diabétiques selon l'activité physique

La répartition des enfants diabétiques selon l'activité physique montre que toute la population ne pratique pas une activité physique, cela est parmi les raisons qui rend leur niveau de glycémie élevé, c'est ce qui a été rapporté par l'étude du groupe de chercheurs

(DirecNet) (2006) qui ont indiqué que l'activité physique a un rôle dans la réduction de taux de glycémie. Ce même groupe a trouvé que 45% des enfants ayant un diabète de type 1 avaient une baisse de la glycémie au-dessous de 4 mmol/l (0,72 g/l) au cours d'un exercice de 60 minutes de vélo.

12. Classification selon le stress

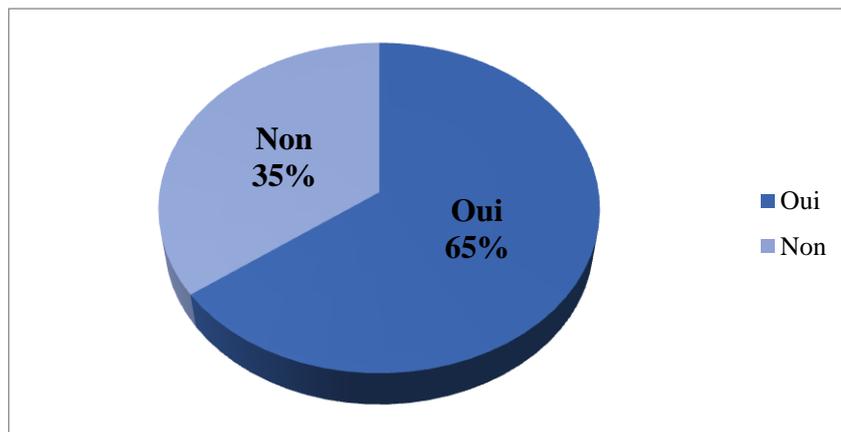


Figure 17 : Classification des enfants diabétiques selon le stress

La répartition des enfants diabétiques selon le stress rapportée dans la figure 17 montre que 65 % des enfants de l'échantillon étudié sont stressés et ont des problèmes familiaux contre 35% qui vivent dans des situations moins ou non stressantes. Nous pouvons conclure que le facteur stress peut augmenter les chances d'atteinte par le diabète. Une méta-analyse réalisée par Tsiouli et al (2013) a rapporté que dans toutes les études examinées, les interactions familiales dysfonctionnelles et le stress familial lié au diabète sont reliés à un moins bon contrôle glycémique. Le stress entraîne un comportement problématique de l'enfant et une détérioration du contrôle glycémique ; par conséquent, les conflits familiaux liés au diabète sont négativement corrélés avec le contrôle glycémique, ce qui démontre une relation de réciprocité entre le stress familial et le contrôle du diabète. Les familles dont la situation socioéconomique était défavorisée, celles ayant des adolescents atteints de

diabète et les familles monoparentales étaient plus enclines à vivre un stress relié au diabète et étaient, par conséquent, plus susceptibles de connaître un moins bon contrôle glycémique.

13. Classification des patients selon le génotypage du polymorphisme C677T du gène *MTHFR*

La digestion du produit d'amplification du gène *MTHFR* par l'enzyme de restriction *Hinf*I a reproduit 2 fragments. Le premier apparaît sur le profil électrophorétique sous forme d'une seule bande (198pb) correspondant au type homozygote normal CC, le deuxième sous forme d'une seule bande (175pb) correspondant au type homozygote muté TT, le type hétérozygote CT apparaît sous forme de 2 bandes (198pb et 175pb) (Figure 18).

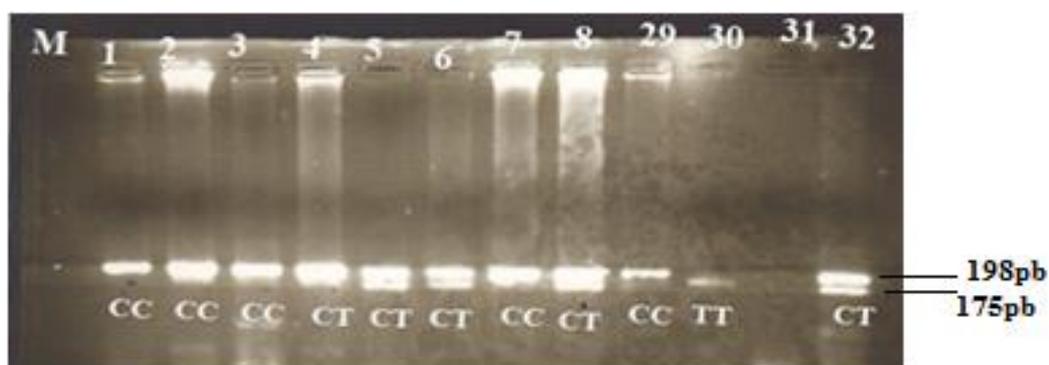


Figure 18: Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose (3%) des fragments après digestion par l'enzyme *Hinf*I.

M : marqueur de taille ; 1-8,29-32 : sujets

Notons que nous n'avons pas obtenu de résultat pour un cas. Ceci pourrait être dû à une erreur de manipulation lors de l'extraction.

Les fréquences génotypiques et alléliques ont été calculées pour les sujets génotypés (39 patients) (Tableau 4, Figures 19 et 20).

Tableau 4 : Répartition des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme C677T de la *MTHFR*.

		Nombre	Pourcentage (%)
Fréquences génotypique	677CC	19	48,72

	677CT	17	43,59
	677TT	3	7,69
Fréquences alléliques	C	55	70,51
	T	23	29,49

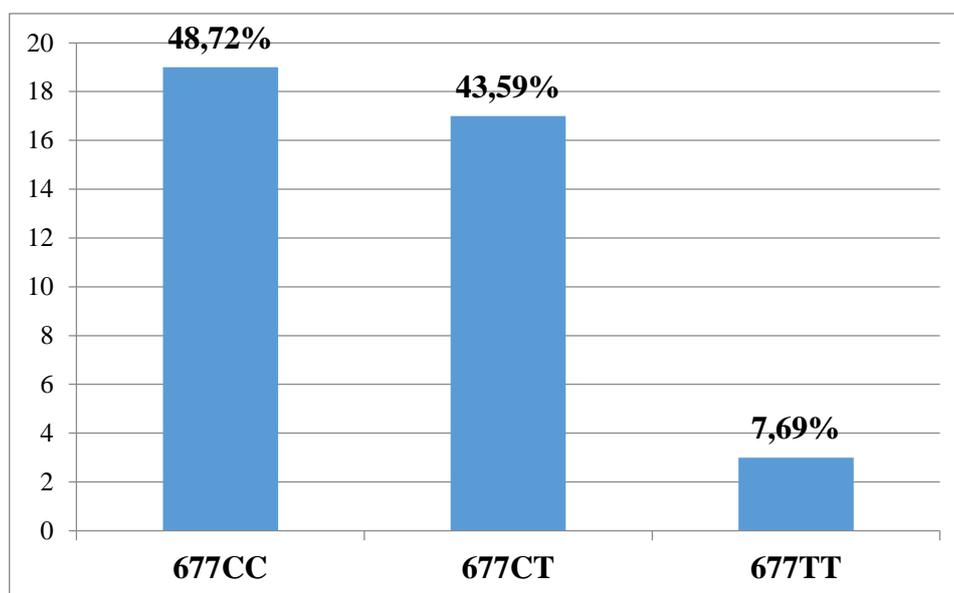


Figure 19 : Fréquences génotypiques du polymorphisme C677T de la *MTHFR*.

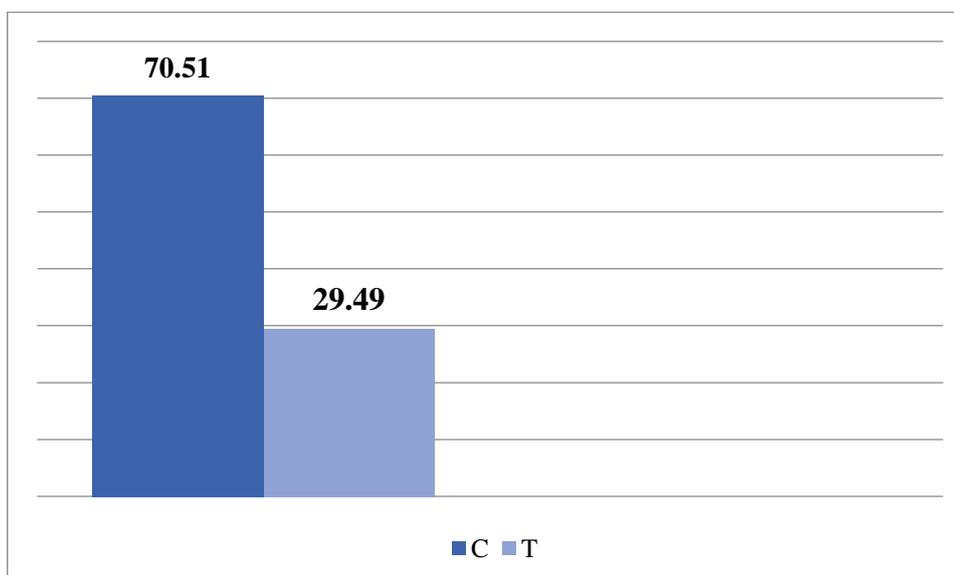


Figure 20 : Fréquences alléliques du polymorphisme C677T de la *MTHFR*.

La répartition des fréquences génotypiques du polymorphisme C677T du gène *MTHFR* dans notre population des enfants diabétiques de type 1 montre que le génotype

homozygote sauvage (CC) est le génotype prédominant avec une fréquence de 48,72 %. Le génotype hétérozygote (CT) constitue une fréquence de 43,59 % et le génotype homozygote muté (TT) constitue une fréquence de 7,69 %.

Nos résultats sont en accord avec l'étude menée par Lauszus et al (2001) qui ont constaté chez une population de diabétiques de type 1, une association entre le polymorphisme *MTHFR* et le diabète de type 1 avec des fréquences génotypiques similaires aux nôtres. Une fréquence de 52% d'hétérozygotes (CT) et une fréquence de 9% d'homozygotes muté (TT) a été rapportée par ces chercheurs.

À notre connaissance, il n'existe pas d'autres études sur l'association du polymorphisme C677T de la *MTHFR* et le diabète de type 1 à part celle de Lauszus et al (2001) et vu que la taille de notre échantillon est relativement réduite, nos résultats ne peuvent être concluants.

Conclusion et perspectives

Le diabète infantile est une pathologie chronique au retentissement lourd pour l'enfant et sa famille. Il reste la maladie endocrinienne la plus fréquente chez l'enfant. Plusieurs facteurs ont été incriminés dans l'éthiopathogénie du diabète : les facteurs environnementaux, les facteurs sociaux et les facteurs héréditaires.

Notre travail de recherche comportait deux volets ; une étude statistique et une étude moléculaire (génotypage du polymorphisme C677T de la *MTHFR*) réalisées sur une population d'enfants diabétiques (40 cas).

Nos résultats ont montré qu'il y a une prédominance du diabète de type 1 chez les enfants avec une prédominance féminine et que la tranche d'âge la plus touchée est celle de [5-10 [ans. Ainsi les résultats obtenus ont montré que le facteur héréditaire semble jouer un rôle indéniable dans la transmission du diabète de type 1 et que ce type est influencé également par des facteurs environnementaux, le non-respect de régime alimentaire, la présence de l'obésité et le stress chez l'enfant ainsi que la sédentarité.

Par ailleurs, l'exploration génotypique de polymorphisme C677T du gène *MTHFR* montre que le génotype homozygote normal et hétérozygote se trouvent à des fréquences similaires et que le génotype muté est très rare. Néanmoins, la taille de notre population est relativement limitée ce qui ne nous permet pas d'apporter des résultats formellement concluants.

En perspectives

À la lumière de ce travail nous proposons en perspectives de :

- élargir la taille de l'échantillon.
- de réaliser une étude cas témoins afin de pouvoir tirer des conclusions cohérentes sur l'association du polymorphisme C677T du gène *MTHFR* et le diabète infantile.
- étudier l'association d'autres gènes avec le diabète infantile.

Références bibliographiques

Adiza A. «Etude d'une recette traditionnelle, des écorces de tronc de *Sclerocarya birrea* hosch et de *Uapaca togoensis* pax utilisées dans le traitement du diabète», Thèse de doctorat en pharmacie, sous la direction de Drissa Diallo, Bamako, Faculté de Médecine et de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie (FMPOS), 2006, 37p.

Ahmed AM. Histoire du diabète. *Saudi Medical Journal*. 2002; 23 (4): 373-8.

Ali O. Genetics of type 2 diabetes. *World J Diabetes*. 2013. 4(4): 114–123.

American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 2010. 33(1): 62–69.

Amutha A, Mohan V. Diabetes complications in childhood and adolescent onset type 2 diabetes-a review. *J Diabetes Complications*. 2016. 30(5):951-7.

Andrea K, Marian J. Genetics of Type 1 Diabetes. Author manuscript. 2011. 57(2): 176–185.

Barat P, Lévy-Marchal C. Epidemiology of diabetes mellitus in childhood. *Archives de Pédiatrie* 20 Suppl 4:S110-6 ·2013.

Benharrat B, Habi F. « Profil épidémiologique du diabète type 1 chez l'enfant », Thèse de Doctorat en Médecine, sous la direction de Chefai, Bejaia, Université Abderrahmane Mira de Bejaia Faculté de Médecine Département de Médecine, 2017, 120p.

Bennani Z. « Les pseudokystes du pancréas Chez l'enfant », Thèse de doctorat en médecine, sous la direction d'Y BOUABDALLAH, Fès, Université SIDI MOUHAMED BEN ABDELLAH Faculté de médecine et de pharmacie Fès, 2015, 175p.

Betts P, Mulligan J, Ward P, Smith B, Wilkin T. Increasing body weight predicts the earlier onset of insulin-dependant diabetes in childhood: testing the 'accelerator hypothesis' (2). *Diabet Med*. 2005. 22(2):144-51.

Biason-Lauber A, Böni-Schnetzler M, Hubbard BP, Bouzakri K, Brunner A, Cavelti-Weder C, et al. Identification of a SIRT1 mutation in a family with type 1 diabetes. *Cell Metab*. 2013.17(3):311-2.

Botham MK, Anthony W, Rodwel VW, Kennelly P J, Bender DA. *Biochimie de Harper. Métabolisme des glucides*. 2017. Ed De Boeck Supérieur. 192.

Bouhouche I. « Étude comparative de l'alloxane et de la streptozocine dans le diabète expérimental chez le rat blanc. Etude histologique du pancréas endocrine et la variation des paramètres sanguins », Mémoire de magister en biologie Animale, sous la direction de A. Boudah, Constantine, Université Constantine 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. 2014, 13-14p.

Cano N, Barnoud D, Stéphane M, Schneider, Vasson MP, Michel. *Traité de nutrition artificielle de l'adulte. Insuline : de la production au mode d'action*. 2007. Ed Springer. 162.

Chahboub S, Makhlouf S. « Evaluation des facteurs de risque chez les diabétiques au niveau d'Ain Defela », diplôme de Master en Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie Filière : Biologie et agrosceience Spécialité : Régulations Endocriniennes et Physiopathologies, sous la direction de Menad Rafik et Chaouad Billel, Khemis Miliana, Université El Djilali Bounaama de Khemis Miliana. 2015. 19-20p.

Chettab O, Djamil S. « Diabète type 1 chez l'enfant et l'adolescent dans le plateau de Constantine. » Mémoire de master en biologie Cellulaire et Physiopathologie, sous la direction de F.Tebbani, Constantine, Université des Frères Mentouri Constantine, 2017, 17p.

Chevenne D, Fonfréde M. Actualité sur les marqueurs biologiques du Diabète. *Immunoanal. Biol. Spec.* 2001. 16(1) : 215-229.

Clement K, Hercberg S, Passenge B, Galan P, Varroud-Vial M, Shuldiner AR, et al. The Pro115Gln and Pro12Ala PPAR gamma gene mutations in obesity and type 2 diabetes. *International Journal of Obesity.* 2000. 24: 391-393.

Colette C, Monnier L. Diabétologie. Physiopathologie des états diabétiques. 2014. Ed Elsevier Masson.12-14.

Collart F. Insuffisance rénale, protéinurie et néphropathie diabétique. *Rev. Med. Brux.* 2003. 4(1) : 257-62.

Dean L, McEntyre J. The Genetic Landscape of Diabetes. *Introduction to Diabetes.* 2004. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US). 1.

Della Manna T, Setian N, Savoldelli RD, Guedes DR, Kuperman H, Menezes HCF, et al. Diabetes mellitus in childhood: an emerging condition in the 21st century. *Rev Assoc Med Bras.* 2016; 62(6):594-601.

Diamond Project Group. Incidence and trends of childhood type 1 diabetes worldwide 1990-1999. *Diabet Med* 2006. 23:857-66.

Fagbemi KA, Azonbakin S, Adjagba M, Baba-Moussa L, Laleye A. Aspects épidémiologiques du diabète de type 1 à la banque d'insuline de Cotonou (Bénin). *International Formulae Group.* 2017. 11(3): 1085-1095.

Frank H, Netter MD. Atlas d'anatomie humaine. Abdomen. Bourse omentale : coupe transversale. 2011. Ed elsevier masson. 265.

Galavi H, Noorzehi N, Saravani R, Sargazi S, Mollashahee-Kohkan F, Shahraki H, et al. Association study of SREBF-2 gene polymorphisms and the risk of type 2 diabetes in a sample of Iranian population. *Gene.* 2018. 1119(18): 30322-6.

Gosling JA, Harris PF, Whitmore I, Willan PLT. Anatomie humaine. Section 4 abdomen. Pancréas. 2003. Ed de boeck. 152.

Guo D, Li M, Zhang Y, Yang P, Eckenrode S, Hopkins D, et al. A functional variant of SUMO4, a new I kappa B alpha modifier, is associated with type 1 diabetes. *Nat Genet.* 2004. 36(9):1024.

Gurnell M. *Endocrinologie. Maladies et traitement.* 2009. De Boeck Supérieur. 144.

Habi MA. «Dosage de l'hémoglobine glyquée dans une population de Tlemcen : Étude transversale», Mémoire de master en biologie Option, sous la direction de Rahmoun Mohammed Nadjib, Tlemcen, Université Aboubekr Belkaid- Tlemcen, 2015, 23p.

Jarosz-Chobot P, Polanska J, Szadkowska A, Kretowski A, Bandurska-Stankiewicz E, Ciechanowska M et al . Rapid increase in the incidence of type 1 diabetes in Polish children from 1989 to 2004, and predictions for 2010 to 2025. *Diabetologia.* 2011. 54(3): 508-515.

Joshi SR, Parikh RM, Das AK. Insulin History, Biochemistry, Physiology and Pharmacology. SUPPLEMENT OF JAPI. 2007. 55 (20): 19-25.

Kamoun Abid H, Hmida S, Smaoui N, Kaabib H, Abida A, Chaabouni H, et al . Étude de l'association entre diabète type 1 et polymorphisme du gène CTLA-4 dans une population tunisienne Association between type 1 diabetes mellitus with cytotoxic T lymphocyte associated 4 (CTLA-4) in tunisian population. *Pathologie Biologie.* 2001. 49(10): 794-798.

Kierszenbaum LA. *Histologie et biologie cellulaire : Une introduction à l'anatomie pathologique. Les glandes endocrines. Les ilots de langerhans (pancréas endocrine). Histologie des ilots de langerhans.* 2002. Ed De Boeck Supérieur. 521.

Kovacs P, Hanson RL, Lee YH, Yang X, Kobes S, Permana PA et al. The role of insulin receptor substrate-1 gene (IRS1) in type 2 diabetes in Pima Indians. *Diabetes.* 2003. 52(12):3005-9.

Kziz S. « Les pseudokystes du pancréas Chez l'enfant », Thèse de Doctorat en médecine, sous la direction d' EE KAMILI, Agadir, Faculté de médecine et de pharmacie Marrakech, 2017, 134p.

Lamri L, Gripiotis E, Ferrario A. Diabetes in Algeria and challenges for health policy: a literature review of prevalence, cost, management and outcomes of diabetes and its complications. *Santé mondiale.* 2014 ; 10(1) : 11.

Lauszus FF, Grøn PL, Klebe JG. Association of polymorphism of methylenetetrahydrofolate-reductase with urinary albumin excretion rate in type 1 diabetes mellitus but not with preeclampsia, retinopathy, and preterm delivery. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2001. 80: 803–806.

Lemos NE, Dieter C , Dorfman LE, Assmann TS, Duarte GCK, Canani LH, et al . The rs2292239 polymorphism in ERBB3 gene is associated with risk for type 1 diabetes mellitus in a Brazilian population. *Gene.* 2017. 644: 122-128.

- Lüllmann-Rauch R.** Histologie. Pancréas. 2006. Ed Boeck Supérieur. 423
- Ménat E.** La diététique du diabète : prenez-vous en charge, évitez les erreurs. Comprendre le diabète. 2005. Alpen Editions s.a.m. 21-25.
- Mlata S.** «Description du diabète de type 1 dans une population de l'extrême ouest algérien.», Mémoire de master en Biologie et Santé, sous la direction de M. Dali Sahi, Telmcen, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen, 2013, 41p.
- Moller D, Kazda C, Cueille C.** Nouvelles voies thérapeutiques du diabète de type 2 ciblées sur le glucagon et son récepteur : Type 2 diabetes: New therapeutic approaches targeting glucagon and its receptor. Médecine des Maladies Métaboliques. 2011. 2(5): 146-153.
- Montout A.** Incidence du diabète sucré chez les enfants de moins de 15 ans 3 mois en Guadeloupe, de 2000 à 2014 : étude rétrospective observationnelle. HAL. 2016.
- Moussard C.** Biologie moléculaire. Biochimie des communications cellulaires. Les hormones pancréatique : l'insuline.2005. Ed De Boeck Supérieur. 199.
- Naylor R N, Greeley SAW, Bell GI, Philipson LH.** Génétique et physiopathologie du diabète sucré néonatal. J Diabetes Investig. 2011. 2 (3): 158-169.
- Niar S.** « Diabète de type 1 chez l'enfant et l'adolescent : Étude de recrutement de l'ouest algérien. », Thèse de doctorat en science médicale, sous la direction de G Boudraa, Oran, Université d'Oran faculté de médecine, 2014, 32p.
- Ohlson LO, Larsson B, Svärdsudd K, Welin L, Eriksson H, Wilhelmsen L, et al.** The influence of body fat distribution on the influence of diabetes mellitus: 13, 5 years of follow-up of the participants in the study of men born in 1913. Diabetes. 1985. 34(10) : 1055-1058.
- Overby NC, Margeirsdottir HD, Brunborg C, Andersen LF, Dahl-Jørgensen K.** The influence of dietary intake and meal pattern on blood glucose control in children and adolescents using intensive insulin treatment. Diabetologia. 2007. 50(10):2044-51.
- Patterson CC, Dahlquist GG, Gyürüs E, Green A, Soltész G, EURODIAB Study Group.** Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989-2003 and predicted new cases 2005-20: a multicentre prospective registration study. Lancet. 2009. 13; 373(9680):2027-3.
- Piffaretti C, Mandereau-Bruno L, Guilmin Crepon S, Choleau C, Coutant R, Fosse-Edorh S.** Incidence du diabète de type 1 chez l'enfant en France en 2013-2015, à partir du système national des données de santé (SNDS). Variations régionales. Bull Epidémiol Hebd. 2017. (27-28):571-8.
- Polychronakos C.** Du nouveau dans la génétique du diabète de type 2 What is new in the genetics of type 2 diabetes. Med Sci. 2008. 24(3) : 241-242.
- Popelier M.** Le diabète. 2006. Ed le cavalier bleu. 5.

Raccah D. Epidémiologie et physiopathologie des complications Dégénératives du diabète sucré. EMC-Endocrinologie. Elsevier SAS. 2004. 1: 29-42.

Ramachandran A. Know the signs and symptoms of diabetes. Indian J Med Res. 2014. 140(5): 579–581.

Raverot G. Diabète sucré de types 1 et 2 de l'enfant et de l'adulte. Hippocrate. Paris. Ongagna J.C., Sapin R. Diabète de type 1 et autoimmunité. *biotribune*. 2004; 9(1) :42-43.

Reinehr T. Type 2 diabetes mellitus in children and adolescents. World J Diabetes. 2013. 4(6): 270–281.

Schunke M, Schulte E, Schumacher U, Vol M, Wesker K. Atlas d'anatomie prométhée. Abdomen et plevis. Organes de l'appareil digestif : vascularisation et innervation. 2017. Ed debeok superieur. 253.

Silvestre Da Conceicao F. « Epidémiologie du diabète de type 1 de l'enfant en Limosin entre 1995 et 2009», Thèse de doctorat en médecine, sous la direction de Anne Lienhardt-Roussie, Limoges, Université de limoges faculté de médecine, 2010, 13-15p.

Stratton IM, Kohner EM, Aldington SJ, Turner RC. UKPDS 50: Risk factors for incidence and progression of retinopathy in type II diabetes over 6 Years from diagnosis: Diabetologia. 2000. 44(1):713-22.

The Diabetes Research in Children Network (DirecNet) Study Group. The effects of aerobic exercise on glucose and counterregulatory hormone concentrations in children with type 1 diabetes. Diabetes Care. 2006. 29(1):20–5.

Timóteo C, Castanhinha S, Sampaio L. Growth and puberty in type 1 diabetes mellitus - experience from a pediatric endocrinology unit. Acta Medica Portuguesa. 2012. 25(4): 213-218.

Toufiki R. « Diabète de l'enfant : difficultés de prise en charge (à propos de 85 cas) », Thèse de doctorat en médecine, sous la direction de M.Sbihi, Marrakech, Université Cady Ayyad. Faculté de médecine et de pharmacie, 2008, 01p.

Tsiouli E, Alexopoulos EC, Stefanaki C, Darviri C, Chrousos GP. Effets du stress familial lié au diabète sur le contrôle glycémique chez les jeunes diabétiques de type 1. Can Fam Physician. 2013. 59(2): 75–82.

Tuomilehto J, Lounamaa R, Tuomilehto-Wolf E, Reunanen A, Virtala E, Kaprio EA, et al. Epidemiology of childhood diabetes mellitus in Finland--background of a nationwide study of type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. The Childhood Diabetes in Finland (DiMe) Study Group. Diabetologia. 1992. 35(1):70-6.

Welter M, Volanski W, Alberton D, França SN, Picheth G, Moraes Rego FG. Polymorphism rs2476601 in the PTPN22 gene is associated with type 1 diabetes in children from the South Region of Brazil. Gene. 2018. 650: 15-18.

Références bibliographiques

Zaoui S, Biémont C, Meguenni K. Approche épidémiologique du diabète en milieux urbain et rural dans la région de Tlemcen (Ouest algérien). Researchgate. 2007. 17(1): 17.

Zhu B, Wu X, Zhi X, Liu L, Zheng Q, Sun G. Methylenetetrahydrofolate Reductase C677T Polymorphism and Type 2 Diabetes Mellitus in Chinese Population: A Meta-Analysis of 29 Case-Control Studies. PLoS One. 2014. 9(7): 102443.

Annexes

Annexe 2 : Extraction de l'ADN : (technique au NACL)

1- Préparation des leucocytes :

- Dans un tube Falcon de 50 ml, mettre le sang et compléter à 25 ml avec du TE20 :50.
- Laisser 10 min dans la glace.
- Centrifuger 10 min à 3900 g (3800rpm).
- Aspirer le surnageant avec la trompe à vide.
- Ajouter quelques ml de TE 20 :5 au culot et le remettre en suspension avec une pipette stérile.
- Compléter à 25 ml avec TE 20 :5 et laisser 10 min dans le glace.
- Centrifuger dans les mêmes conditions que la première fois.
- Aspire le surnageant avec la trompe à vide : obtention d'un culot des leucocytes (si ou vent s'arrêter à ce niveau mettre dans un tube nunc de 1,5 ml avec du TE 10 :1 et les conserver à -20° dans le frigo).

2- Extraction de l'ADN :

- Transvaser le culot de leucocyte dans un tube Falcon de 15ml.
- Ajouter 3ml de tampon de lyse (NACL 400mM ; EDTA 2mM ; Tris 10 mM ; Ph 8.2) en dilacérant le culot avec une pipette stérile.
- Ajouter 200 µl de SDS à 10%.
- Ajouter 100 µl des protéinases K à 10 mg/ml.
- Agiter le tube sur une roue à 37°C une nuit.
- Le lendemain, refroidir dans la glace.
- Ajouter 1 ml de NACL 4M et agiter vigoureusement à la main.
- Remettre 5 min dans la glace (précipitation des protéines).
- Centrifuger 15 min à 2500rpm.
- Transvaser le surnageant dans un tube Flacon de 15ml, ajouter 2 fois son volume d'éthanol absolu préalablement refroidi (environ 8ml) et agiter e retournant le tube plusieurs fois : le pelote d'ADN se forme.
- Laisser éventuellement 30 min à 20°C si la pelote ne se forme pas.
- Récupérer la pelote d'ADN avec une pipette Pasteur et la rincer 2 fois dans l'éthanol à 70%.
- Mettre la pelote dans un tube nunc.

3- Solubilisation :

- Ajouter entre 300 et 1000 µl d'eau distillée selon ka grosseur de pelote et la concentration souhaitée.
- Laisser une nuit sur agitateur rotateur à 37°C puis à température ambiante jusqu'à dissolution complète (1 à 2 jours).

Résumé

Le diabète infantile est une maladie chronique très répandue dans le monde, dont la prévalence est en nette augmentation. C'est l'un des problèmes de santé les plus courants chez les enfants.

Ce travail réalisé sur 40 enfants diabétiques (25 filles et 15 garçons) est divisé en deux parties : l'une consiste en une étude statistique qui a pour objectifs d'estimer la fréquence du diabète chez l'enfant dans une population de l'Est algérien, d'étudier les associations entre le diabète infantile et les caractéristiques sociodémographiques et les facteurs de risque ; et l'autre est une étude moléculaire qui a pour but de rechercher d'éventuelle relation entre le polymorphisme C677T de la *MTHFR* avec le diabète infantile qui a été assurée par une PCR-RFLP.

L'étude statistique indique que le diabète de type 1 est le plus fréquent chez l'enfant (100%), et que le sexe le prédominant c'est le sexe féminin (62,5%). L'âge le plus touché c'est entre 5 et 10 ans. Le facteur héréditaire (57,5%) peut jouer un rôle dans la transmission du diabète de type 1 et que : le non-respect du régime alimentaire, la présence de l'obésité, et le manque de l'activité physique peuvent être considérés comme étant des facteurs de risque.

L'analyse statistique des résultats préliminaires du génotypage moléculaire indique que le génotype homozygote normal et l'hétérozygote se trouvent à des fréquences similaires et que le génotype muté est très rare. Cependant, la taille de notre échantillon ne nous permet pas d'apporter des résultats formellement concluants.

Mots clés : diabète infantile, *MTHFR*, RFLP-PCR., facteurs de risque, polymorphisme C677T.

Summary

Childhood diabetes is a chronic disease that is widespread in the world, which the prevalence is in clear increasing. This is one of the most common health problems in children.

This work done on 40 diabetic children (25 girls and 15 boys) is divided into two parts: one is a statistical study that aims to estimate the frequency of diabetes in children in a population of the East in Algeria, to study the associations between childhood diabetes and socio-demographic characteristics and risk factors; and the other is a molecular study that aims to investigate the possible relationship between the C677T polymorphism of *MTHFR* and childhood diabetes that has been provided by PCR-RFLP.

The statistical study indicates that type 1 diabetes is the most common in children (100%), and that the predominant sex is female (62.5%). The most affected age is between 5 and 10 years old. The hereditary factor (57.5%) may play a role in the transmission of type 1 diabetes and that non-compliance with diet, presence of obesity, stress and lack of physical activity may be considered being risk factors.

Statistical analysis of preliminary molecular genotyping results indicates that the normal homozygote genotype and the heterozygote occur at similar frequencies and that the mutated genotype is very rare. However, the size of our sample does not allow us to provide conclusive results.

Key words: childhood diabetes, *MTHFR*, PCR -RFLP, Risk Factor, C677T polymorphism.

المخلص

السكري في مرحلة الطفولة هو مرض مزمن منتشر في العالم، ومدى انتشاره في تزايد ملحوظ، إنه واحد من مشاكل الصحة الأكثر شيوعاً لدى الأطفال.

هذا العمل المنجز على 40 طفلاً مصاباً بالسكري (25 فتاة و 15 فتى) ينقسم إلى قسمين: الأول هو دراسة إحصائية تهدف إلى تقدير تواتر مرض السكري لدى الأطفال في سكان الشرق الجزائري ، دراسة الارتباط بين داء السكري في مرحلة الطفولة والسمات الاجتماعية والديموغرافية وعوامل الخطر ؛ والأخرى هي دراسة جزيئية تهدف إلى البحث عن علاقة محتملة بين تعدد الأشكال C677T من *MTHFR* وسكري الأطفال الذي تم توفيره بواسطة PCR-RFLP.

تشير الدراسة الإحصائية إلى أن النوع الأول من داء السكري هو الأكثر شيوعاً بين الأطفال (100٪) ، وأن الجنس السائد هو الإناث (62.5٪). السن الأكثر تضرراً هو ما بين 5 و 10 سنوات من العمر. قد يلعب العامل الوراثي (57.5٪) دوراً في انتقال مرض السكري من النوع الأول ، كما أن عدم الالتزام بالنظام الغذائي ووجود السمنة والإجهاد وقلة النشاط البدني يمكن اعتبارها عوامل الخطر.

التحليل الإحصائي لنتائج الأولوية من التنميط الجيني الجزيئي يشير أن النمط الوراثي متماثل الأليلين و متباين الأليلين يوجدان في ترددات متشابهة وأن النمط الوراثي المتحور نادر جداً. مع ذلك حجم عينتنا لا يسمح لنا بتقديم نتائج حاسمة.

الكلمات المفتاحية: السكري لدى الأطفال ، *MTHFR* ، RFLP-PCR، عوامل الخطر ، C677Tتعدد الأشكال.

DIABÈTE INFANTILE : ÉTUDE STATISTIQUE ET MOLÉCULAIRE

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique Moléculaire.

Le diabète infantile est une maladie chronique très répandue dans le monde, dont la prévalence est en nette augmentation. C'est l'un des problèmes de santé les plus courants chez les enfants.

Ce travail réalisé sur 40 enfants diabétiques (25 filles et 15 garçons) est divisé en deux parties : l'une consiste en une étude statistique qui a pour objectifs d'estimer la fréquence du diabète chez l'enfant dans une population de l'Est algérien, d'étudier les associations entre le diabète infantile et les caractéristiques sociodémographiques et les facteurs de risque ; et l'autre est une étude moléculaire qui a pour but de rechercher d'éventuelle relation entre le polymorphisme C677T de la *MTHFR* avec le diabète infantile qui a été assurée par une PCR-RFLP.

L'étude statistique indique que le diabète de type 1 est le plus fréquent chez l'enfant (100%), et que le sexe le prédominant c'est le sexe féminin (62,5%). L'âge le plus touché c'est entre 5 et 10 ans. Le facteur héréditaire (57,5%) peut jouer un rôle dans la transmission du diabète de type 1 et que : le non-respect du régime alimentaire, la présence de l'obésité, et le manque de l'activité physique peuvent être considérés comme étant des facteurs de risque.

L'analyse statistique des résultats préliminaires du génotypage moléculaire indique que le génotype homozygote normal et l'hétérozygote se trouvent à des fréquences similaires et que le génotype muté est très rare. Cependant, la taille de notre échantillon ne nous permet pas d'apporter des résultats formellement concluants.

Mots clefs : diabète infantile, *MTHFR*, -PCR-RFLP, facteurs de risque, polymorphisme C677T.

Laboratoires de recherche :

Laboratoire de Biologie et Génétique Moléculaire du CHUC.

Laboratoire de Biologie Moléculaire (Université des Frères Mentouri, Constantine 1).

Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire (Université des Frères Mentouri, Constantine 1).

Date de soutenance : 01/07/2018

