



جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1  
Université des Frères Mentouri Constantine

كلية علوم الطبيعة والحياة  
Faculté des Sciences de la nature et de la Vie  
قسم: البيولوجيا التطبيقية  
Département : Biologie Appliquée

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master académique  
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Biotechnologie  
Spécialité : Biotechnologie et biothérapie

N° d'ordre :

N° de série :

*Intitulé*

## Recherche de biomarqueurs salivaires chez les enfants atteints de diabète insulino-dépendant (DT1)

Présenté et soutenu par : GACEM Hiba Malek Errahmene

BOUTOUIL Nada Sherifa

Le : 22/06/2025

BENHAMOUDA Cheyma

Jury d'évaluation :

Président : Dr. BENCHIHEUB Meriem  
Encadrant : Pr. BELLIL Inès  
Examineur : Dr. ADJEROUD Moussa

Année universitaire : 2024 – 2025

## **Remerciement**

*Grâce à ALLAH, nous avons pu réaliser ce mémoire, munis de la santé, de la volonté, de la force et de la patience nécessaires pour affronter les obstacles. Sincères remerciements à **PR. BELLIL INES** pour son encadrement précieux, qui a contribué de manière significative à la réalisation de ce mémoire. C'est avec une profonde reconnaissance que nous adressons nos remerciements à tous*

*les membres du jury, et plus particulièrement à Madame **BENCHIHEB M.** pour*

*avoir présidé le jury avec expertise, et à **MONSIEUR ADJEROUD M.** pour avoir accepté d'examiner ce mémoire avec rigueur. Notre gratitude à Monsieur **KACEM CHAUCHE** pour l'opportunité de poursuivre nos études de master en*

*biologie appliquée. L'excellence de l'enseignement et le soutien indéfectible de l'équipe dirigeante de notre département de biologie appliquée à l'université de Constantine 1 ont été des éléments déterminants dans notre parcours, et nous tenons à leur exprimer notre profonde gratitude. Nous saluons le dévouement et la passion de Madame **HALMI S.** responsable de la spécialité*

***BIOTECHNOLOGIE ET BIOTHERAPIE**, qui a su nous transmettre son savoir et nous inspirer dans notre choix de carrière.. Un grand merci à toute l'équipe de l'hôpital de pédiatrie pour leur esprit d'équipe pour leur aide précieuse et leur générosité en partageant leurs connaissances et leur temps avec nous. Le professionnalisme, la rigueur et la bienveillance dont vous avez tous fait preuve ont été une source d'inspiration et de motivation inestimables. Nous sommes infiniment reconnaissants de votre soutien indéfectible et de votre confiance.*

*Finalement ce travail n'aurait pas pu être réalisé sans le soutien et l'implication*

*de toutes les personnes qui y ont participé, et nous tenons à les remercier chaleureusement pour leur précieuse contribution. Merci*

## *Dédicaces*

*À la mémoire de mon père « Amar » :*

*parti trop tôt mais toujours vivant dans mon cœur. Tu n'es plus là physiquement, mais ton souvenir m'accompagne chaque jour. Tes valeurs, ta sagesse et ton regard bienveillant m'inspirent encore. Ce travail est aussi un hommage à ce que tu m'as transmis.*

*A Mon très chers mère « Yamina » :*

*pilier inébranlable de ma vie, dont l'amour, la tendresse et la patience m'ont toujours portée dans les moments les plus difficiles. Ta force silencieuse et ton soutien constant ont été ma boussole. Rien de tout cela n'aurait été possible sans toi.*

*A ma sœur « Jihane »*

*merci pour sa présence constante, ses encouragements, ses mots rassurants et sa foi en moi. Merci d'avoir cru en mes capacités même quand moi je doutais.*

*A mes sœurs*

*Merci pour leur affection, leur bienveillance et leur soutien discret mais essentiel. Vous avez toujours été là, à votre manière, et cela m'a donné la force d'avancer.*

*je vous souhaite une vie prospère pleine de succès et de bonheur.  
Pour mes très chers amis : « khouloud ,marwa ,Randa ,Hiba ,Nada,  
Minna ,sihem »*

*Un grand merci pour votre amitié. Je vous remercie sincèrement pour les jours de joie, les moments de déception et les instants de bonheur partagé.*

*A mes camarades de projet « Nada et Hiba »*

*Travailler avec vous a été un réel privilège. Merci pour votre collaboration, votre sérieux, votre patience et l'esprit d'équipe que vous avez su entretenir tout au long de cette aventure. Ce travail est aussi le fruit de nos efforts conjoints, de nos échanges, de nos remises en question, et de notre détermination partagée.*

*Cheyema*

## *Dédicaces*

*À ceux qui, de près ou de loin, ont nourri mon courage, ce mémoire est  
pour vous.*

*À ma précieuse maman **Ridab**,  
Toi qui as été mon refuge, ma lumière et ma force dans les moments  
les plus sombres.*

*Ton amour, ta patience et tes sacrifices silencieux m'ont portée  
jusqu'ici.*

*Merci pour tes prières, ton regard fier . Cette réussite, je te la dois*

*À mon père **Noureddine** ,  
Même dans le silence, même dans la distance, ton existence compte.  
Ce chemin, je l'ai parcouru aussi avec toi dans un coin de mon cœur.*

*À ma sœur **Anfel** et à mon frère **Imed**,  
Vos rires, vos mots, votre présence... ont été mon équilibre, vous êtes  
une partie de mon âme.*

*À ma famille maternelle, la famille **Bouhidel** un merci particulier à  
**mama Nacira**, **Houda** et **Youssra** pour leur tendresse et leur soutien,  
et à toute la famille **Gacem** particulièrement ma chère cousine  
**Maroua**.*

*À ma précieuse amie **Nihel** , merci pour ta présence douce et sincère.*

*À mes amies **Nada**, **Cheyma**, **Randa** et **Taouba**, merci pour les bons  
moments partagés tout au long de ce parcours.*

*À celui que j'ai porté dans mes prières, même de loin.  
Ce mémoire est un murmure de gratitude et de souvenir... merci.*

*Et à moi-même,  
Pour toutes les fois où j'ai voulu abandonner mais j'ai tenu bon.  
Pour chaque nuit de doute, chaque larme cachée, chaque espoir  
ravivé.*

***Hiba***

## *Dédicaces*

*Je dédie ce mémoire à toutes les personnes qui m'ont entourée, soutenue et aimée tout au long de ce parcours. Ce travail est le fruit d'un effort personnel, mais aussi d'un entourage qui n'a jamais cessé de croire en moi.*

*À ma mère **Mounira**,*

*Mon pilier, ma source inépuisable d'amour et de courage. Merci pour tes sacrifices, ta sagesse, ton affection constante et ton soutien indéfectible. Ton regard fier est ma plus belle récompense.*

*À mon frère **Ilyes**,*

*Merci pour ta présence rassurante, tes mots simples mais pleins de sens, et ton soutien discret mais toujours là. Ta manière d'être m'inspire plus que tu ne l'imagines.*

*À ma sœur **Noor**,*

*Ma confidente, ma complice. Merci pour ta tendresse, ton humour, et ton énergie positive qui m'ont portée dans les moments de fatigue et de découragement.*

*À mes amies précieuses : **Islem, Randa, Manou, Heeba et Cheyma**,*

*Vous avez été des sœurs de cœur tout au long de cette aventure. Merci pour vos encouragements constants, vos éclats de rire partagés, vos conseils, vos messages, et tout ce que vous êtes. Votre amitié est un trésor.*

*À mon chat **Spicy**,*

*Petit être à quatre pattes, doux et calme, qui a su me reconforter à sa manière. Merci d'avoir été là dans les moments de solitude, juste en ronronnant à mes côtés.*

*Et enfin,*

*À moi-même,*

*Pour ma persévérance, mes nuits blanches, mes efforts silencieux. Pour avoir affronté le doute, la peur et la fatigue. Pour ne pas avoir abandonné. Je me rends hommage aujourd'hui, car ce mémoire est aussi une victoire sur moi-même.*

***Nada***

## Table de matière

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Introduction.....1**

**Chapitre 1 :Synthèse bibliographique.....2**

**I.Le diabète.....3**

1. Définition générale.....3

2. Classification des types de diabète .....3

2.1 Diabète de type 1 (DT1) .....3

**2.1.1 Diabète de type 1a – Auto-immun .....3**

**2.1.2 Diabète de type 1b – Idiopathique.....4**

2.3 Diabète gestationnel (DG) : .....4

2.4 Autre type de diabète : .....5

**3. Physiopathologie du diabète de type 1 .....5**

4.1 Facteurs génétiques .....6

4.2 Facteurs environnementaux et comportementaux .....7

4.3 L'obésité .....7

4.5 Infections virales .....8

4.6 Stress .....8

**II.La salive .....8**

**1.Définition .....8**

**2. Caractéristiques biochimiques et physiques de la salive.....8**

2.1. Composition biochimique de la salive .....8

2.1.1. Composés inorganiques .....9

2.1.2. Composés organiques .....9

2.2. Caractéristiques physiques de la salive ..... 10

•Le PH 10

•La viscosité.....10

<b>3. Potentiel diagnostique de la Salive : corrélations avec les fluides sanguins et avantages cliniques.....</b>	<b>11</b>
3.1. Corrélation avec le sang.....	11
<b>3.2. Avantages d'utilisation de la salive en diagnostic .....</b>	<b>11</b>
<b>4. la Salive comme biomarqueur pour le Diagnostic du DT1.....</b>	<b>11</b>
<b>III.Les biomarqueurs.....</b>	<b>12</b>
<b>1.Définition d'un biomarqueur : .....</b>	<b>12</b>
<b>2. Les différents type des biomarqueurs.....</b>	<b>12</b>
2.1.Biomarqueurs de diagnostic.....	12
2.2.Biomarqueurs pronostiques .....	12
2.3.Biomarqueurs de suivi .....	13
<b>3. Biomarqueurs salivaires pertinents dans le diabète .....</b>	<b>13</b>
3.1 Alpha amylase.....	13
3.2 Immunoglobuline A (IgA) .....	14
3.3 Cytokines (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) .....	15
3.4 Glucose salivaire .....	15
<b>4. Relation entre le diabète de type 1, la salive et les biomarqueurs.....</b>	<b>16</b>
4.1. Reflet de l'état systémique.....	16
4.2. Altérations des glandes salivaires induites par le diabète .....	16
4.3. Inflammation systémique et stress oxydatif.....	16
4.4.Réponse immunitaire locale et systémique.....	17
4.5. Manifestations bucco-dentaires associées au DT1 .....	17
<b>Chapitre 2 : Matériel et méthodes.....</b>	<b>18</b>
<b>I.Matériel biologique.....</b>	<b>19</b>
<b>1.Recrutement des patients .....</b>	<b>19</b>
<b>2.Recueil de la salive .....</b>	<b>20</b>
<b>II.Technique d'électrophorèse .....</b>	<b>20</b>
<b>1. Extraction des protéines .....</b>	<b>20</b>
<b>III. Analyse des gels et étude statistique .....</b>	<b>21</b>
<b>1. Analyse des gels .....</b>	<b>21</b>
<b>2. Analyse statistique : .....</b>	<b>21</b>
<b>Chapitre 3 :Résultats et discussion.....</b>	<b>22</b>
<b>1.Etude épidémiologique .....</b>	<b>22</b>
1.1 Répartition des patients selon le sexe .....	22

1.2 Répartition des patients selon l'hérédité .....	22
1.3 Répartition des patients selon l'âge .....	23
<b>2. Fractionnement des protéines et recherche de biomarqueurs .....</b>	<b>24</b>
2.1. Analyse des profils électrophorétiques .....	24
1.1.1 Analyse des protéines salivaires dénaturées et réduites fractionnées par SDS-PAGE .....	24
<b>3. Etude de la variabilité des protéines salivaires .....</b>	<b>26</b>
3.1. Etude des protéines salivaires de HPM .....	26
3.2. Étude des protéines salivaires de FPM .....	28
4. Etablissement des diagrammes types .....	29
<b>5. Dendrogramme des protéines salivaires dénaturées et réduites. ....</b>	<b>31</b>
<b>6. Indice de similarité des protéines salivaires dénaturées et réduites .....</b>	<b>32</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>35</b>
<b>Résumé .....</b>	<b>37</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>38</b>
<b>الملخص.....</b>	<b>38</b>
<b>Annexe .....</b>	<b>46</b>



## Liste des abréviations

**ACD** : Acidocétose diabétique

**DG** : Diabète gestationnel

**DT1** : Diabète de type 1

**DT2** : Diabète de type 2

**GAD** : Glutamate décarboxylase (anticorps anti-GAD)

**HDL** : High-Density Lipoprotein (lipoprotéines de haute densité, “bon cholestérol”)

**HLA** : Human Leukocyte Antigen

**IA-2 / IA-2 $\beta$**  : Anticorps anti-tyrosine phosphatase des cellules bêta

**ICA** : Anticorps anti-îlots (Islet Cell Antibodies)

**IAA** : Autoanticorps anti-insuline (Insulin AutoAntibodies)

**IFN $\gamma$**  : Interféron gamma

**IL-1** : Interleukine 1

**LADA** : Latent Autoimmune Diabetes in Adults

**NO** : Monoxyde d’azote (Nitric Oxide)

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**SNP** : Single Nucleotide Polymorphism (polymorphisme nucléotidique simple)

**TNF $\alpha$**  : Tumor Necrosis Factor alpha

**VLDL** : Very Low-Density Lipoproteins (lipoprotéines de très basse densité)

**ZnT8** : Zinc Transporter 8 (transporteur de zinc, cible d’autoanticorps)

**IgA** : Immunoglobuline A

**IgG** : Immunoglobuline G

**IgM** : Immunoglobuline M

**NIH** : National Institutes of Health

**PSA** : Prostate Specific *Antigen* (Antigène prostatique spécifique)

**HbA1c** : Hémoglobine glyquée

**ELISA** : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

**IL-6** : Interleukine 6

**IL-1 $\beta$**  : Interleukine 1 bêta

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Histoire naturelle du diabète de type 1.....	<b>21</b>
<b>Figure 2 :</b> répartition des sujets selon le sexe.....	<b>38</b>
<b>Figure 3 :</b> répartition des sujets selon l'âge.....	<b>39</b>
<b>Figure 4 :</b> Profils électrophorétiques des protéines salivaires dans les conditions dénaturantes et réductrices révélées par SDS/PAGE.....	<b>42</b>
<b>Figure 5 :</b> Dendrogramme des 18 échantillons en condition dénaturante et réductrice.....	<b>47</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Isoformes principales de l' $\alpha$ -amylase salivaire chez l'homme avec leur poids moléculaire approximatif et ces fonctions.....	<b>15</b>
<b>Tableau 2 :</b> répartition des patients.....	<b>20</b>
<b>Tableau 3 :</b> Répartition des sujets selon l'hérédité .....	<b>25</b>
<b>Tableau 4 :</b> Variabilité des protéines salivaires de HPM .....	<b>28</b>
<b>Tableau 5 :</b> Variabilité des protéines salivaires de FPM .....	<b>29</b>
<b>Tableau 6 :</b> Matrice des protéines salivaires dans des conditions dénaturantes et réductrice...	<b>31</b>
<b>Tableau 7 :</b> Indice de similarité des protéines salivaires dénaturées et réduites.....	<b>34</b>

# ***Introduction***

### Introduction

Le diabète de type 1 (DT1) représente une maladie auto-immune chronique marquée par une destruction sélective des cellules  $\beta$  pancréatiques, entraînant une carence absolue en insuline. Cette pathologie touche principalement les enfants et les adolescents, et constitue un défi majeur en santé publique, notamment en raison de son apparition précoce, de son évolution imprévisible et des complications métaboliques qui en découlent (Gale, 2002). Traditionnellement, le diagnostic et le suivi du DT1 reposent sur des prélèvements sanguins, méthodes invasives peu adaptées aux populations pédiatriques (Craig et al., 2009).

Dans ce contexte, la recherche de biomarqueurs non invasifs s'avère essentielle afin d'améliorer les stratégies de diagnostic, de pronostic et de suivi thérapeutique. La salive, fluide biologique complexe et facilement accessible, suscite un intérêt croissant en tant que source alternative de biomarqueurs. Sa composition, riche en protéines, enzymes, immunoglobulines et cytokines, reflète à la fois l'état local et systémique de l'organisme, et permet d'envisager son utilisation dans le cadre du suivi du DT1 (Steigmann et al., 2022).

Ce mémoire s'inscrit dans cette dynamique innovante en explorant le potentiel diagnostique de la salive chez les enfants atteints de diabète de type 1. À travers une synthèse bibliographique approfondie, suivie d'une étude expérimentale comparative portant sur l'analyse électrophorétique des profils protéiques salivaires de patients diabétiques et de témoins sains, ce travail vise à identifier des biomarqueurs salivaires pertinents et spécifiques au DT1. L'objectif est de démontrer la faisabilité et l'intérêt de l'utilisation de la salive comme outil de diagnostic non invasif et complémentaire dans la prise en charge du diabète pédiatrique.

Le mémoire est structuré en deux grandes parties. La première partie théorique comporte trois chapitres : le premier présente les aspects généraux du diabète de type 1, le second décrit les caractéristiques biologiques de la salive, et le troisième est consacré aux biomarqueurs salivaires en lien avec le diabète. La deuxième partie est expérimentale : elle expose la méthodologie adoptée pour la collecte et l'analyse des échantillons salivaires, présente les résultats obtenus, suivis d'une discussion, avant de conclure ce travail par une synthèse des principales observations et des perspectives futures.

# *Synthèse bibliographique*

## I. Le diabète

### 1. Définition générale

Le diabète sucré est une pathologie chronique métabolique caractérisée par une hyperglycémie persistante, c'est-à-dire une élévation anormale de la concentration de glucose dans le sang. Cette condition résulte d'un déséquilibre entre les besoins de l'organisme en insuline et la capacité du pancréas à en produire et/ou à en assurer l'efficacité. L'insuline, hormone sécrétée par les cellules bêta des îlots de Langerhans du pancréas, joue un rôle central dans la régulation de la glycémie en favorisant l'absorption du glucose par les cellules. Lorsque cette régulation est perturbée, des complications aiguës ou chroniques peuvent survenir. Parmi ces complications, les maladies cardiovasculaires occupent une place prépondérante, contribuant significativement à la morbidité et à la mortalité des patients diabétiques. D'autres conséquences graves incluent les atteintes rénales, ophtalmologiques, neurologiques et vasculaires périphériques. L'évolution du diabète est influencée par des facteurs génétiques, épigénétiques, environnementaux et métaboliques, rendant sa physiopathologie particulièrement complexe (Hartemann et Grimaldi, 2024).

### 2. Classification des types de diabète

L'Organisation Mondiale de la Santé distingue plusieurs types de diabète en fonction des mécanismes physiopathologiques sous-jacents. Les trois formes principales sont le diabète de type 1 (DT1), le diabète de type 2 (DT2) et le diabète gestationnel (DG).

#### 2.1 Diabète de type 1 (DT1)

Le diabète de type 1 est principalement dû à une destruction irréversible des cellules bêta du pancréas, responsable d'une carence absolue en insuline, pouvant évoluer vers une acidocétose diabétique. Il se divise en deux sous-types distincts :

##### 2.1.1 Diabète de type 1a – Auto-immun

Ce sous-type résulte d'un processus auto-immun, caractérisé par la présence d'auto-anticorps dirigés contre les cellules bêta pancréatiques. Parmi les plus fréquemment détectés figurent les anticorps anti-glutamate décarboxylase (anti-GAD), présents dans environ 80 % des cas, ainsi que les anticorps anti-îlots, anti-insuline et anti-tyrosine phosphatase (IA-2 et IA-2 $\beta$ ).

Ce type de diabète est fortement associé aux gènes HLA de classe II, notamment les allèles DQA, DQB, et influencé par les allèles DRB. La destruction des cellules bêta peut être rapide, en particulier chez l'enfant et l'adolescent, ou plus lente à l'âge adulte, dans ce cas on parle de diabète auto-immun latent de l'adulte (LADA).

Le diabète de type 1a est fréquemment associé à d'autres maladies auto-immunes, telles que la thyroïdite de Hashimoto, la maladie de Basedow, la maladie cœliaque, la maladie d'Addison et la maladie de Biermer (Dulac et al., 2018).

### **2.1.2 Diabète de type 1b – Idiopathique**

Ce sous-type concerne une minorité de patients, et se rencontre plus fréquemment dans les populations d'origine africaine ou asiatique. Il se caractérise par une insulino-pénie permanente accompagnée d'acidocétose, sans preuve d'un mécanisme auto-immun.

Le diabète de type 1b présente des besoins en insuline souvent fluctuants, rendant sa prise en charge plus complexe. L'étiologie de ce sous-type reste inconnue (Darou et al., 2023).

### **2.2 Diabète de type 2 (DT2)**

Le diabète de type 2 est la forme la plus fréquente, représentant près de 90 % des cas diagnostiqués. Il résulte d'un double mécanisme : une résistance à l'action de l'insuline au niveau des tissus périphériques (muscle, foie, tissu adipeux) et une déficience progressive de la sécrétion insulinaire par les cellules bêta. L'obésité, l'âge avancé, la sédentarité et une alimentation déséquilibrée sont les principaux facteurs de risque. La perte de fonction des cellules bêta est aggravée par des processus tels que l'apoptose, la différenciation cellulaire, le stress oxydatif, le stress du réticulum endoplasmique et des altérations épigénétiques. Une inflammation chronique de bas grade, souvent induite par un excès d'acides gras et de cytokines pro-inflammatoires, participe également au développement de l'insulino-résistance. De plus, des perturbations du microbiote intestinal ont été mises en évidence chez les patients atteints de DT2, suggérant un rôle potentiel dans la pathogenèse de cette forme de diabète (Marashi, 2019).

### **2.3 Diabète gestationnel (DG) :**

Le diabète gestationnel se définit comme une intolérance au glucose apparaissant ou diagnostiquée pour la première fois pendant la grossesse, généralement au cours du deuxième trimestre. Il résulte de l'incapacité du pancréas maternel à répondre à l'augmentation physiologique de l'insulino-résistance induite par les hormones placentaires. Bien que cette forme de diabète soit transitoire, elle expose la mère à un risque multiplié par sept de développer un diabète de type 2 ultérieurement. Le DG est également associé à un risque accru de complications obstétricales telles que la macrosomie fœtale, la prééclampsie et l'accouchement prématuré. Des études suggèrent que le DG partage des déterminants génétiques avec le DT2, notamment certains SNP impliqués dans la sécrétion d'insuline. Par ailleurs, les perturbations



du microbiote intestinal et placentaire chez les femmes atteintes de DG sont des éléments de plus en plus considérés dans la compréhension de sa physiopathologie (Tenenbaum et al., 2018).

## 2.4 Autre type de diabète :

D'autres formes spécifiques de diabète peuvent résulter d'un défaut génétique affectant la sécrétion d'insuline, d'une atteinte du pancréas exocrine, ou encore de la prise de certains médicaments (Grimaldi A et al., 2002)

## 3. Physiopathologie du diabète de type 1

Le diabète de type 1 résulte d'un processus auto-immun ciblant les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans, responsables de la sécrétion d'insuline dans le pancréas. Ce processus entraîne une carence en insuline qui se manifeste qu'après la destruction de 80 à 90 % de ces cellules. Les îlots pancréatiques sont alors infiltrés par des cellules mononucléées, phénomène appelé insulite. Ces infiltrats sont principalement constitués de lymphocytes T CD8, mais contiennent également des lymphocytes T CD4, des lymphocytes B et des macrophages (Bouhours-Nouet, Coutant, 2005).

La réponse auto-immune débute plusieurs années avant l'apparition des premiers signes cliniques — généralement entre 5 et 10 ans, voire plus. L'autoantigène initial qui déclenche cette réponse reste incertain chez l'humain. Toutefois, il est capté par les cellules présentatrices d'antigène (comme les cellules dendritiques, macrophages et lymphocytes B), puis dégradé en peptides antigéniques présentés aux lymphocytes T CD4. Cette reconnaissance antigénique constitue une étape clé dans l'activation du système immunitaire.

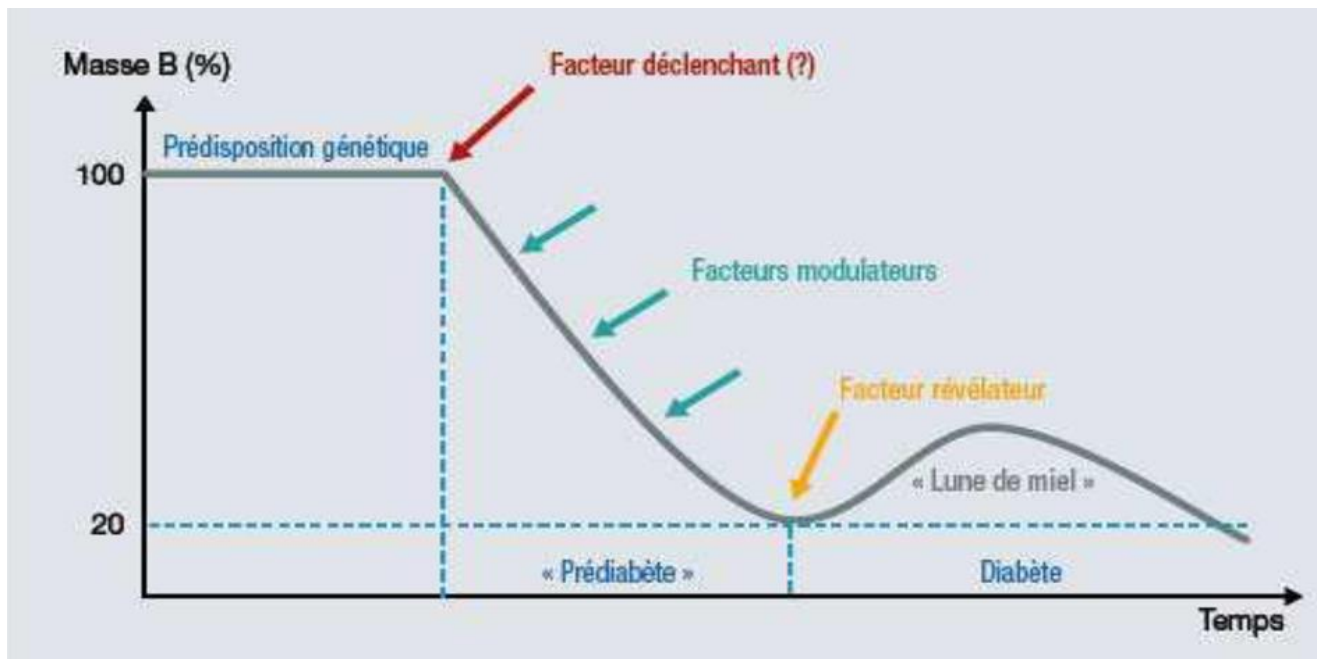
Les lymphocytes T CD4, une fois activés, stimulent une réponse immunitaire cellulaire en recrutant des macrophages et en activant les lymphocytes T CD8 cytotoxiques. Ces derniers induisent l'apoptose des cellules  $\beta$  via la sécrétion de perforine et de granzyme. Par ailleurs, des cytokines pro-inflammatoires — telles que l'interleukine 1 (IL-1), le TNF $\alpha$  et l'interféron gamma (IFN $\gamma$ ) — produites localement par les lymphocytes T CD8 et les macrophages, contribuent également à la destruction des cellules  $\beta$  en générant des radicaux libres et de l'oxyde nitrique (NO).

Les lymphocytes T CD4 peuvent aussi activer les lymphocytes B, qui produisent alors des autoanticorps. Bien que ces autoanticorps n'aient pas d'effet cytotoxique direct, ils amplifient la réponse auto-immune en facilitant la présentation antigénique (Dubois-Laforgue, 2007).

La progression de la maladie se divise en trois phases (Figure 1) :

- **La phase de latence**, marquée par une prédisposition génétique.

- **La phase préclinique silencieuse**, caractérisée par une activation immunitaire dirigée contre les cellules des îlots pancréatiques, durant laquelle les autoanticorps deviennent détectables.
- **La phase clinique**, définie par l'apparition de l'hyperglycémie, sous l'influence de facteurs environnementaux (Dubois-Laforgue, 2010).



**Figure 1** : Histoire naturelle du diabète de type 1 (Dubois-laforgue , 2010).

#### 4. Les facteurs révélateurs de la maladie

Le développement du diabète de type 1 chez l'enfant résulte de l'interaction complexe entre des facteurs génétiques et environnementaux. Plusieurs éléments ont été impliqués dans la genèse de cette pathologie auto-immune.

##### 4.1 Facteurs génétiques

Les déterminants génétiques contribuent à environ un tiers de la susceptibilité au diabète de type 1, dont la transmission est de nature polygénique (Grimaldi, 2000). À ce jour, plus de 20 régions génomiques ont été associées à un risque accru de développer la maladie. Parmi les plus importantes, on retrouve :

- La région **HLA** (Human LeukocyteAntigen) située sur le **chromosome 6p21**, Fortement impliquée dans la présentation des antigènes au système immunitaire.
- Le **gène de l'insuline**, localisé sur le **chromosome 11p15**, désormais désigné sous l'appellation **IDDM2** (Insulin-DependentDiabetesMellitus 2).

L'association entre certains allèles HLA et le diabète varie selon les populations (Arfa et al., 2008). L'insuline ou ses précurseurs peuvent jouer le rôle d'auto-antigènes au niveau des cellules  $\beta$  pancréatiques, influençant ainsi l'activité de ces cellules et l'expression d'autres auto-antigènes.

Le risque relatif de développer la maladie est multiplié par 3 à 5 en présence d'un allèle HLA DR3 ou DR4, et atteint 20 à 40 en cas de présence simultanée des deux. Chez les frères et sœurs d'un enfant diabétique, le risque est estimé à :

- 15 % s'ils partagent les deux haplotypes HLA avec l'enfant atteint,
- 7 % s'ils n'en partagent qu'un seul,
- Moins de 1 % en l'absence de haplotypes communs.

Chez les jumeaux monozygotes, le risque est d'environ 36 %, contre 4 % à 20 ans et 9,6 % à 60 ans pour les autres membres de la fratrie, comparé à 0,5 % dans la population générale. Le risque augmente si le diabète est diagnostiqué à un jeune âge.

Enfin, on observe que le risque est plus élevé chez les enfants dont le père est diabétique de type 1 (entre 3,6 % et 8,5 %) par rapport à ceux dont la mère est atteinte (entre 1,3 % et 3,6 %), avec une transmission plus fréquente de père à fille, surtout chez les enfants âgés de 0 à 4 ans (Claire, Madeleine, 2007).

## **4.2 Facteurs environnementaux et comportementaux**

En parallèle des facteurs génétiques, certains éléments liés à l'environnement et au mode de vie jouent un rôle important dans le développement du diabète, comme l'ont démontré diverses études menées sur les populations migrantes. Contrairement aux prédispositions génétiques, ces facteurs pourraient faire l'objet d'interventions préventives, notamment en lien avec le diabète de type 2 (Marashi, 2019).

### **4.3 L'obésité**

L'obésité est définie comme une accumulation anormale ou excessive de graisse corporelle, susceptible de nuire à la santé (OMS, 2016). L'obésité abdominale, en particulier, est associée à une hyperinsulinisme, une insulino-résistance, ainsi qu'à des perturbations du métabolisme glucidique pouvant conduire au diabète de type 2. Elle s'accompagne souvent d'une élévation des VLDL-triglycérides et d'une diminution du HDL-cholestérol.

### **4.4. Alimentation**

Certains comportements alimentaires augmentent le risque de diabète. Les facteurs les plus fréquemment incriminés sont :

- Une consommation élevée d'acides gras saturés,
- La consommation régulière d'aliments à index glycémique élevé,

- Une faible consommation de produits céréaliers complets (Steyn et al., 2004).

Bien qu'il soit intuitif de relier l'alimentation au diabète par le biais de son impact sur l'obésité, des travaux ont montré que l'alimentation pourrait influencer directement le développement du diabète par l'intermédiaire de médiateurs inflammatoires (Meneton, 2006).

#### **4.5 Infections virales**

Le rôle potentiel des infections virales dans la genèse du diabète de type 1 a été suggéré par plusieurs études ayant mis en évidence la présence de particules virales ou de signatures auto-immunes au sein des cellules  $\beta$  pancréatiques (Dubois & Tsimsit, 2000 ; Boudera, 2008). Bien que ce lien reste à démontrer de manière formelle, l'apparition du diabète insulino-dépendant (DID) chez l'enfant est fréquemment observée après certaines infections virales. Les virus les plus fréquemment impliqués sont les entérovirus, en particulier le Cocksackievirus B (CVB), mais également les virus responsables des oreillons, de la rubéole, du cytomégalovirus, du parvovirus B19, des rotavirus, et du virus d'Epstein-Barr (Wu et al., 2013). La détection fréquente d'anticorps anti-Cocksackie, notamment de type B4, chez les enfants présentant un diabète récemment diagnostiqué soutient cette hypothèse (Stuart et al., 2008).

#### **4.6 Stress**

Le stress psychologique ou physique intense pourrait jouer un rôle déclencheur ou accélérateur du diabète de type 1. Il agit notamment en stimulant la libération d'hormones hyperglycémiantes (comme le cortisol et l'adrénaline), et pourrait également influencer l'activité du système immunitaire, en favorisant une dérégulation de la tolérance immunitaire (Violettes et al., 2006).

## **II. La salive**

### **1. Définition**

La salive, un fluide biologique sécrété par les glandes salivaires, joue un rôle fondamental dans le processus de digestion dès la phase initiale du traitement alimentaire, elle est impliquée à la fois dans mécanismes physiques et biochimique liée à la formation du bol alimentaire (Brignot et Feron, 2021).

### **2. Caractéristiques biochimiques et physiques de la salive**

#### **2.1. Composition biochimique de la salive**

La salive est une substance complexe composée principalement d'eau (99 %) ainsi que de différentes molécules organiques et inorganiques. Ces composants travaillent ensemble pour

jouer un rôle crucial dans l'équilibre de la cavité buccale, en contribuant à la protection, à l'hydratation et aux mécanismes de défense immunitaire (Humphrey et Williamson, 2001).

### **2.1.1. Composés inorganiques**

Les constituants inorganiques de la salive comprennent des gaz dissous tels que dioxyde de carbone (20 à 30 % du volume salivaire au repos) et le dioxygène (environ 0,2 %). On y retrouve également divers ions minéraux, notamment  $H^+$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Cl^-$ ,  $PO_4^{3-}$ ,  $HCO_3^-$ ,  $SCN^-$ ,  $I^-$ ,  $F^-$ ,  $Cu^{2+}$  et  $Fe^{2+}/Fe^{3+}$  (Brignot et Feron, 2021).

### **2.1.2. Composés organiques**

Les composants organiques de la salive sont majoritairement constitués de protéines, réparties en deux grandes catégories : les protéines extrinsèques, provenant du sérum, et les protéines intrinsèques, synthétisées directement par les glandes salivaires (Dany, 2012).

#### **2.1.2.1. Les protéines extrinsèques**

Les protéines extrinsèques salivaires proviennent majoritairement du fluide gingival crévulaire, de la desquamation de la muqueuse buccale, des saignements gingivaux, ainsi que de sources exogènes (Brignot et Feron, 2021). Ces protéines incluent notamment les albumines sériques représentant environ 5 à 10 % de la teneur protéique totale, ainsi que diverses immunoglobulines (IgA, IgG, IgM), des globulines  $\alpha$  et  $\beta$ , des calprotectines, et d'autres protéines associées au système immunitaire. Bien que leur contribution puisse atteindre jusqu'à 20 % des protéines salivaires, leur concentration tend à diminuer de manière significative lorsque le débit salivaire augmente (Dany, 2012).

#### **2.1.2.2. Les protéines intrinsèques**

On estime à environ 400 le nombre de protéines intrinsèques synthétisées localement par les glandes salivaires, contribuant de manière spécifique à la composition protéique de la salive (Brignot et Feron, 2021).

#### **➤ Les Enzymes salivaires**

##### **• L'amylase salivaire**

L'amylase salivaire, principalement sécrétée par les glandes parotides, représente environ 30 % des protéines salivaires. Elle initie la digestion des glucides en dégradant l'amidon en maltose, mais son activité cesse rapidement sous l'effet de l'acidité gastrique (Dany, 2012).

##### **• La lipase salivaire**

La lipase salivaire, principalement sécrétée par les glandes de Von Ebner, joue un rôle précoce dans la digestion lipidique en hydrolysant jusqu'à 30 % des triglycérides avant leur

arrivée dans l'intestin. Elle agit également sur les phospholipides, les esters de cholestérol et d'autres esters (Dany, 2012).

#### • Les lysozymes

Les lysozymes représentent environ 10 % des protéines totales dans la salive. Ces enzymes possèdent des propriétés antiseptiques et agissent en tant qu'enzymes lytiques, capables de détruire les bactéries, notamment celles à Gram positif, indépendamment de leur potentiel pathogène (Dany, 2012). Il exerce une activité antibactérienne en hydrolysant les liaisons  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4) entre l'acide N-acétylmuramique et la N-acétyl glucosamine dans le peptidoglycane de la paroi cellulaire des bactéries (Olliewood, 2024).

#### • Les lactopéroxydases

Les lactopéroxydases présentes dans la salive proviennent de deux sources distinctes. La première est la lactopéroxydase d'origine salivaire, synthétisée et sécrétée par les glandes salivaires humaines. La seconde correspond à la myéloperoxydase, produite par les polynucléaires neutrophiles qui migrent dans la cavité buccale via le sillon gingival.

La salive contient également diverses enzymes aux fonctions biologiques variées, telles que les kallikréines, les collagénases d'origine tissulaire, les gélatinases, les peroxydases, les élastases, les protéases, les cholinestérases et les ribonucléases (Dany, 2012).

#### ➤ Les mucines

Les mucines salivaires sont des glycoprotéines essentielles à la protection de la cavité buccale (Slomiany et al, 1996). Elles sont principalement produites par les cellules mucus des glandes sublinguales. Elles se répartissent en deux grandes classes : les mucines de type MG1, de haut poids moléculaire et fortement glycosylées, et les mucines de type MG2, de poids moléculaire plus faible (Humphrey and Williamson, 2001).

## 2.2. Caractéristiques physiques de la salive

#### • Le PH

Le pH de la salive humaine est généralement compris entre 6,0 et 7,0, avec une capacité tampon variant de 3,1 à 6,0 mmol H<sup>+</sup>/L (Roblegg et al., 2019).

#### • La viscosité

La viscosité de la salive non stimulée est hétérogène en raison du mélange des sécrétions des glandes parotides, submandibulaires et sublinguales, qui diffèrent par leur composition. Cette variabilité de viscosité est principalement influencée par la quantité et le type de mucines présentes dans chaque sécrétion. Par conséquent, la salive sublinguale, riche en mucines, est plus élastique que la salive submandibulaire, elle-même plus élastique que la salive

parotidienne. En revanche, la salive stimulée devient plus homogène sur le plan viscoélastique, en raison de la prépondérance du volume de la sécrétion parotidienne, plus fluide (Dany, 2012).

### **3. Potentiel diagnostique de la Salive : corrélations avec les fluides sanguins et avantages cliniques**

#### **3.1. Corrélation avec le sang**

La salive constitue un outil diagnostique précieux pour le suivi, le diagnostic, le pronostic des maladies et les recherches cliniques. Comparable au sang, elle est composée de divers éléments tels que des anticorps, des agents antimicrobiens et des facteurs de croissance. Ces composants, issus du sang, rejoignent la salive via des voies transcellulaires et paracellulaires. Elle permet ainsi de refléter l'état physiologique global, notamment les fluctuations hormonales, nutritionnelles et métaboliques (Malathi et al., 2016).

#### **3.2. Avantages d'utilisation de la salive en diagnostic**

La salive présente plusieurs avantages d'utilisation en diagnostic et qui sont résumés dans les points suivants : (Malathi et al., 2016).

- **Méthode non invasive**  
Prélèvement simple, indolore et bien accepté.
- **Respect de la confidentialité**  
Réduit les problèmes liés à l'urine.
- **Avantages logistiques**  
Collecte, stockage, transport et analyse faciles et peu coûteux.
- **Manipulation simplifiée**  
Absence de coagulation contrairement au sang.
- **Meilleure adhésion des patients**  
Favorise les examens réguliers et le suivi de la santé.

### **4. la Salive comme biomarqueur pour le Diagnostic du DT1**

L'analyse salivaire suscite un intérêt croissant en tant qu'alternative non invasive aux méthodes de diagnostic traditionnelles, notamment chez les populations pédiatriques. Dans le contexte du diabète de type 1, plusieurs études ont mis en évidence des modifications significatives du profil protéomique salivaire. Ces altérations se traduisent par une expression différentielle de certaines protéines et peptides, en particulier ceux associés aux fonctions immunitaires de la cavité buccale. L'identification de ces protéines, par des techniques, suggère que la salive pourrait constituer une source précieuse de biomarqueurs



pour la caractérisation, la surveillance et, potentiellement, le diagnostic précoce du diabète de type 1. Cette approche ouvre ainsi la voie à des stratégies de dépistage moins invasives et mieux adaptées à une utilisation en population pédiatrique (Pappa et al., 2018).

### **III. Les biomarqueurs**

#### **1. Définition d'un biomarqueur :**

Un biomarqueur est défini comme un paramètre biologique objectivement mesurable, utilisé pour évaluer un processus physiologique normal, un processus pathologique, ou encore la réponse de l'organisme à une intervention thérapeutique. Selon la définition consensuelle proposée en 1998 par un groupe de travail des National Institutes of Health (NIH), un biomarqueur constitue un outil quantifiable permettant de refléter l'état ou l'évolution d'un système biologique. L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) en offre une définition élargie, englobant toute entité moléculaire, structurale ou fonctionnelle mesurable dans l'organisme ou ses dérivés biologiques, dont les variations sont corrélées à l'apparition, à l'évolution ou au pronostic d'une pathologie. Par définition, un biomarqueur implique une mesure réalisée sur un échantillon biologique, et peut inclure des paramètres circulants, à l'exclusion des analyses de routine telles que les électrolytes ou l'hémoglobine (Strimbu and Tavel, 2010).

Les biomarqueurs jouent un rôle central en recherche biomédicale comme en pratique clinique. Leur utilité est multifactorielle : ils peuvent être utilisés comme outils diagnostiques pour détecter précocement une pathologie, comme marqueurs de gravité, comme indicateurs pronostiques, ou encore comme prédicteurs de la réponse thérapeutique, facilitant ainsi un suivi individualisé des traitements. Dans certains domaines cliniques spécifiques, comme la médecine d'urgence, leur usage est souvent orienté vers le diagnostic, bien que de nombreux biomarqueurs présentent également un intérêt pronostique avéré (Charpentier, 2011).

#### **2. Les différents type des biomarqueurs**

##### **2.1. Biomarqueurs de diagnostic**

- Utilisés pour identifier la présence d'une maladie, souvent avant l'apparition des symptômes.
- Aident à distinguer le diabète de type 1 (DT1) du diabète de type 2 (DT2).
- Peuvent détecter précocement certaines complications du diabète.
- Exemples en médecine : PSA (cancer de la prostate), troponine (infarctus).
- En salive : glucose, protéines spécifiques, cytokines = outils diagnostiques non invasifs (Bellagambi et al., 2020)

##### **2.2. Biomarqueurs pronostiques**

- Permettent d'anticiper l'évolution ou la gravité potentielle de la maladie.



- Utiles pour évaluer le risque de complications futures chez les patients diabétiques.
- Aident à orienter les décisions thérapeutiques précoces et personnalisées (SGI, 2021.)

### 2.3. Biomarqueurs de suivi

- Servent à surveiller l'évolution de la maladie au fil du temps.
- Évaluent l'efficacité des traitements et l'équilibre glycémique.

Exemples :

- **HbA1c** : reflète la glycémie moyenne sur 6 à 8 semaines.
- **Fructosamine, albumine glyquée** : reflètent des variations sur 2 à 3 semaines.

Ces biomarqueurs sont indispensables pour adapter les traitements et prévenir les complications du diabète (Hay-Lombardie and Bigot-Corbel, 2018).

## 3. Biomarqueurs salivaires pertinents dans le diabète

### 3.1 Alpha amylase

L'amylase salivaire, enzyme clé dans la dégradation des glucides, est sécrétée principalement par les glandes parotides et constitue l'un des composants majeurs de la salive. Cette enzyme d'origine humaine a un poids moléculaire d'environ **56 kDa** pour sa forme majoritaire (isoforme non glycosylée), pouvant atteindre jusqu'à **62 kDa** en raison de variations glycosylationnelles (Peng et al., 2012). Elle joue un rôle fondamental non seulement dans la digestion précoce des polysaccharides, mais aussi dans le maintien de l'homéostasie buccale. Chez les enfants atteints de diabète de type 1 (DT1), plusieurs études ont rapporté une élévation des concentrations totales d' $\alpha$ -amylase salivaire par rapport aux sujets non diabétiques, possiblement en lien avec le stress physiologique ou une réponse adaptative aux déséquilibres métaboliques (Ladgotra et al., 2016). Toutefois, des analyses protéomiques plus avancées, telles que l'électrophorèse bidimensionnelle couplée à la spectrométrie de masse, ont révélé une sous-expression significative de plusieurs isoformes spécifiques de cette enzyme chez les patients diabétiques (tableau 1). Ces isoformes, qui diffèrent par leurs structures et leurs fonctions, sont notamment impliquées dans des mécanismes de défense antimicrobiens et anti-inflammatoires au niveau de la cavité buccale. Cette divergence apparente entre une augmentation globale de l'amylase et une réduction qualitative de certains de ses variants fonctionnels met en lumière les limites des approches purement quantitatives, qui peuvent masquer des déséquilibres subtils mais cliniquement importants. Elle suggère également une altération des mécanismes de défense immunitaire locaux chez les enfants diabétiques, malgré une activité enzymatique totale parfois élevée en raison de mécanismes compensatoires ou d'une activation non

spécifique. Ces observations renforcent l'intérêt des technologies de protéomique salivaire pour détecter des modifications moléculaires spécifiques, susceptibles d'agir comme biomarqueurs du statut métabolique et immunitaire dans le contexte du DT1 (Hirtz et al., 2006) .

**Tableau 1 :** Isoformes principales de l' $\alpha$ -amylase salivaire chez l'homme avec leur poids moléculaire approximatif et ces fonctions

Isoforme d' $\alpha$ -amylase	Poids moléculaire (kDa)	Fonctions
Isoforme « basale »	$\approx 56$ kDa	Forme non glycosylée la plus abondante dans la salive normale.
Isoforme glycosylée	$\approx 60\text{--}62$ kDa	Variante avec chaînes glucidiques ; liée aux fonctions de défense locale
Isoforme « inflammatoire »	$\approx 57$ kDa	Sursynthétisée lors de stress métabolique ou inflammation systémique.

### 3.2 Immunoglobuline A (IgA)

L'immunoglobuline A (IgA), principale classe d'anticorps présente dans les sécrétions muqueuses, joue un rôle essentiel dans le système immunitaire inné de la cavité buccale, en neutralisant les agents pathogènes et en prévenant leur adhésion à l'épithélium oral. Dans le contexte du diabète de type 1 (DT1), les données de la littérature concernant les concentrations salivaires d'IgA restent contradictoires. Certaines études rapportent une élévation des niveaux d'IgA salivaire chez les enfants diabétiques, possiblement en lien avec une activation immunitaire locale chronique. En revanche, d'autres travaux, incluant des patients de différents âges atteints de DT1, n'ont pas mis en évidence de différence significative dans les concentrations moyennes d'IgA salivaire entre patients diabétiques et témoins sains. Toutefois, cette même étude a révélé une corrélation positive significative entre les niveaux d'IgA salivaire et les taux d'hémoglobine glyquée (HbA1c), un marqueur reconnu du contrôle glycémique à long terme, suggérant que l'IgA salivaire pourrait refléter l'état métabolique des patients. Fait intéressant, aucune corrélation n'a été observée entre l'IgA salivaire et les taux sériques d'IgA, ce qui renforce l'hypothèse d'une régulation locale indépendante. Ces observations suggèrent que, bien que l'IgA salivaire ne soit pas un indicateur diagnostique fiable de la présence du DT1, elle pourrait constituer un biomarqueur de suivi pertinent, utile pour évaluer l'équilibre glycémique et, potentiellement, le risque de complications bucco-dentaires ou systémiques. Ce rôle potentiel comme indicateur non invasif de la qualité du contrôle glycémique souligne

l'intérêt de son intégration dans les protocoles de surveillance salivaire chez les enfants diabétiques (Ahmadiashar et al., 2015).

### 3.3 Cytokines (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ )

Chez les patients atteints de diabète de type 1 (DT1), plusieurs études rapportent une augmentation des concentrations salivaires d'IL-6 et de TNF- $\alpha$  par rapport aux sujets non diabétiques. Cette élévation, mise en évidence principalement par des dosages immuno-enzymatiques (ELISA) adaptés aux fluides salivaires, semble refléter l'état inflammatoire global de l'organisme. En effet, les niveaux accrus de ces cytokines dans la cavité buccale se corrélaient généralement avec des marqueurs systémiques d'inflammation (protéine C-réactive, vitesse de sédimentation) et avec l'HbA1c, indiquant un lien entre l'inflammation locale et le contrôle glycémique à long terme (Akkemik et al., 2023).

Plusieurs mécanismes peuvent expliquer cette production accrue de cytokines salivaire chez les enfants DT1 :

- Un stress oxydatif permanent dû aux fluctuations glycémiques, favorisant la sécrétion d'IL-6 et de TNF- $\alpha$  par les cellules épithéliales et les macrophages des glandes salivaires.
- Une altération du microenvironnement buccal (modifications du pH, dysbiose bactérienne) qui stimule la réponse immunitaire locale.
- Une transsudation partielle des médiateurs inflammatoires circulants dans la salive, en lien avec l'inflammation systémique chronique caractéristique du DT1.

### 3.4 Glucose salivaire

Le glucose salivaire est étudié comme un biomarqueur non-invasif prometteur pour le diabète, offrant une alternative facile et moins inconfortable aux prises de sang.

Bien que la salive soit un filtrat du sang, permettant au glucose d'y diffuser, la corrélation entre le glucose salivaire et sanguin varie. Une corrélation positive est souvent observée chez les diabétiques, mais elle est influencée par des facteurs comme le débit salivaire et les inflammations buccales. Les niveaux de glucose salivaire sont généralement bien inférieurs à ceux du sang, ce qui complexifie leur détection. Les résultats des études sur cette corrélation peuvent être contradictoires, montrant des corrélations allant de significatives à faibles (Cui et al., 2022).

La fiabilité du glucose salivaire comme indicateur du contrôle glycémique est un domaine de recherche actif. Son utilisation permettrait un suivi plus fréquent et moins invasif, améliorant potentiellement la gestion du diabète. Cependant, des recherches supplémentaires sont essentielles pour standardiser les méthodes de collecte et d'analyse, identifier les facteurs

influençant le transfert du glucose du sang vers la salive, et établir des seuils de référence clairs. Des défis comme la variabilité salivaire et le manque de protocoles standardisés doivent être surmontés. Certaines études suggèrent que le glucose salivaire pourrait être utile pour la surveillance, notamment chez les diabétiques mal contrôlés, mais pas comme outil de diagnostic autonome (Ganesan et al., 2022).

#### **4. Relation entre le diabète de type 1, la salive et les biomarqueurs**

La salive, au-delà de son rôle protecteur au sein de la cavité buccale, constitue un reflet fidèle de l'état de santé général de l'organisme. Dans le contexte du diabète de type 1 (DT1), une corrélation étroite s'établit entre ce fluide biologique, les processus pathologiques sous-jacents et les biomarqueurs détectables, par le biais de plusieurs mécanismes physiopathologiques :

##### **4.1. Reflet de l'état systémique**

De nombreuses molécules présentes dans le sang peuvent se retrouver dans la salive par diffusion passive, transport actif ou filtration à travers les capillaires des glandes salivaires. Ainsi, certains biomarqueurs systémiques associés au DT1 - notamment des médiateurs inflammatoires ou des métabolites spécifiques - peuvent être identifiés dans la salive. Cela offre une opportunité précieuse de surveillance non invasive de l'état physiologique de l'enfant diabétique (Tabak, 2001).

##### **4.2. Altérations des glandes salivaires induites par le diabète**

Le diabète, en particulier en cas de déséquilibre glycémique chronique, est susceptible de provoquer des modifications structurales et fonctionnelles au niveau des glandes salivaires. Ces altérations se traduisent par une diminution du débit salivaire (hyposialie), des variations de la composition biochimique (pH, concentration en électrolytes, activité enzymatique) ainsi qu'une perturbation des fonctions immunitaires locales, tant innées qu'adaptatives. Ces modifications peuvent elles-mêmes constituer des biomarqueurs ou influencer sur la stabilité et la concentration des autres molécules présentes dans la salive (Ittichaicharoen et al., 2016).

##### **4.3. Inflammation systémique et stress oxydatif**

Le DT1 s'accompagne d'un état inflammatoire chronique et d'un stress oxydatif accru, qui jouent un rôle central dans la destruction progressive des cellules bêta et dans l'apparition de complications métaboliques (López del Valle et al., 2015). Ces perturbations sont également détectables dans la salive, via l'élévation de certaines cytokines, chimiokines, ou encore de marqueurs du stress oxydatif, reflétant ainsi l'état inflammatoire systémique (Maritim et al., 2003).

#### **4.4. Réponse immunitaire locale et systémique**

Bien que les principaux auto-anticorps du DT1 soient classiquement détectés dans le sang, la salive renferme elle aussi des composants du système immunitaire — tels que des immunoglobulines ou des cellules immunitaires — dont le profil peut être modifié en réponse à l'activité auto-immune. Ces altérations peuvent traduire une activité immunitaire systémique ou des réponses locales spécifiques à la muqueuse buccale.

#### **4.5. Manifestations bucco-dentaires associées au DT1**

Les enfants atteints de DT1 présentent un risque accru de complications buccales, notamment les caries, les gingivites, les parodontopathies et les infections fongiques telles que la candidose. Ce risque est lié à l'hyperglycémie chronique et aux altérations de la salive, tant en quantité qu'en qualité. Certains biomarqueurs salivaires — tels que les médiateurs de l'inflammation parodontale ou des produits métaboliques d'origine bactérienne — peuvent ainsi témoigner de la présence de ces complications et, indirectement, renseigner sur le niveau de contrôle glycémique (Lalla et al., 2006).

# ***Matériel et méthodes***

## Matériel biologique

### 1.Recrutement des patients

Notre étude a porté sur une population de patients diabétiques (filles et garçons) du service de pédiatrie de l'Hôpital Pédiatrique Mansourah. Les patients diabétiques sont de type 1 âgés de 4 à 15 ans, et présentant une glycémie à jeun supérieure à 1,20 g/l (tableau 2). Ont été exclus de l'étude les patients diabétiques ayant une pathologie non régulée et ne présentant pas une bonne hygiène buccale. Cette population a été comparée à un sujet sain, sans pathologies connues et possédant une bonne hygiène buccale.

**Tableau 2** : données des patients atteints de DT1 recrutés pour l'étude

Échantillons	Sexe	Age	Poids	Héréditaire	Depuis
1	Garçon	6 ans	17	Oui	3 ans
2	Fille	9 ans	29	Oui	6 ans
3	Garçon	8 ans	24	Non	4ans
4	Garçon	10 ans	26.5	Non	6ans
5	Garçon	9 ans	34	Non	1 mois d'avant
6	Fille	12 ans	44	Non	1 ans
7	Garçon	13 ans	44	Oui	9 ans
8	Fille	9 ans	32	Non	4 ans
9	Fille	10 ans	44	Non	1 mois d'avant
10	Fille	12 ans	42	Non	9 ans
11	Garçon	12 ans	30	Non	5 ans
12	Garçon	8 ans	27	Non	22 mois
13	Garçon	4 ans	15	Non	5 mois d'avant
14	Garçon	12 ans	35	Oui	6 ans
15	Fille	14 ans	52	Oui	4 ans
16	Fille	11 ans	40 1.42	Oui	9 mois d'avant
17	Fille	8 ans	27	Non	1 ans

## 2. Recueil de la salive

Pour le recueil de la salive, nous avons adopté la méthode décrite par Hirtz et *al.*, 2005 avec quelques modifications. La salive totale est prélevée le matin, 2 heures après le petit déjeuner (environ 10 heures du matin) après que le patient se soit brossé les dents avec une brosse à dent dépourvue de dentifrice. Afin de favoriser la salivation, le patient doit boire un verre d'eau 15 minutes avant le prélèvement, et mâcher un petit bout de para film (environ 3 cm<sup>2</sup>), pendant quelques minutes. Trois ml de salive totale est ainsi prélevés dans des tubes eppendorf stériles. Les échantillons salivaires sont ensuite centrifugés à 10000 t/min pendant 15 minutes afin de supprimer les mucines et les débris cellulaires et alimentaires encore présents dans la salive. Une fois prélevé, le surnageant est immédiatement congelé (-20°C) jusqu'aux analyses.

### I. Technique d'électrophorèse

#### 1. Extraction des protéines

L'extraction des protéines a été réalisée à partir de la salive des patientes malades et du sujet sain obtenue après centrifugation de la salive totale.

Les protéines salivaires sont extraites dans les conditions dénaturantes et réductrices. 100 µl de salive des patients malades et du sujet sain sont mélangés avec 75 µl de solution d'extraction contenant 35% (V/V) de glycérol, 22% (V/V) de tris/HCL 1M pH 6.8, 43% (V/V) d'eau distillée, 7% (P/V) de SDS et quelques grains de bleu de bromophénol. 2.5% (V/V) de β- mercaptoéthanol sont rajoutés au mélange pour réduire les protéines salivaires. Après agitation pendant 1h à température ambiante, les mélanges sont incubés à 65°C pendant 30 minutes puis centrifugés à 10000t/min pendant 1 minute. Les surnageant contenant les protéines salivaires dissociées et réduites sont récupérés. Les protéines sont ensuite fractionnées sur un gel de polyacrylamide à 12% selon la méthode de Laemmli.

#### 2. Electrophorèse monodimensionnelle en gel de polyacrylamide

La composition protéique est caractérisée par migration électrophorétique en gel de polyacrylamide de 1,5 mm d'épaisseur en condition dénaturante (présence de SDS) et réductrice.

L'électrophorèse a été réalisée suivant la méthode de Laemmli (1970) modifiée par Singh et al.(1991). un gel de séparation de polyacrylamide de 12,56% et un gel de concentration de 2,88% sont utilisés. Un volume de 50 µl de chaque échantillon a été déposé. La migration a été effectuée à 1200V et 40 mA par gel dans un tampon Tris-HCl 24 mM pH 8,3 contenant 1,4 % (p/v) de glycine et 0,1% (p/v) de SDS. Une fois la migration électrophorétique achevée, le gel révélé au moyen d'une



coloration au Bleu de Coomassie à 12% (p/v) de TCA et 5% (v/v) de solution mère de Bleu de Coomassie R250 à 1% dans l'éthanol pendant toute la nuit. Les gels sont colorés toute la nuit avec une faible agitation. Ils sont enfin décolorés dans l'eau de robinet pendant 3 jours.

### **III. Analyse des gels et étude statistique**

#### **1. Analyse des gels**

Il s'agit d'une lecture de mobilité des bandes qui consiste à déterminer et révéler le rapport frontal et le poids moléculaire de chaque bande par l'utilisation de GelAnalyzer (version 19.1). Les bandes révélées des échantillons sont considérées comme des biomarqueurs de la maladie étudiée si elles présentent des différences quantitatives ou qualitatives par rapport à celles du témoin.

#### **2. Analyse statistique :**

Le traitement des données fait appel à des méthodes statistiques. Les fréquences, les indices de similarité et l'établissement du dendrogramme ont été effectués à l'aide de logiciel ExcelStat 2016.

#### **3. Etude épidémiologique**

Dans le cadre de notre travail, une enquête épidémiologique a été réalisée auprès de 17 enfants atteints de diabète de type 1 insulino-dépendant, ainsi que d'un seul enfant témoin. Les patients, âgés de 4 à 14 ans (8 filles et 9 garçons), ont été recrutés au service de pédiatrie de l'hôpital d'El Mansourah. À cette occasion, des prélèvements de salive ont été effectués pour analyse, parallèlement à un questionnaire recueillant des informations telles que l'âge, le sexe, le poids, la taille, l'ancienneté de la maladie, et l'existence ou non d'antécédents familiaux de diabète. Cette étude nous a permis d'analyser la répartition des cas selon le sexe, l'âge et l'hérédité, dans le but de contextualiser notre recherche principale : l'identification de protéines salivaires potentiellement pertinentes en tant que biomarqueurs du diabète chez l'enfant

# ***Résultats et discussion***

Résultats et discussion

1.Etude épidémiologique

1.1 Répartition des patients selon le sexe

Dans notre étude portant sur 17 enfants atteints de diabète de type 1, la répartition selon le sexe révèle une légère prédominance masculine. En effet, 9 patients sont des garçons, soit 52,94 % de l’effectif total, contre 8 filles, représentant 47,06 % (Figure 2).

Cette différence reste modérée et ne permet pas de conclure à une réelle disparité entre les sexes dans notre échantillon. Toutefois, certaines études indiquent que le diabète de type 1 pourrait présenter des variations selon le sexe en fonction des populations, avec parfois une légère surreprésentation masculine. Cela pourrait s’expliquer par des facteurs génétiques ou environnementaux spécifiques.

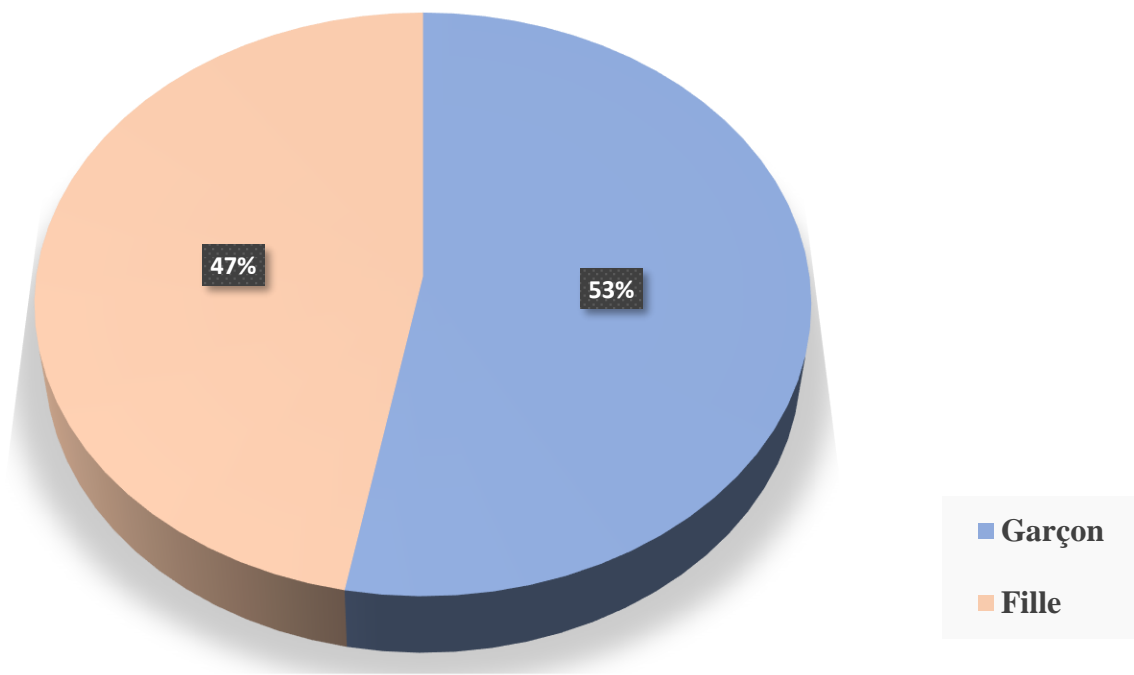


Figure 2 : répartition des sujets selon le sexe.

1.2 Répartition des patients selon l’hérédité

Parmi les 17 enfants inclus dans notre étude, 6 cas ont rapporté un antécédent familial direct de diabète, indiquant un caractère héréditaire, soit 35.29% patients. Les 11 autres cas, soit 64.71% ne présentent aucun antécédent familial connu de la maladie (tableau 3).

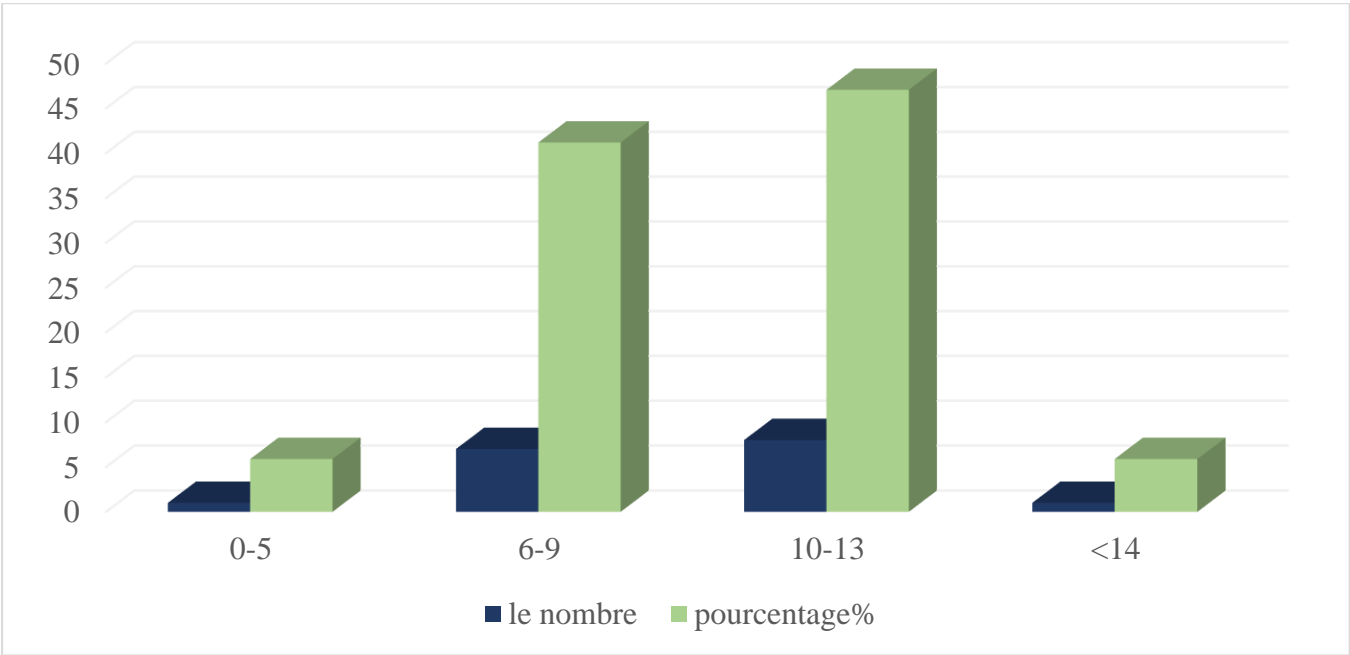
**Tableau 3 : Répartition des sujets selon l’hérédité**

Hérédité	Nombre de patients	Pourcentage (%)
Oui (héréditaire)	6	35.29
Non	11	64.71

**1.3 Répartition des patients selon l’âge**

L’analyse des données recueillies auprès des patients inclus dans notre étude met en évidence une répartition inégale selon les tranches d’âge. La majorité des enfants diabétiques appartiennent à la tranche d’âge de 10 à 13 ans, représentant 47,06 % de l’effectif total. Cette proportion est suivie de près par la tranche des 6 à 9 ans, qui constitue 41,18 % des cas. En revanche, les enfants âgés de 0 à 5 ans ne représentent que 5,88 %, ce qui peut s’expliquer par une moindre fréquence du diagnostic à cet âge ou des manifestations cliniques moins évidentes. Une catégorie intitulée “<14 ans” apparaît également avec 5,88 %, mais elle semble redondante étant donné que tous les sujets inclus dans l’étude sont âgés de moins de 14 ans (Figure 3).

Ces résultats confirment que le diabète de type 1 est plus fréquemment diagnostiqué à partir de l’âge scolaire, notamment entre 6 et 13 ans.



**Figure 3 : répartition des sujets selon l’âge.**

## 2. Fractionnement des protéines et recherche de biomarqueurs

### 1.1. Analyse des profils électrophorétiques

La technique adoptée pour l'analyse est celle décrite par Laemmli (1970) et modifiée par Singh et al. (1991) qui a été utilisée pour fractionner les protéines salivaires. Cette technique permet d'obtenir l'ensemble des protéines. La lecture des diagrammes consiste à révéler la mobilité de chacune des bandes protéiques réparties dans les deux zones de protéines de haut et de faible poids moléculaire (HPM et FPM), en mesurant la distance parcourue par chaque bande dans le gel de séparation.

#### 1.1.1 Analyse des protéines salivaires dénaturées et réduites fractionnées par SDSPAGE

Les diagrammes électrophorétiques des 18 échantillons (17 malades et 1 témoin) analysés renferment de 1 à 12 bandes décelables qui se répartissent dans deux zones des protéines salivaires avec des mobilités allant de 20 à 149 mm.

Les diagrammes sont interprétés par zones. Nous avons dénombré 15 bandes protéiques de mobilités différentes, réparties comme suit : 7 bandes protéiques dans la zone 1 des protéines salivaires de HPM et 8 bandes protéiques dans la zone 2 des protéines de FPM.

La comparaison des profils électrophorétiques des enfants diabétiques et du sujet sain révèle des variations quantitatives et qualitatives.

D'abord, les variations qualitatives et quantitatives les plus importantes observées sont :

La bande **B1** (175,4 kDa), détectée uniquement chez le patient 1 avec une intensité faible, est absente chez tous les autres sujets, y compris le témoin. Ce poids moléculaire élevé est compatible avec des protéines fortement glycosylées telles que la mucine 5B ou des formes polymériques de l'immunoglobuline A (IgA), connues pour leur rôle dans la lubrification et la protection de la muqueuse buccale. Toutefois, la détection unique et isolée de cette bande empêche de l'associer à un profil pathologique spécifique ; il s'agit donc d'une présence aléatoire, non spécifique, non retenue comme biomarqueur.

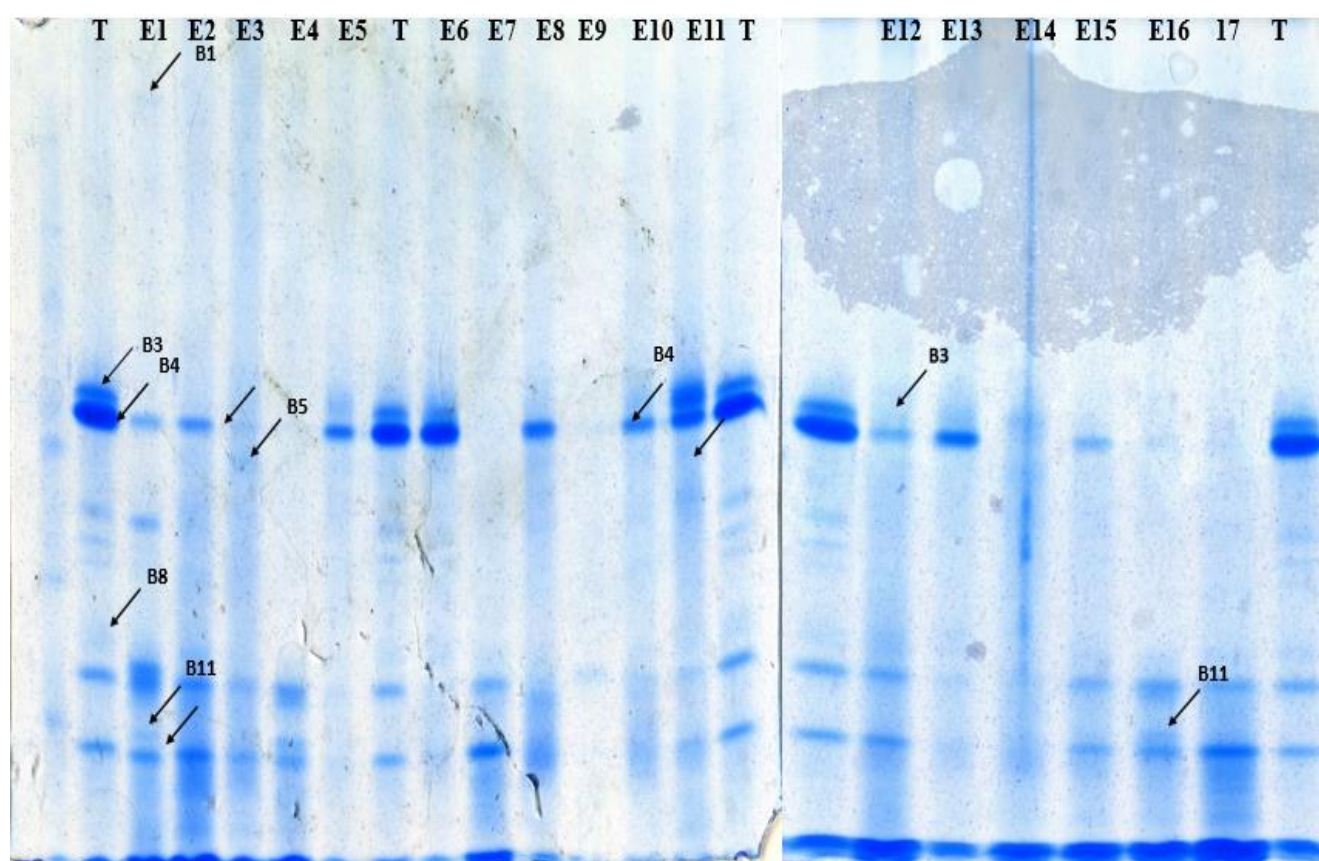
La bande **B4** (89,5 kDa), observée avec une forte intensité chez le témoin et les patients 6 et 11, moyenne chez les patients 2, 5, 8, 10 et 13, faible chez les patients 1, 12 et 15, et à l'état de trace chez les patients 3, 14, 16 et 17, correspond probablement à la lactoferrine ou à la forme sécrétoire de l'immunoglobuline A. Ces protéines, impliquées dans l'immunité salivaire, sont souvent altérées dans les contextes inflammatoires. Leur expression non spécifique au diabète mais variable parmi les patients reflète plutôt un état inflammatoire local qu'un indicateur propre à la pathologie.

La bande **B5** (71,7 kDa), détectée uniquement chez les patients 3, 8 et 11, et absente chez le témoin, pourrait correspondre à la HSP70 (protéine de choc thermique) ou à la transferrine. Ces protéines sont souvent associées à la réponse au stress oxydatif ou à des déséquilibres métaboliques. Leur expression exclusive chez certains patients diabétiques en fait un marqueur qualitatif potentiel, lié à une réponse cellulaire au stress et à l'inflammation induits par le diabète.

La bande **B11** (22,8 kDa), présente uniquement chez les patients 1, 2, 4, 10 et 16, et absente chez le témoin, est compatible avec des protéines inflammatoires de faible poids moléculaire comme les calgranulines (S100A8/S100A9) ou certains fragments actifs de cathepsines. Cette bande reflète probablement un phénotype inflammatoire spécifique à un sous-groupe de patients, traduisant une activation locale du système immunitaire. Elle représente un biomarqueur qualitatif partiel, révélateur d'un processus inflammatoire lié au diabète.

La bande **B12** (20,4 kDa), présente avec une forte intensité chez le témoin et les patients 1, 2, 7 et 17, faible chez les patients 3, 4, 8, 12, 15 et 16, et à l'état de trace chez les patients 5, 6, 10, 11, 13 et 14, pourrait correspondre à des protéines salivaires protectrices comme les cystatines (S, SA, SN) ou les histatines. Ces protéines assurent une défense contre la protéolyse et les agents pathogènes. Leur diminution progressive chez les sujets diabétiques évoque une altération de la fonction des glandes salivaires, faisant de cette bande un biomarqueur quantitatif potentiel indicateur de dysfonction glandulaire.

L'échantillon **ECH9**, avec une seule bande détectée à 30,2 kDa d'intensité faible et l'absence des autres bandes, présente un profil très appauvri. Cette bande pourrait correspondre à la cystatine C, une protéine protectrice résistante à la dégradation enzymatique. Ce profil évoque une hypofonction salivaire sévère, possiblement due à une neuropathie autonome diabétique, une pathologie auto-immune comme le syndrome de Goujerot-Sjögren, une inflammation chronique, ou encore une carence nutritionnelle.



**Figure 4 :** Profils électrophorétiques des protéines salivaires dans les conditions dénaturantes et réductrices révélées par SDS/PAGE.

### 3. Etude de la variabilité des protéines salivaires

#### 3.1. Etude des protéines salivaires de HPM

L'analyse électrophorétique des 18 échantillons a permis de distinguer 7 types de protéines salivaires de haut poids moléculaires (tableau 4).

**Tableau 4:** Variabilité des protéines salivaires de HPM

Bandes	Mobilités (mm)	Echantillons	Poids moléculaires (kDa)	Fréquences %
1	20	E1	175.4	5,56
2	70	E12 , E13	101.3	11.11
3	75	T ,E5,E6 ,E10,E11,E12,E14,E16	93.9	38.89

4	78	T, E1 ,E2, E3,E5,E6,E8,E10,E11 ,E12,E13,E14,E15,E16,E17	89.5	77.78
5	90	E3,E8,E11	71.7	16.67
6	95	T,E1,E6,E8 ,E12,E17	64.3	27.78
7	100	T,E1,E2,E6	56.9	16.67

La diversité des bandes protéiques observée dans cette analyse électrophorétique est modérée dans la zone des protéines de haut poids moléculaire (Figure 4). Parmi les 18 échantillons analysés, la bande protéique **4**, correspondant à une mobilité de 78 mm et un poids moléculaire de 89.5 est la plus représentée avec une fréquence de 77,78 %, ce qui en fait la protéine salivaire dominante dans cette zone. Cette forte prévalence suggère un rôle central de cette protéine dans la salive des sujets étudiés, potentiellement en lien avec le métabolisme du diabète ou une fonction physiologique de base.

Elle est suivie par la bande **3**, de mobilité 75 mm et un poids moléculaire de 93.9 , retrouvée dans 38,89 % des échantillons. Cette fréquence intermédiaire pourrait indiquer une protéine présente de façon conditionnelle, influencée par des facteurs tels que le niveau de glycémie, l'état inflammatoire, ou encore le stade de la maladie.

La bande **6** avec 95 mm et 64.3 kDa, détectée dans 27,78 % des cas, présente une fréquence plus faible, mais reste notable. Elle pourrait représenter une protéine de réponse spécifique, exprimée dans des situations particulières.

En dessous de 20 % de fréquence, on retrouve les bandes **5** (90 mm ,71.7KDa) et **7** (100 mm, 56.9KDa), chacune présente dans 16,67 % des échantillons. Leur faible présence suggère qu'il s'agit de protéines salivaires peu communes, possiblement liées à une variation interindividuelle ou à des réponses spécifiques à des stimuli métaboliques.

La bande **2** de mobilité 70 mm et 101.3 kDa est encore moins fréquente, avec 11,11 %, tandis que la bande **1** (20 mm, 175.4KDa) n'a été observée que dans un seul échantillon, soit 5,56 %, ce qui en fait la protéine la plus rare détectée dans cette série. Cette bande pourrait correspondre à une protéine atypique ou transitoire, dont l'expression est limitée à certains profils biologiques particuliers.



### 3.2.Étude des protéines salivaires de FPM

L'analyse électrophorétique des protéines salivaires de faible poids moléculaire des 18 échantillons nous a permis de distinguer 8 protéines salivaires de mobilités différentes (Tableau 5). Ainsi nous notons un grand polymorphisme de ces protéines salivaires localisées dans la zone 2

**Tableau 5 : Variabilité des protéines salivaires de FPM**

Bandes	Mobilités (mm)	Échantillons	Poids moléculaire	Fréquences %
8	110	T,E1,E2,E6,E10,E11,E12	42	88.89
9	115	T,E1,E2,E3,E4,E6,E7,E8,E10,E11,E12,E13,E14,E15,E16,E17	34.6	88.89
10	118	T,E1,E3,E4,E5,E6,E7,E8,E9,E10,E11,E12,E13,E14,E15, E16,E17	30.2	83.33
11	123	E1,E2,E4,E10,E16	22.8	66.67
12	130	T,E1,E2,E3,E4,E5,E6,E7,E8,E10,E11,E12,E13,E14,E15, E16,E17	12.4	61.11
13	140	E1,E2,E3,E4,E7,E10,E12	11	38.89
14	143	E2,E3,E4,E5,E7,E11,E12,E15, E16,E17	10	33.33
15	149	T,E1,E2,E3,E4,E5,E6,E12,E13,E14,E15, E16,E17	9	27.78

L'analyse électrophorétique des protéines salivaires de faible poids moléculaire a mis en évidence huit bandes distinctes parmi les 18 échantillons étudiés. Dans cette zone, la diversité protéique est modérée mais certaines bandes se démarquent par leur forte prévalence, suggérant un rôle biologique important.

La bande **10**, de mobilité 118 mm et un poids moléculaire de 30.2KDa, ainsi que la bande **12** (130 mm, 12.4KDa) sont les plus représentées avec une fréquence identique de 88,89 %, apparaissant dans 16 échantillons. Cette forte présence indique que ces deux protéines sont probablement des composants majeurs de la salive chez les sujets étudiés, et pourraient être utilisées comme biomarqueurs potentiels dans le suivi du diabète.

La bande **9** (115 mm, 34.6KDa) est également fréquente, détectée chez 15 échantillons soit 83,33 %, ce qui renforce l'idée d'un profil électrophorétique commun partagé par la majorité des patients.

D'autres bandes sont moins fréquentes mais non négligeables. La bande **15** (149 mm, 9 KDa) est présente chez 66,67 % des sujets, suivie de la bande 14 (145 mm, 10 KDa) avec 61,11 %, témoignant d'une expression protéique variable mais significative.

À l'inverse, certaines protéines semblent moins exprimées, telles que la bande **13** (140 mm, 11 KDa), observée chez 7 individus (38,89 %), ou encore la bande 8 (110 mm, 42KDa), présente chez seulement 6 échantillons (33,33 %). Ces faibles fréquences pourraient indiquer des protéines spécifiques à certains profils physiopathologiques.

Enfin, la bande **11** de mobilité 123 mm et un poids moléculaire de 22.8 KDa) est la moins fréquente avec 27,78 %, suggérant qu'il s'agit d'une protéine minoritaire, probablement exprimée de manière conditionnelle ou transitoire.

#### 4. Etablissement des diagrammes types

L'analyse des diagrammes électrophorétiques montre que ces derniers présentent de nettes différences en composition protéique à la fois qualitatives et quantitatives pour les différents patients.

Un tel ensemble de résultats peut être alors exploité en estimant le degré de différence (ou d'analogie) entre les diagrammes des individus considérés deux à deux.

Cette représentation nous permet donc de conserver une image réelle des gels pouvant servir comme base de données pour l'identification. Nous rapportons dans les tableaux ci-dessous les diagrammes types des protéines salivaires des patients diabétiques et des sujets sains (1 : Présence de la bande, 0 : Absence de la bande, M : Mobilités, B : bandes protéiques).

**Tableau 6 :** Matrice des protéines salivaires de patients atteints de DT1 dans des conditions dénaturantes et réductrice

Bandes	T	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12	E13	E14	E15	E16	E17
1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
3	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0
4	1	1	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1
5	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
6	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1
7	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
8	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
9	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1
10	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
11	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
12	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1
13	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
14	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1
15	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1

### 5. Dendrogramme des protéines salivaires dénaturées et réduites

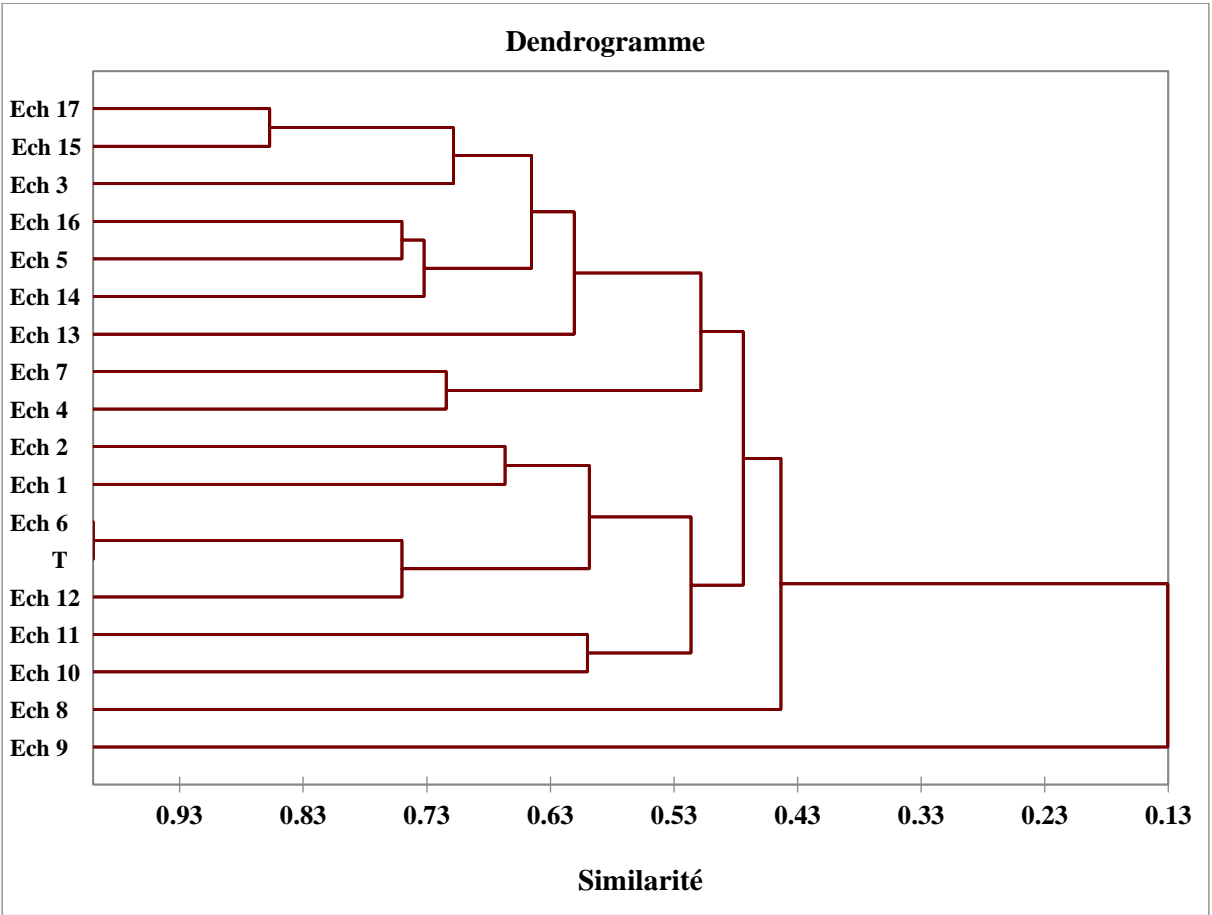
Le dendrogramme obtenu à partir de la méthode UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean), basé sur les similarités de composition protéique salivaire, permet de visualiser la proximité entre les différents échantillons analysés. Il révèle deux groupes principaux à une similarité d'environ 0,45.

Le premier groupe est constitué de l'échantillon Ech 9, qui se distingue nettement de l'ensemble des autres échantillons. Avec une similarité très faible ( $\sim 0,13$ ), cet échantillon apparaît comme très différent sur le plan protéique, ce qui suggère un profil atypique par

rapport au reste des patients et du témoin. Cette situation pourrait refléter un état pathologique particulier.

Le second groupe rassemble tous les autres échantillons (Ech 1 à Ech 8, Ech 10 à Ech 17 et le témoin T). Ce groupe se divise progressivement en plusieurs sous-groupes :

- ❖ Sous-groupe A : Composé des échantillons Ech 17, Ech 15 et Ech 3, très proches (similarité > 0,83), suggérant une composition salivaire similaire, peut-être due à un stade de maladie ou à des facteurs cliniques communs.
- ❖ Sous-groupe B : Réunit les échantillons Ech 16 et Ech 5, ensuite associés à Ech 14, Ech 13 et Ech 7, formant un groupe homogène (similarité entre 0,73 et 0,63).
- ❖ Sous-groupe C : Inclut Ech 4, Ech 2 et Ech 1, puis Ech 6, fusionnant progressivement à des similarités intermédiaires ( $\approx 0,53$ ).
- ❖ Sous-groupe D : Contient Ech 12, Ech 11, Ech 10 et Ech 8, qui se rejoignent entre 0,63 et 0,45. Le témoin T (non-diabétique) est intégré à ce groupe, mais reste légèrement isolé, indiquant un profil protéique moins marqué que celui de certains patients, mais pas aussi éloigné qu'Ech 9.



**Figure 5 :** Dendrogramme des 18 échantillons en condition dénaturante et réductrice.

## 6. Indice de similarité des protéines salivaires dénaturées et réduites

Pour quantifier l'analogie ou la dissemblance des diagrammes, on calcule un indice de similarité ou de dissimilarité inspiré de Dedio, et al., (1969). L'indice de similarité ou indice de ressemblance (IRS) a été calculé en rapportant l'indice de similarité absolu (IAS) au nombre total (N) des bandes présentes dans l'un, au moins, des diagrammes des échantillons comparés. L'IAS présente l'ensemble des bandes qui ne sont pas significativement différentes les unes des autres c'est-à-dire qu'ils ont la même mobilité.

$$\text{IRS} = \text{IAS} / \text{N} \times 100$$

Les indices de similarités ont été effectués pour les 18 échantillons (17 ayant un diabète et 1 témoin), ils sont représentés sous forme de matrice dans (le tableau 6) Il en ressort que l'indice de similarité se situe entre 0 et 100%.

Des valeurs faibles signifient que les diagrammes présentent de nombreuses dissemblances c'est le cas du patient 9 avec le patient 12 (IRS=8%), ainsi le patient 1 avec le patient 9 (IRS=9%).

Une valeur d'indice de similarité de 0 a également été observée uniquement chez le patient 2 avec le patient 9. Inversement, lorsque la valeur de l'IRS = 100%, cela signifie que les profils sont similaires (ces deux patients présentent des diagrammes identiques avec la même composition protéique), c'est le cas du témoin T et patient 6, cela renforce le résultat du dendrogramme (les deux échantillons se retrouvent compatibles).

Des valeurs d'IRS moyennes ont été aussi observées, à titre d'exemple : (IRS=50%) qui a été trouvé : entre le patient 5 avec les patients 6 , 12 et 13 , le patient 8 avec le patient 13 , 14 et 15.

Ainsi, on distingue des valeurs d'IRS importantes, par exemple :

- IRS à 17 % entre les patients : 13.14 et 15.
- IRS à 75 % entre les patients : 6 avec 12.
- IRS à 86 % entre les patients : 15 avec 17.

**Tableau 7 :** Indice de similarité des protéines salivaires dénaturées et réduites.

	T	Ech 1	Ech 2	Ech 3	Ech 4	Ech 5	Ech 6	Ech 7	Ech 8	Ech 9	Ech 10	Ech 11	Ech 12	Ech 13	Ech 14	Ech 15	Ech 16	Ech 17
T	100	67	50	42	33	50	100	27	50	11	55	55	75	50	67	50	55	60
Ech 1		100	67	46	50	31	67	33	42	9	58	36	64	42	42	42	46	50
Ech 2			100	55	60	36	50	40	25	0	55	42	62	36	36	50	55	45
Ech 3				100	67	56	42	63	56	13	45	60	54	56	56	75	60	67
Ech 4					100	44	33	71	30	14	50	36	46	44	44	63	67	56
Ech 5						100	50	38	33	17	40	56	50	50	71	71	75	63
Ech 6							100	27	50	11	55	55	75	50	67	50	55	60
Ech 7								100	38	20	44	44	42	38	38	57	44	50
Ech 8									100	17	40	56	38	50	50	50	40	63
Ech 9										100	13	13	8	17	17	17	13	14
Ech 10											100	60	54	40	56	40	60	36
Ech 11												100	54	40	56	56	60	50
Ech 12													100	50	50	50	54	58
Ech 13														100	71	71	56	63
Ech 14															100	71	75	63
Ech 15																100	75	86
Ech 16																	100	67
Ech 17																		100

# *Conclusion*

## Conclusion

Le présent travail a permis de mettre en lumière l'importance croissante des biomarqueurs salivaires dans le diagnostic et le suivi du diabète de type 1 chez l'enfant. La salive, en tant que fluide biologique non invasif, se révèle être une matrice prometteuse, capable de refléter l'état métabolique et inflammatoire de l'organisme. La synthèse bibliographique a démontré la présence de diverses molécules pertinentes dans la salive, notamment l'alpha-amylase, l'IgA, les cytokines pro-inflammatoires (IL-6, TNF- $\alpha$ ) ainsi que le glucose salivaire, dont les variations sont étroitement associées à la physiopathologie du DT1.

L'étude expérimentale menée par électrophorèse sur les échantillons salivaires des enfants diabétiques et du témoin a mis en évidence des différences significatives dans les profils protéiques. Certaines bandes protéiques spécifiques ont été observées exclusivement chez les patients diabétiques, suggérant l'existence de biomarqueurs salivaires potentiels. Ces résultats confirment la possibilité d'utiliser la salive comme outil complémentaire dans la détection précoce du DT1, avec l'avantage notable de son caractère non invasif, rapide et bien toléré, notamment dans le contexte pédiatrique.

Cependant, malgré les résultats encourageants, des limites subsistent, notamment liées à la variabilité interindividuelle de la salive et au besoin de protocoles analytiques standardisés. Il est donc nécessaire de poursuivre les recherches à plus grande échelle, en intégrant des approches omiques plus poussées (protéomique, métabolomique), afin de valider et affiner l'utilisation clinique des biomarqueurs salivaires dans le DT1.

En somme, ce mémoire ouvre des perspectives intéressantes en matière de diagnostic non invasif du diabète de type 1 et encourage l'intégration de la salive dans les outils de surveillance innovants, en particulier pour les populations vulnérables comme les enfants.



# *Résumés*

## Résumé

Le diabète de type 1 (DT1) est une pathologie auto-immune chronique touchant principalement les enfants, caractérisée par une destruction sélective des cellules  $\beta$  pancréatiques, entraînant une carence absolue en insuline. Le diagnostic de cette affection repose encore majoritairement sur des analyses sanguines, souvent mal tolérées chez les jeunes patients. Dans cette optique, la recherche de biomarqueurs salivaires s'inscrit comme une alternative prometteuse, non invasive et potentiellement exploitable à des fins diagnostiques et pronostiques.

Ce travail vise à explorer la pertinence de la salive comme matrice biologique pour l'identification de biomarqueurs associés au DT1 pédiatrique. Une revue bibliographique ciblée a permis de mettre en évidence plusieurs composants salivaires d'intérêt, notamment l' $\alpha$ -amylase, les immunoglobulines A (IgA), certaines cytokines pro-inflammatoires (IL-6, TNF- $\alpha$ ), ainsi que le glucose salivaire. L'étude expérimentale a porté sur l'analyse des profils protéiques salivaires de 17 enfants atteints de DT1 et d'un sujet témoin sain, en utilisant la technique d'électrophorèse SDS-PAGE en conditions dénaturantes et réductrices.

Les résultats ont mis en évidence des différences significatives entre les profils protéiques des enfants diabétiques et celui du témoin, traduites par l'apparition de bandes spécifiques et des variations d'intensité. L'analyse statistique des données, à l'aide de dendrogrammes et d'indices de similarité, a révélé une hétérogénéité interindividuelle tout en soulignant des motifs récurrents caractéristiques du DT1.

Ces résultats soutiennent la faisabilité de l'utilisation de la salive comme outil de surveillance clinique dans le DT1 de l'enfant. Toutefois, la validation de ces marqueurs nécessitera des investigations complémentaires, notamment par des approches de protéomique avancée, afin de confirmer leur spécificité, leur sensibilité et leur utilité clinique dans un cadre de dépistage ou de suivi personnalisé.

**Mots clés :** Diabète de type 1 (DT1), Biomarqueurs salivaires, Protéines salivaires, électrophorèse SDS/PAGE

## Abstract

Type 1 diabetes (T1D) is a chronic autoimmune disorder predominantly affecting children, characterized by the selective destruction of pancreatic  $\beta$ -cells and resulting in an absolute insulin deficiency. Diagnosis still relies primarily on blood sampling, a procedure often poorly tolerated by pediatric patients. In this context, salivary biomarkers represent a promising, non-invasive alternative for diagnosis, disease monitoring, and understanding the underlying pathophysiological mechanisms of T1D.

This study explores the potential of saliva as a biological matrix for the identification of T1D-associated biomarkers in children. A comprehensive literature review highlighted several salivary components of interest, including  $\alpha$ -amylase, immunoglobulin A (IgA), pro-inflammatory cytokines (IL-6, TNF- $\alpha$ ), and salivary glucose. The experimental phase involved the analysis of salivary protein profiles from 17 children diagnosed with T1D and one healthy control, using SDS-PAGE under denaturing and reducing conditions.

The findings revealed marked qualitative and quantitative differences in protein profiles between diabetic patients and the control subject. Specific protein bands were observed exclusively in T1D samples, suggesting the presence of disease-related proteomic signatures. Statistical analysis, including dendrogram construction and similarity indices, demonstrated both interindividual variability and recurring proteomic patterns among diabetic patients.

In conclusion, this study underscores the potential of saliva as an accessible and informative biological fluid, supporting its integration into the development of innovative, non-invasive diagnostic tools for pediatric T1D. Nonetheless, further investigations employing high-resolution proteomics are warranted to validate and standardize these salivary biomarkers for clinical application.

**Keywords :** Type 1 Diabetes (T1D), Salivary Biomarkers, Salivary Proteins, SDS-PAGE Electrophoresis.

## الملخص

يُعدّ داء السكري من النمط الأول (DT1) مرضًا مناعيًا ذاتيًا مزمنًا يصيب بشكل أساسي الأطفال، ويتميز بالتدمير الانتقائي لخلايا بيتا في البنكرياس، مما يؤدي إلى عجز كلي في إنتاج الإنسولين. لا يزال التشخيص يعتمد في الغالب على التحاليل الدموية، وهي إجراءات قد تكون غير مريحة ومرفوضة من قبل المرضى الأطفال. وفي هذا السياق، تمثل المؤشرات الحيوية اللعابية بديلًا واعدًا وغير باضع للتشخيص والمتابعة وفهم الآليات الفيزيولوجية المرتبطة بـ DT1.

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم إمكانيات استخدام اللعاب كمصفوفة بيولوجية للكشف عن مؤشرات حيوية مرتبطة بداء السكري من النمط الأول لدى الأطفال. وقد مكّنت المراجعة المنهجية للأدبيات من تحديد عدة مكونات لعابية ذات أهمية، مثل الأميلاز  $\alpha$ ، الغلوبولين المناعي (IgA) A، السيتوكينات الالتهابية IL-6 و TNF- $\alpha$ ، والغلوكونز اللعابي. أما الجانب التجريبي فاعتمد على تحليل الأنماط البروتينية في لعاب 17 طفلًا مصابًا بـ DT1 وشاهد سليم واحد، باستخدام تقنية الرحلان الكهربائي SDS-PAGE تحت ظروف اختزالية ومفككة للبروتينات.

كشفت النتائج عن وجود اختلافات نوعية وكمية واضحة بين المرضى والأفراد السليمين، حيث ظهرت حزم بروتينية خاصة لدى المرضى فقط، مما يشير إلى وجود بصمات بروتينية مرتبطة بالمرض. كما أظهرت التحاليل الإحصائية (كالرسم الشجري ومؤشرات التشابه) أنماطًا متقاربة بين بعض المرضى، رغم وجود تباين فردي.

ختامًا، تؤكد هذه الدراسة أهمية اللعاب كمصفوفة بيولوجية يسهل الحصول عليها، وتحقّر على دمجها ضمن تقنيات التشخيص غير الباضعة الخاصة بـ DT1 لدى الأطفال. ومع ذلك، تبقى هناك حاجة ماسة لأبحاث مستقبلية أكثر تقدمًا باستخدام تقنيات البروتيوميك عالية الدقة من أجل التحقق من صحة هذه المؤشرات الحيوية وتوحيد طرق استخدامها سريريًا.

**الكلمات المفتاحية:** داء السكري من النوع الأول، الواسمات الحيوية اللعابية، البروتينات اللعابية، الرحلان الكهربائي باستخدام

SDS/PAGE

# *Références bibliographiques*

## Références bibliographiques

- Ahmadiafshar, A., Mohsenifard, M.R., Mazloomzadeh, S., 2015. Evaluation of Serum & Salivary IgA in Patients with Type 1 Diabetes. PLoS ONE 10, e0122757. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122757>
- Akkemik, Ö., Kesim, S., Çabuk Renklibay, E., Ökdemir, D., Saraymen, R., Kurtoglu, S., 2023. Saliva and GCF cytokine levels in insulin-dependent diabetic teens and their relationship with metabolic status and disease duration. *Pediatr. Dent. J.* 33, 192–198. <https://doi.org/10.1016/j.pdj.2023.10.002>
- Bellagambi, F.G., Lomonaco, T., Salvo, P., Vivaldi, F., Hangouët, M., Ghimenti, S., Biagini, D., Di Francesco, F., Fuoco, R., Errachid, A., 2020. Saliva sampling: Methods and devices. An overview. *TrAC Trends Anal. Chem.* 124, 115781. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115781>
- Brignot, H., Feron, G., 2021. Rôle de la salive dans la perception sensorielle et introduction aux pratiques analytiques. *Cah. Nutr. Diététique* 56, 234–248. <https://doi.org/10.1016/j.cnd.2021.04.005>
- Charpentier, S., 2011. Les biomarqueurs.
- Craig, M.E., Hattersley, A., Donaghue, K.C., 2009. Definition, epidemiology and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatr. Diabetes* 10 Suppl 12, 3–12. <https://doi.org/10.1111/j.1399-5448.2009.00568.x>
- Cui, Y., Zhang, H., Zhu, J., Liao, Z., Wang, S., Liu, W., 2022. Correlations of Salivary and Blood Glucose Levels among Six Saliva Collection Methods. *Int. J. Environ. Res. Public. Health* 19, 4122. <https://doi.org/10.3390/ijerph19074122>
- Effectiveness of Salivary Glucose as a Reliable Alternative in Diagnosis of Type 1 Diabetes Mellitus: A Cross-Sectional Study [WWW Document], n.d. . ResearchGate. URL [https://www.researchgate.net/publication/361993063\\_Effectiveness\\_of\\_salivary\\_glucose\\_as\\_a\\_reliable\\_alternative\\_in\\_diagnosis\\_of\\_type\\_1\\_diabetes\\_mellitus\\_A\\_cross-sectional\\_study](https://www.researchgate.net/publication/361993063_Effectiveness_of_salivary_glucose_as_a_reliable_alternative_in_diagnosis_of_type_1_diabetes_mellitus_A_cross-sectional_study) (accessed 6.5.25).
- Strimbu, K., Tavel, J.A., 2010. What are biomarkers? *Curr. Opin. HIV AIDS* 5, 463–466. [https://doi.org/10.1038/s41598-022-15430-0](https://doi.org/10.1097/COH.0b013e32833ed17Steigmann, L., Maekawa, S., Kauffmann, F., Reiss, J., Cornett, A., Sugai, J., Venegas, J., Fan, X., Xie, Y., Giannobile, W.V., Pop-Busui, R., Lombaert, I.M.A., 2022. Changes in salivary biomarkers associated with periodontitis and diabetic neuropathy in individuals with type 1 diabetes. <i>Sci. Rep.</i> 12, 11284. <a href=)
- SGI, n.d. Biomarqueurs [WWW Document]. Société Gastro-Intest. URL <https://badgut.org/centre-information/sujets-de-a-a-z/biomarqueurs/?lang=fr> (accessed 4.23.25).
- Peng, Y., Chen, X., Sato, T., Rankin, S.A., Tsuji, R.F., Ge, Y., 2012. Purification and high-resolution top-down mass spectrometric characterization of human salivary  $\alpha$ -amylase. *Anal. Chem.* 84, 3339–3346. <https://doi.org/10.1021/ac300083y>
- Maritim, A.C., Sanders, R.A., Watkins, J.B., 2003. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 17, 24–38. <https://doi.org/10.1002/jbt.10058>

- López del Valle, L.M., Ocasio-López, C., Steffen, M., 2015. Comparison of Levels of Salivary Cytokines in Diabetic and Nondiabetic Puerto Rican Children: A Case-control Pilot Study. *Pediatr. Dent.* 37, 30–34.
- Lalla, E., Cheng, B., Lal, S., Tucker, S., Greenberg, E., Goland, R., Lamster, I.B., 2006. Periodontal changes in children and adolescents with diabetes: a case-control study. *Diabetes Care* 29, 295–299. <https://doi.org/10.2337/diacare.29.02.06.dc05-1355>
- Ladgotra, A., Verma, P., Raj, S.S., 2016. Estimation of Salivary and Serum Biomarkers in Diabetic and Non Diabetic Patients - A Comparative Study. *J. Clin. Diagn. Res. JCDR* 10, ZC56–ZC61. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/19135.7995>
- Ittichaicharoen, J., Chattipakorn, N., Chattipakorn, S.C., 2016. Is salivary gland function altered in noninsulin-dependent diabetes mellitus and obesity-insulin resistance? *Arch. Oral Biol.* 64, 61–71. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2016.01.002>
- Hirtz, C., Chevalier, F., Sommerer, N., Raingeard, I., Bringer, J., Rossignol, M., De Périere, D.D., 2006. Salivary protein profiling in type I diabetes using two-dimensional electrophoresis and mass spectrometry. *Clin. Proteomics* 2, 117–127. <https://doi.org/10.1385/CP:2:1:117>
- Hay-Lombardie, A., Bigot-Corbel, E., 2018. Biomarqueurs permettant le suivi de l'équilibre glycémique du patient diabétique. *Rev. Francoph. Lab.* 2018, 33–43. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(18\)30146-1](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(18)30146-1)
- Gale, E.A.M., 2002. The rise of childhood type 1 diabetes in the 20th century. *Diabetes* 51, 3353–3361. <https://doi.org/10.2337/diabetes.51.12.3353>
- 7
- Tabak, L.A., 2001. A revolution in biomedical assessment: the development of salivary diagnostics. *J. Dent. Educ.* 65, 1335–1339.
- Tenenbaum, M., Bonnefond, A., Froguel, P., Abderrahmani, A., 2018. Physiopathologie du diabète. *Rev. Francoph. Lab.* 2018, 26–32. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(18\)30145-X](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(18)30145-X)
- Ahmadiashar, A., Mohsenifard, M.R., Mazloomzadeh, S., 2015. Evaluation of Serum & Salivary IgA in Patients with Type 1 Diabetes. *PLoS ONE* 10, e0122757. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122757>
- Akkemik, Ö., Kesim, S., Çabuk Renklibay, E., Ökdemir, D., Saraymen, R., Kurtoglu, S., 2023. Saliva and GCF cytokine levels in insulin-dependent diabetic teens and their relationship with metabolic status and disease duration. *Pediatr. Dent. J.* 33, 192–198. <https://doi.org/10.1016/j.pdj.2023.10.002>
- Bellagambi, F.G., Lomonaco, T., Salvo, P., Vivaldi, F., Hangouët, M., Ghimenti, S., Biagini, D., Di Francesco, F., Fuoco, R., Errachid, A., 2020. Saliva sampling: Methods and devices. An overview. *TrAC Trends Anal. Chem.* 124, 115781. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115781>
- Brignot, H., Feron, G., 2021. Rôle de la salive dans la perception sensorielle et introduction aux pratiques analytiques. *Cah. Nutr. Diététique* 56, 234–248. <https://doi.org/10.1016/j.cnd.2021.04.005>
- Charpentier, S., 2011. Les biomarqueurs.

- Cui, Y., Zhang, H., Zhu, J., Liao, Z., Wang, S., Liu, W., 2022. Correlations of Salivary and Blood Glucose Levels among Six Saliva Collection Methods. *Int. J. Environ. Res. Public. Health* 19, 4122. <https://doi.org/10.3390/ijerph19074122>
- Effectiveness of Salivary Glucose as a Reliable Alternative in Diagnosis of Type 1 Diabetes Mellitus: A Cross-Sectional Study [WWW Document], n.d. . ResearchGate. URL [https://www.researchgate.net/publication/361993063\\_Effectiveness\\_of\\_salivary\\_glucose\\_as\\_a\\_reliable\\_alternative\\_in\\_diagnosis\\_of\\_type\\_1\\_diabetes\\_mellitus\\_A\\_cross-sectional\\_study](https://www.researchgate.net/publication/361993063_Effectiveness_of_salivary_glucose_as_a_reliable_alternative_in_diagnosis_of_type_1_diabetes_mellitus_A_cross-sectional_study) (accessed 6.5.25).
- Hay-Lombardie, A., Bigot-Corbel, E., 2018. Biomarqueurs permettant le suivi de l'équilibre glycémique du patient diabétique. *Rev. Francoph. Lab.* 2018, 33–43. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(18\)30146-1](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(18)30146-1)
- Hirtz, C., Chevalier, F., Sommerer, N., Raingeard, I., Bringer, J., Rossignol, M., De Périere, D.D., 2006. Salivary protein profiling in type I diabetes using two-dimensional electrophoresis and mass spectrometry. *Clin. Proteomics* 2, 117–127. <https://doi.org/10.1385/CP:2:1:117>
- Ittichaicharoen, J., Chattipakorn, N., Chattipakorn, S.C., 2016. Is salivary gland function altered in noninsulin-dependent diabetes mellitus and obesity-insulin resistance? *Arch. Oral Biol.* 64, 61–71. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2016.01.002>
- Ladgotra, A., Verma, P., Raj, S.S., 2016. Estimation of Salivary and Serum Biomarkers in Diabetic and Non Diabetic Patients - A Comparative Study. *J. Clin. Diagn. Res. JCDR* 10, ZC56–ZC61. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/19135.7995>
- Lalla, E., Cheng, B., Lal, S., Tucker, S., Greenberg, E., Goland, R., Lamster, I.B., 2006. Periodontal changes in children and adolescents with diabetes: a case-control study. *Diabetes Care* 29, 295–299. <https://doi.org/10.2337/diacare.29.02.06.dc05-1355>
- López del Valle, L.M., Ocasio-López, C., Steffen, M., 2015. Comparison of Levels of Salivary Cytokines in Diabetic and Nondiabetic Puerto Rican Children: A Case-control Pilot Study. *Pediatr. Dent.* 37, 30–34.
- Maritim, A.C., Sanders, R.A., Watkins, J.B., 2003. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 17, 24–38. <https://doi.org/10.1002/jbt.10058>
- Peng, Y., Chen, X., Sato, T., Rankin, S.A., Tsuji, R.F., Ge, Y., 2012. Purification and high-resolution top-down mass spectrometric characterization of human salivary  $\alpha$ -amylase. *Anal. Chem.* 84, 3339–3346. <https://doi.org/10.1021/ac300083y>
- SGI, n.d. Biomarqueurs [WWW Document]. Société Gastro-Intest. URL <https://badgut.org/centre-information/sujets-de-a-a-z/biomarqueurs/?lang=fr> (accessed 4.23.25).
- Strimbu, K., Tavel, J.A., 2010. What are biomarkers? *Curr. Opin. HIV AIDS* 5, 463–466. <https://doi.org/10.1097/COH.0b013e32833ed177>
- Tabak, L.A., 2001. A revolution in biomedical assessment: the development of salivary diagnostics. *J. Dent. Educ.* 65, 1335–1339.



- Tenenbaum, M., Bonnefond, A., Froguel, P., Abderrahmani, A., 2018. Physiopathologie du diabète. Rev. Francoph. Lab. 2018, 26–32. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(18\)30145-X](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(18)30145-X)
- Wissam, Z.B., Salima, D., Zohra, C.F., Ahlem, L., 2016 . Spécialité : Analyse biologique et biochimique Mémoire de fin d'études
- Slomiany, B.L., Murty, V.L.N., Piotrowski, J., Slomiany, A., 1996. Salivary mucins in oral mucosal defense. Gen. Pharmacol. Vasc. Syst. 27, 761–771. [https://doi.org/10.1016/0306-3623\(95\)02050-0](https://doi.org/10.1016/0306-3623(95)02050-0)
- Roblegg, E., Coughran, A., Sirjani, D., 2019. Saliva: An all-rounder of our body. Eur. J. Pharm. Biopharm. 142, 133–141. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2019.06.016>
- olliewood, 2024. Lysozyme : découverte de l. OLLIEWOOD. URL <https://olliewood.fr/lysozyme-ce-que-cest-caracteristiques-structure-types-et-fonctions/> (accessed 4.24.25).
- Malathi, Rajesh, E., Babu, N.A., Jimson, S., 2016. Saliva as A Diagnostic Tool. Biomed. Pharmacol. J. 9, 867–870.
- Pappa, E., Vastardis, H., Mermelekas, G., Gerasimidi-Vazeou, A., Zoidakis, J., Vougas, K., 2018. Saliva Proteomics Analysis Offers Insights on Type 1 Diabetes Pathology in a Pediatric Population. Front. Physiol. 9, 444. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00444>
- Humphrey, S.P., Williamson, R.T., 2001. A review of saliva: Normal composition, flow, and function. J. Prosthet. Dent. 85, 162–169. <https://doi.org/10.1067/mpr.2001.113778>
- Dany, G., 2012. DIPLÔME D'ETAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE.
- Brignot, H., Feron, G., 2021. Rôle de la salive dans la perception sensorielle et introduction aux pratiques analytiques. Cah. Nutr. Diététique 56, 234–248. <https://doi.org/10.1016/j.cnd.2021.04.005>

# *Annexe*

## Annexe

### Composition des gels d'électrophorèse

#### Gel de séparation : T : 12,52% C : 0,97%

- ❖ Acrylamide 40% 12,4ml
- ❖ Bis acrylamide 2% 2,4 ml
- ❖ Eau permutée 8,6 ml
- ❖ Tampon Tris-HCL pH 8,8 15,2ml
- ❖ SDS 10% 0,40 ml
- ❖ APS 1% 1 ml
- ❖ TEMED 0,020 ml

#### Gel de concentration : T : 2,88% C : 1,42%

- ❖ Acrylamide 40% 1ml
- ❖ Bis acrylamide 2% 0,3 ml
- ❖ Eau permutée 10,2 ml
- ❖ Tampon Tris-HCL pH 6,8 1,7 ml
- ❖ SDS 10% 0,14 ml
- ❖ APS 1% 0,70 ml
- ❖ TEMED 0,014 ml

Année universitaire : 2024/2025	Présenté par : GACEM Hiba Malek Errahmen BOUTOUIL Nada Sherifa BENHAMOUDA Cheyma
Mémoire pour l’obtention du diplôme de Master en Biotechnologie et Biothérapie	
Recherche de biomarqueurs salivaires chez les enfants atteints de diabète insulino-dépendant (DT1)	
<p>Résumé</p> <p>Le diabète de type 1 (DT1) est une pathologie auto-immune survenant principalement chez les enfants, caractérisée par la destruction des cellules <math>\beta</math> pancréatiques et une carence absolue en insuline. Les méthodes diagnostiques conventionnelles, reposant essentiellement sur des prélèvements sanguins, se révèlent souvent contraignantes pour les jeunes patients. Dans ce contexte, l’utilisation de la salive comme fluide biologique alternatif, riche en protéines, enzymes et cytokines, émerge comme une approche prometteuse pour le dépistage et le suivi non invasifs du DT1.</p> <p>L’objectif de ce travail est d’explorer le profil protéique salivaire des enfants atteints de diabète insulino-dépendant afin d’identifier des biomarqueurs potentiels de la maladie. Une étude expérimentale a été menée sur 17 enfants diabétiques âgés de 4 à 14 ans, comparés à un témoin sain. Des échantillons de salive ont été recueillis puis analysés par électrophorèse SDS-PAGE en conditions dénaturantes et réductrices, dans le but de caractériser qualitativement et quantitativement les protéines salivaires. L’analyse des profils électrophorétiques a permis d’identifier plusieurs bandes protéiques spécifiques aux patients diabétiques, absentes chez le sujet témoin, notamment des bandes de 71,7 kDa et 89,5 kDa. Certaines de ces protéines pourraient être associées à des états inflammatoires ou métaboliques caractéristiques du DT1. L’étude a également mis en évidence une grande variabilité interindividuelle dans la composition protéique salivaire, soulignant la complexité du profil biologique des patients.</p> <p>Une analyse statistique a été réalisée afin d’évaluer la similarité des profils, d’établir des diagrammes types et de générer un dendrogramme illustrant les regroupements selon la composition protéique. Ces résultats suggèrent que certaines protéines salivaires pourraient constituer des biomarqueurs discriminants du diabète de type 1 chez l’enfant.</p> <p>Ce travail confirme le potentiel de la salive comme outil diagnostique non invasif dans le DT1, et ouvre la voie à de futures investigations centrées sur l’identification, la validation et l’exploitation clinique de biomarqueurs salivaires dans le domaine du diabète pédiatrique</p>	
Mots clés : Diabète de type 1 (DT1), Biomarqueurs salivaires, Protéines salivaires, Electrophorèse SDS/PAGE	
Jury d’évaluation : Président du jury : Dr. BENCHIHEUB Meriem Encadreur : Pr. BELIL.Ines Examineur : Dr. ADJEROUD Moussa	