

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Blida I

Faculté des sciences de la nature et la vie
Département de Biologie et physiologie cellulaire



Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de
Master en science de la nature et de la vie

Filière : Biologie

Option: Génétique et physiologie

Thème

**Recherche d'une association entre la
vitamine D et le diabète auto-immun chez
la population Algérienne**

Présenté par : M^{elle} FERHAT Amina

Date de soutenance : 09/10/2014

Devant le jury composé de :

Mr BENYAHIA N	Maitre Assistant A	President
Mme SAADI .L	Maitre de conférences A	Examinatrice
Mr MOHAMED SAID .R	Maitre Assistant A	Examinateur
Dr. RAACHE. R	Maitre de Conférences A (FSB-USTHB)	Promotrice
Mme. AISSANI. R	Maitre Assistante A (FSNV)	Co-promotrice
Dr. AZZOUZ M	Maitre Assistante A (CHU-Mustapha)	Invitée

Promotion 2013/2014

Remerciements :

En préambule à ce mémoire, je souhaitais adresser mes remerciements les plus sincères aux personnes qui m'ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de cette formidable année universitaire.

À Madame *RACHÈE* Rachida ;

Merci de m'avoir fait l'honneur de m'accueillir parmi votre groupe et me proposer ce thème. Je vous remercie pour votre soutien et aide et vous adressez mes sincères remerciements et mon plus profond respect.

Mes remerciements s'adressent également à Mes dames *ASSANJ* Radhia et Dr *ALLOUZ*, pour leurs générosités et la grande patience dont elles ont su faire preuve malgré ses charges académiques et professionnelles.

Je tenais également à remercier les membres de jury pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant de présider ma soutenance, tout particulièrement :

Mr *BENYAHIA*. N pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.

Je souhaite exprimer ma gratitude à Mme *SADJ* et à Mr *MOHAMMED SADI*. R pour avoir fait de lecture mon mémoire, l'examiner à fin de l'évaluer. Je vous remercie pour l'intérêt que vous avez porté à ce travail et pour vos précieux conseils et remarques.

Je remercie notre responsable d'option Mr *MOHAMMED SADI*. R pour l'encouragement qu'il tient pour nous .

Je remercie Mr *IBRAHIM RAHMANI* pour son temps et pour son aide. Je exprime ma gratitude à toutes mes collègues rencontrés lors des recherches effectuées et qui ont accepté de répondre à mes questions avec gentillesse.

Je n'oublie pas mes parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience. Je tiens à exprimer ma reconnaissance envers Madame *RACHÈE* qui a eu la gentillesse de lire et corriger ce travail.

Enfin, j'adresse mes plus sincères remerciements à tous mes proches et amis, qui m'ont toujours soutenue et encouragée au cours de la réalisation de ce mémoire.

Merci à tous et à toutes.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à

Mes parents :

Merci pour votre support et encouragement pendant toute ma vie ...

Merci d'avoir cru en moi ...

Ma jumelle, seule et unique sœur Jbtissem :

Merci pour être l'amie et la sœur

Mes amies :

*Hadjer , Iméne , sina , Isma , K. Housoud , Dhayae , Esma , Saida
et Hiba et Mohamed .*

Merci d'avoir croyez en moi

Listes des Figures

Figure 1 : Structure de la vitamine D	02
Figure 2 : Synthèse et métabolisme de la vitamine D	04
Figure 3: Rôles de la vitamine D sur le métabolisme phosphocalcique	05
Figure 4 : Vitamine D Immunomodulateur	06
Figure 5 : Régulation de la balance du système immunitaire par la vitamine D	07
Figure 6 : Récepteur nucléaire de la vitamine D	08
Figure 7: les allèles de gène de récepteur de la vitamine	08
Figure 8: Modulation de l'activité transcriptionnelle par la Vitamine D	09
Figure 9 : Génétique de diabète type 1.....	10
Figure 10: Facteurs déclenchant	12
Figure 11: Phase effectrice de la réponse immunitaire au cours du DT1	12
Figure 12: Actions non calcémiques ou squelettiques de la vitamine D2et mise en évidence de la synthèse autocrine de 1,25(OH)D	13
Figure 13: Transplantation pancréatique	14
Figure 14 : comparaison de la concentration de la vit D et de la PTH entre les témoins Algériens et Européens	22
Figure 15: comparaison de la concentration de la vitamine D et hormone parathyroïdienne Chez les témoins en fonction du sexe	23
Figure 16 : Comparaison de la concentration de la vitamine D, et la PTH chez les témoins en fonction de l'âge	24
Figure 17: Comparaison de la concentration de la vitamine D et la PTH entre les patients et les témoins	26
Figure 18 : Comparaison de la concentration d'autres paramètres entre les patients et les témoins	26
Figure 19: Comparaison de la concentration de la VD3 chez les patients en fonction de la durée du diabète	27
Figure 20: Comparaison de la concentration de cholestérol et triglycéride entre les patients et les témoins algériens	28

Figure 21 : Comparaison de la concentration d'urée, créatinine et l'acide urique et entre les patients et les témoins algériens	29
Figure 22 : Comparaison de la concentration du bilan ionotropes entre les patients et les témoins algériens	31
Figure 23: Corrélation entre Vitamine D et HbA1c chez les diabètes type 1.....	32
Figure 24: Corrélation entre la Vitamine D et Pep C	32
Figure 25: Corrélation entre la Vitamine D et la PTH	33
Figure 26: Corrélation entre la Vitamine D et l'ancienneté du diabète	33
Figure 27: Corrélation entre la Vitamine D et l'insuline chez les diabètes type	34
Figure 28: Corrélation entre la Vitamine D et le cholestérol total chez les diabètes type 1 ...	34
Figure 29 : Corrélation entre la PTH et HbA1c chez les diabètes type 1.....	35
Figure 30 : Corrélation entre la Vitamine D et le Soduim chez les diabètes type 1.....	35
Figure 31 : Corrélation entre la Vitamine D et la Phosphorémie chez les diabètes type 1.....	36
Figure 32 : Corrélation entre la Vitamine D et le Calcium chez les diabètes type 1.....	36
Figure 33 : Corrélation entre la Vitamine D et le Potassium chez les diabètes type 1.....	37
Figure 34 Fréquences de la Vitamine D chez les diabètes type 1 chez différents populations	38
Figure 35: Le niveau moyen de (25OH)D (nmol/L) chez les DT1M chez différentes population	38
Figure 36 : Les effets immunomodulateurs de 1, 25(OH)D	39

Liste des abréviations

1-OHase : 1- α -hydroxylase
7-DHC : 7- déhydrocholestérol
24-OHase : D-24-hydroxylase
25(OH) D : 25-hydroxyvitamine D
ADN : Acide DésoxyriboNucléique
CD : cluster de différenciation
CHU : Centre Hospitalo-universitaire Mustapha.
CMH : complexe majeur d'histocompatibilité
DBP: vitamin D Binding Protein
DT1: Diabète de Type 1
FGF23: Fibroblast growth factor
GAD : Glutamate acide décarboxylase
HbA1C : hémoglobine glyquée
HLA : Human Leukocyte Antigens
IFN γ : Interféron gamma
IgE : Immuno Globuline E
IL-2: Interleukine
NOD : Non Obese Diabetic
Ng/ml : nanogramme/ml
Pep C : Peptide C
Pg/ml : picogramme/ml
PTH: Parathormone
UI : Unité internationale
 μ g/j : microgramme / jour
Vs : versus
Vit D : Vitamine D
VD2 : Vitamine D2
VD3 : Vitamine D3
VDR : Récepteur de la vitamine D
VDRE : Element de réponse de la vitamine D

I -Introduction

La vitamine D hormone liposoluble a fait l'objet de nombreux travaux récents sur son association avec l'apparition, l'amélioration ou l'aggravation de nombreuses maladies auto immunes (Vivien, 2013). Outre son rôle important dans plusieurs processus physiologiques, dans l'homéostasie calcique et l'ossification. Elle intervient dans la régulation du système immunitaire (Salle et *al* ,2012). Son récepteur nucléaire est impliqué dans une large variété de voies métaboliques (Lang, 2013) en intervenant directement dans le contrôle de plus de 500 gènes .Que se soit synthétisée par la peau, apportée par l'alimentation ou sous forme de supplément (Bahri et *al* ,2013)..

La carence en vitamine D pourrait être un facteur environnemental important impliqué à la fois dans le développement et dans la pérennisation des maladies auto-immunes (Yoland et *al* 2013) dont le diabète type 1 (Schoindre et *al* ,2012).Des études fondamentales, génétiques et épidémiologiques tendent à montrer le rôle potentiellement bénéfique de la vitamine D dans la prévention et dans le traitement des maladies auto-immunes (Yoland et *al* 2013).

Dans ce contexte, il a été évoqué un lien entre la vitamine D et le diabète de type 1. En effet, la Vitamine pourrait interagir avec les différents mécanismes physiopathologiques régissant l'insulinosécrétion, l'insulinorésistance et les paramètres de l'homéostasie glucidique.

Elle pourrait également intervenir sur les complications et la durée de diabète. Cette notion récente permet une ouverture vers de nouvelles stratégies dans le traitement du diabète de type 1.

Dans le cadre de ce travail, nous nous somme fixé comme objectifs :

- La détermination des normes des concentrations de la vitamine D sérique chez les témoins algériens par la technique de chimiluminescence.
- Le dosage sérique de la vitamine D, la parathormone chez les sujets diabétiques de type 1 et comparaison des concentrations avec les témoins.
- Etudes de la corrélation entre la vitamine D et les différents paramètres biochimiques, lipidiques et ionotropiques.
- Extraction de l'ADN génomique chez les patients et les témoins par la technique de salting out, suivie du contrôle qualitative et quantitative. Les ADN des différents échantillons sont destinés pour l'étude du polymorphisme du récepteur de la vitamine D (VDR) (étude ultérieure).

- II - Rappels

II- 1 La vitamine D

II- 1 -1. Définition

La vitamine D est considérée comme une pré-pro-hormone liposoluble qui fait partie des sécostéroïdes (Murry, 2011). Pour devenir pleinement active, elle subit des hydroxylations aux endroits différents (Courbebaisse et *al*, 2011).

II- 1 -2. Les origines de la vitamine D

Elle existe sous 2 formes qui sont toutes deux converties en leur principal métabolite actif : la 1,25-dihydroxyvitamine D ou Calcitriol (Vivien, 2012). La vitamine D2 ou ergocalciférol diffère de la D3 par de petites différences dans la chaîne latérale (un CH₃ et une double liaison supplémentaires) (Mallet, 2014).

II- 1 -2- a La Vitamine D2 ou ergocalciférol (figure 1. A) qui est la forme végétale de la vitamine D et d'origine exogène uniquement (les levures, les champignons, les céréales et les végétaux) (Murry, 2011) et peut être apportée par les médicaments lors d'une supplémentation en vitamine D (Vivien, 2012) non absorbée dans le tractus digestif de l'homme. Son précurseur, la provitamine D2 ou ergostérol, est un dérivé du cholestérol. Sous l'action des UV, le cycle B de l'ergostérol s'ouvre et ensuite, sous l'effet de la température, survient une isomérisation : une double liaison se déplace donnant l'ergocalciférol (Murry, 2011).

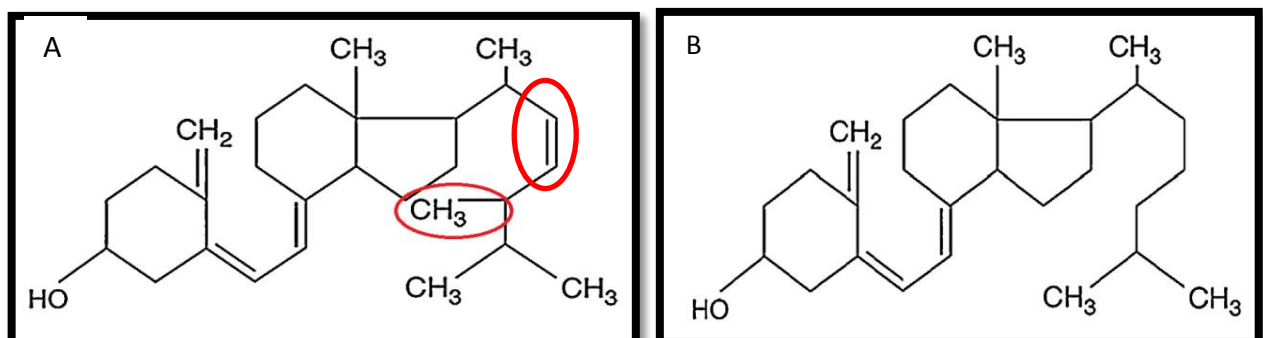
II- 1 -2- b La Vitamine D3 ou cholécalciférol (figure 1.B) à deux origines :

- Origine endogène

Elle est synthétisée par la peau (couche profonde de l'épiderme) à partir du 7-déhydrocholestérol (7-DHC) issu du cholestérol sous l'effet des rayonnements UVB de longueur d'onde (290 et 315 nm). Le 7-DHC est alors converti en pré-vitamine D3 (VD3) en ouvrant le cycle B. Une fois formée, cette dernière subit une isomérisation thermique formant soit le cholécalciférol ou VD3, soit des dérivés inactifs (lumistérol et tachystérol) (Murry, 2011).

- Origine exogène (Annexe 1)

Elle est retrouvée dans les rares sources alimentaires animales telles que les poissons gras (hareng, saumon, sardine, anchois, maquereau...) et les œufs essentiellement (Murry, 2011).



A- la vitamine D2 ou ergocalciférol

B - Vitamine D3 ou cholécalciférol

Le cercle en rouge signifie la différence entre les deux molécules.

II- 1 - 3 Métabolisme de la vitamine D (Figure 2)

Durant l'exposition solaire, et plus particulièrement aux ultraviolets B de longueur d'onde 290 à 315 nm, le 7-déhydrocholestérol dans la peau est transformé en pré-vitamine D3 immédiatement convertie en vitamine D3 (cholécalférol) par processus thermique. Cependant, une exposition excessive au soleil dégrade dans la peau la prévitamine D3 et la vitamine D3 en un métabolite inactif.

Cette vitamine D dans la circulation est liée à une protéine (VDBP ou *vitamine D binding protein*), transportée au foie où elle est convertie en 25-hydroxyvitamine D [25(OH) D] par une vitamine D 25-hydroxylase.

Le métabolite correspond à la forme prépondérante de vitamine D circulante dosée à un taux de l'ordre du nanogramme/ml (ng/ml) et constituant, pour le clinicien, un index du statut vitaminique D de l'organisme. Cependant, ce métabolite n'est pas actif et doit être converti par le rein en 1,25(OH)2D, forme biologiquement active de la vitamine D par une 25-hydroxyvitamine D1- α -hydroxylase (1-OHase), dosé à un taux faible de l'ordre du (pg/ml) (Mallet, 2014). Cette enzyme est un complexe incluant un cytochrome P450 spécifique : CYP27B1. Au niveau de ce tubule contourné proximal le calcitriol induit un rétrocontrôle négatif sur sa propre synthèse en inhibant la 25(OH) D-1-alpha-hydroxylase. Une production extra-rénale de calcitriol existe mais celui-ci ne participe pas au pool circulant. Il contribue plutôt à un apport local pour des cellules cibles proches des reins correspondant à un système de sécrétion autocrine/paracrine

Une fois le rôle du 1,25(OH)2D réalisé, il y a une induction de l'expression d'une 24-hydroxylase qui le catabolise en un métabolite inactif, l'acide calcitroïque. De plus, ce 1,25(OH)2D produit localement ne pénètre pas dans la circulation et n'a donc pas d'influence sur le métabolisme du calcium. Les glandes parathyroïdes comportent une activité 1-hydroxylase, et le 1,25(OH)2D produit inhibe l'expression et la synthèse de parathormone. Quant au 1,25(OH)2D produit dans le rein, il pénètre dans le secteur plasmatique, freinant la sécrétion de rénine par le rein, mais va aussi stimuler au niveau du pancréas la sécrétion d'insuline par les cellules bêta (Mallet, 2014).

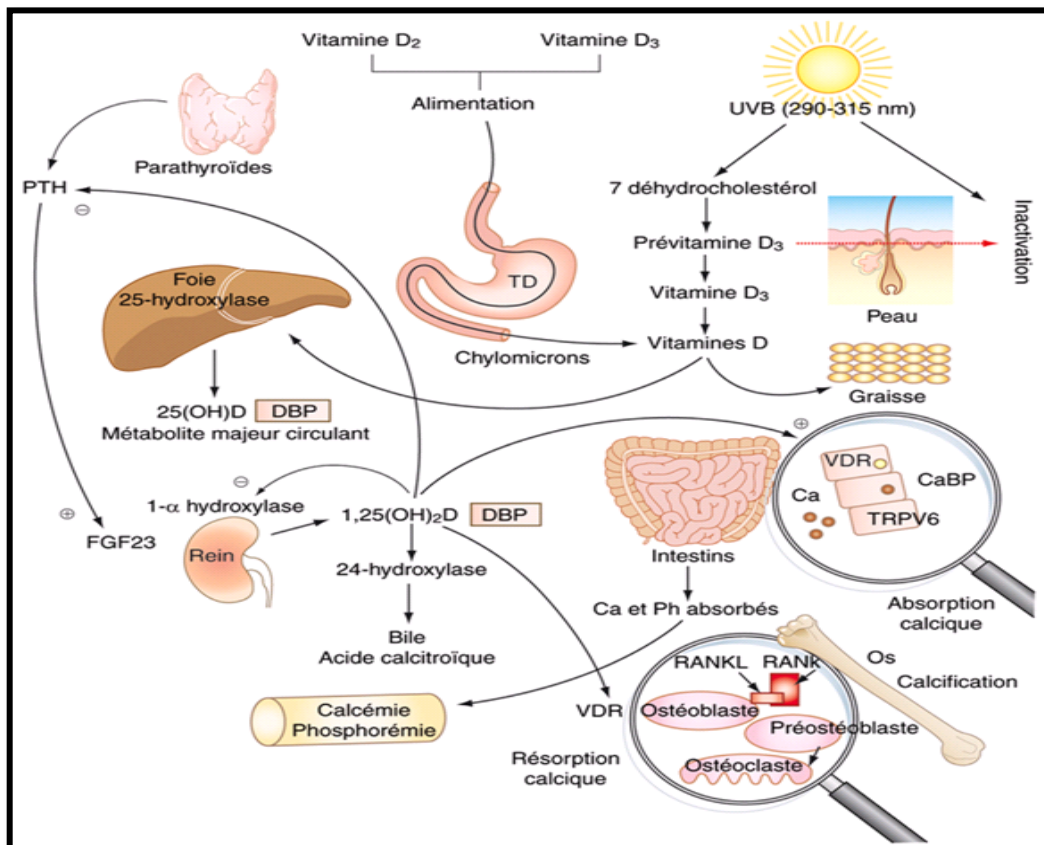


Figure 2 : Synthèse et métabolisme de la vitamine D (Mallet, 2014)

II- 1 - 4 Mécanismes de régulation

C'est au niveau de l'enzyme **1 α -hydroxylase** rénale que s'effectue le contrôle de la concentration en vitamine D active. L'hydroxylation rénale est régulée par différents systèmes selon les besoins de l'organisme (Murry, 2011) :

- ✓ **la PTH** (parathormone ou hormone parathyroïdienne) stimule l'expression de la 1 α -hydroxylase et donc la conversion de la 25 OHD en 1,25 (OH) 2 D. A l'inverse, la vitamine D exerce un rétrocontrôle négatif sur la synthèse de PTH en inhibant la synthèse par les glandes parathyroïdes
- ✓ **la calcitonine** stimule l'expression de la 1 α -hydroxylase et celle de PTH.
- ✓ **l'hypocalcémie** et **l'hypophosphatémie** stimulent l'expression de la 1 α -hydroxylase. A l'inverse l'hypercalcémie et l'hyperphosphatémie l'inhibe.
- ✓ **Le FGF23** qui est un facteur libéré par l'os en croissance, témoin d'un climat phospho,calcique satisfaisant, effectue un rétrocontrôle négatif sur la 1 α -hydroxylase et stimule la synthèse de la 24- hydroxylase. De plus, il diminue directement l'absorption phosphocalcique intestinale et la réabsorption rénale. Ceci entraîne une diminution de concentration de 1,25 (OH)2 D. A l'inverse, la vitamine D exerce un rétrocontrôle positif sur la synthèse de FGF 23 par l'ostéocyte.
- ✓ **le taux de 1,25 (OH)2 D** circulant s'autorégule lui-même : un excès inhibe la production et l'activité de la 1 α -hydroxylase et stimule la 24,hydroxylase ce qui permet de réduire sa propre concentration.
- ✓ **d'autres hormones** stimulent la production de 1,25OH2D (insuline, prolactine, hormone de croissance).

La figure 3 illustre le métabolisme de la vitamine D ainsi que ses actions endocrines et paracrines.

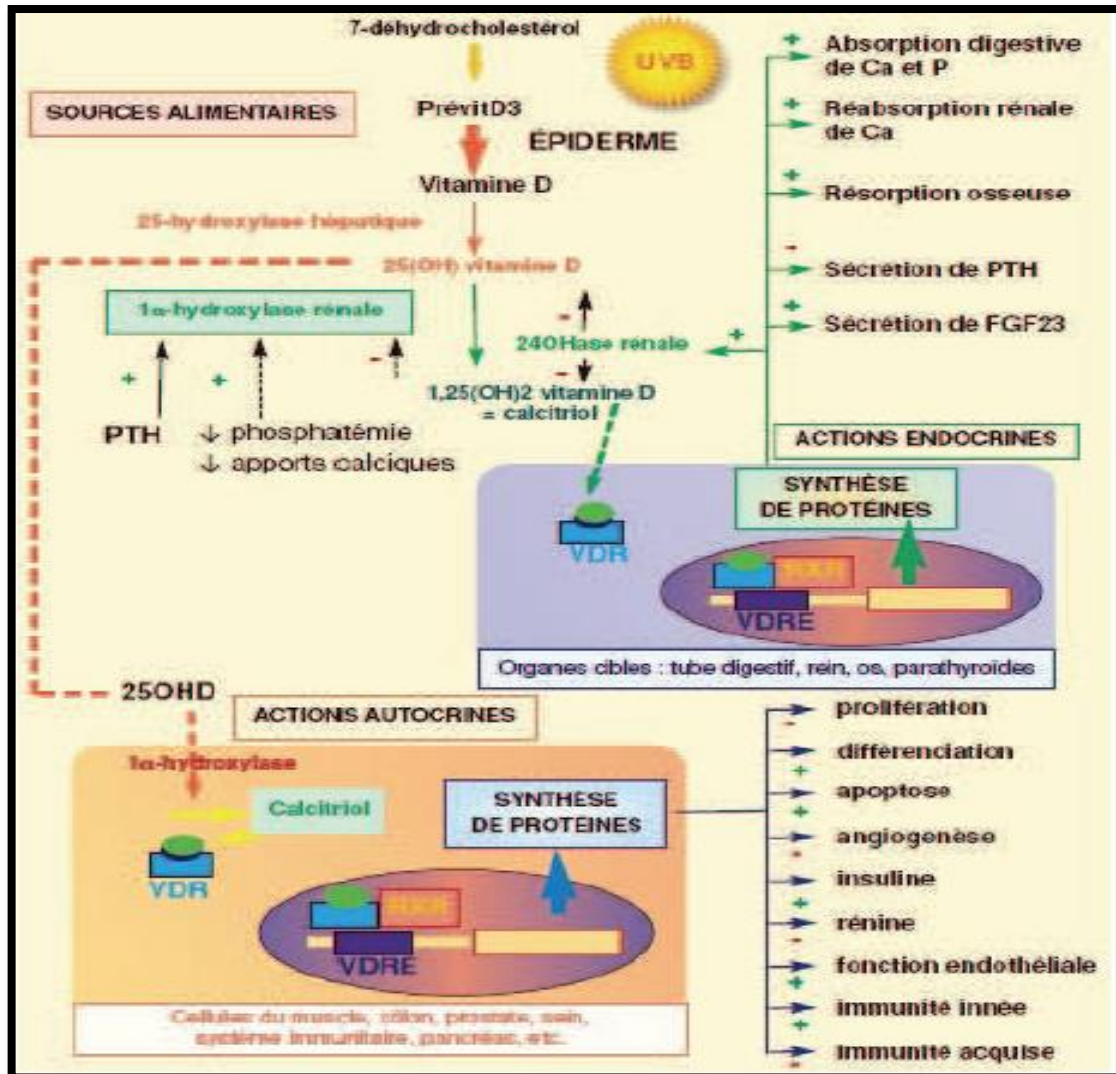


Figure 3: Rôles de la vitamine D sur le métabolisme phosphocalcique (Murry, 2011). effets osseux, en vert) et sur les autres métabolismes (effets extra-osseux en bleu)

II- 1-5 Vitamine D et système immunitaire

L'interaction avec le système immunitaire est l'un des effets non classiques de la VD le plus récemment démontré. Les potentiels effets sur la santé de cette immunomodulation ont été particulièrement mis en évidence avec la prise de conscience du statut déficitaire en VD des populations à travers le monde (Lang, 2013). Le récepteur nucléaire à la vitamine D (VDR) est exprimé par les cellules dendritiques et les monocytes-macrophages à l'état basal, et par les lymphocytes T et B essentiellement à l'état activé (Tableau I).

Les macrophages et certaines cellules dendritiques possèdent l'équipement enzymatique nécessaire aux deux étapes d'hydroxylation de la vitamine D native, alors que les lymphocytes T activés et les lymphocytes B n'expriment que la 1- α -hydroxylase. À la différence de l'enzyme rénale, la 1- α -hydroxylase exprimée par les cellules du système immunitaire n'est pas régulée par les paramètres du métabolisme phosphocalcique, mais par des stimuli immunologiques comme l'interféron- γ . Le calcitriol ainsi produit agirait sur le système immunitaire de façon intracrine, autocrine ou paracrine (Figure 4). (Schoindre et al ,2013).

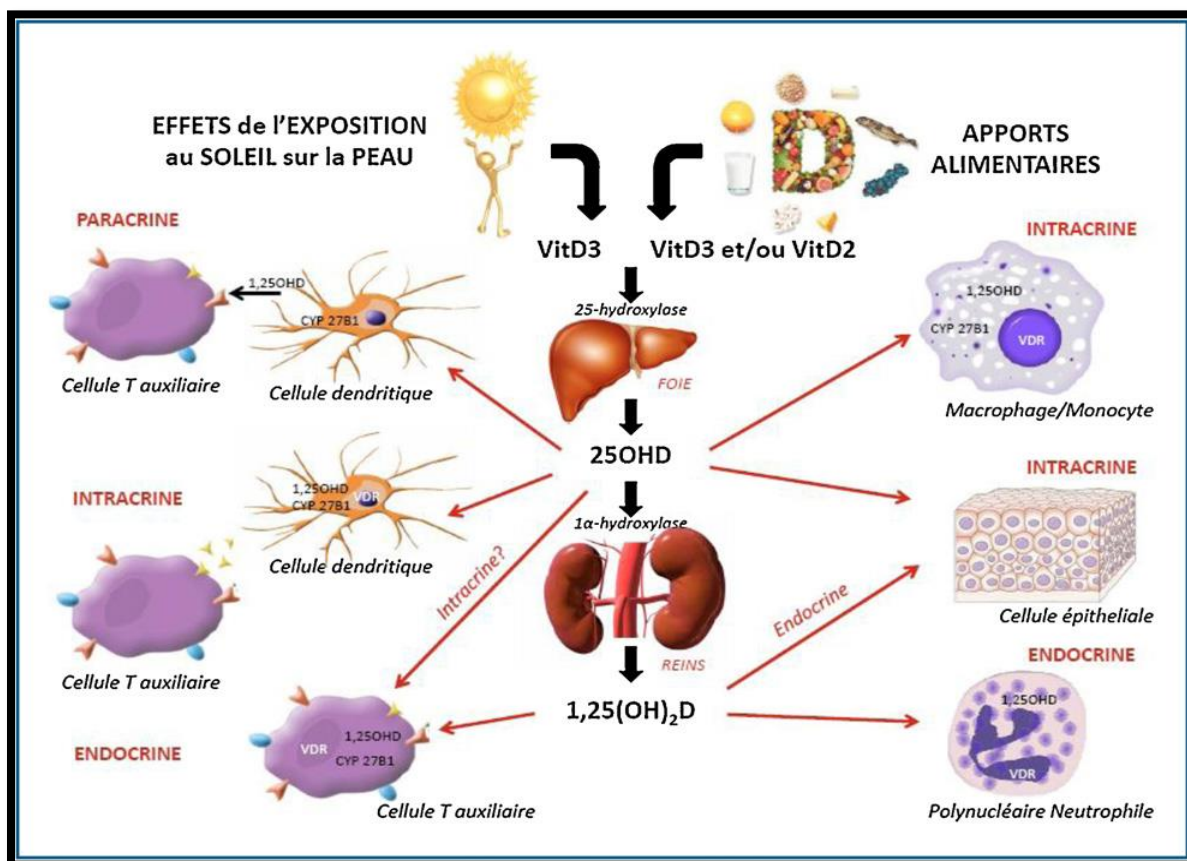


Figure 4 : Vitamine D Immunomodulateur (Lang, 2013)

Tableau I : Vitamine D et cellules immunitaires (Bouvard et al , 2010)

Cellules cibles	Effets médiés par la 1,25 (OH) D
Cellules présentat d'antigènes	Diminution de l'expression CMH II Diminution de l'expression des récepteurs de costimulation CD40, CD80, CD86 Diminution de la maturation des cellules dendritiques Augmentation : IL-10, FoxP3 Diminution : IL-2, IL-17, IL-1, IL-23, TNF-α
Lymphocytes T	Diminution : IFN -γ, IL-2, IL-6, IL-17 Augmentation : IL-4, IL-5
Lymphocytes B	Diminution : IgE
Cellules NK	Diminution : IFN -γ

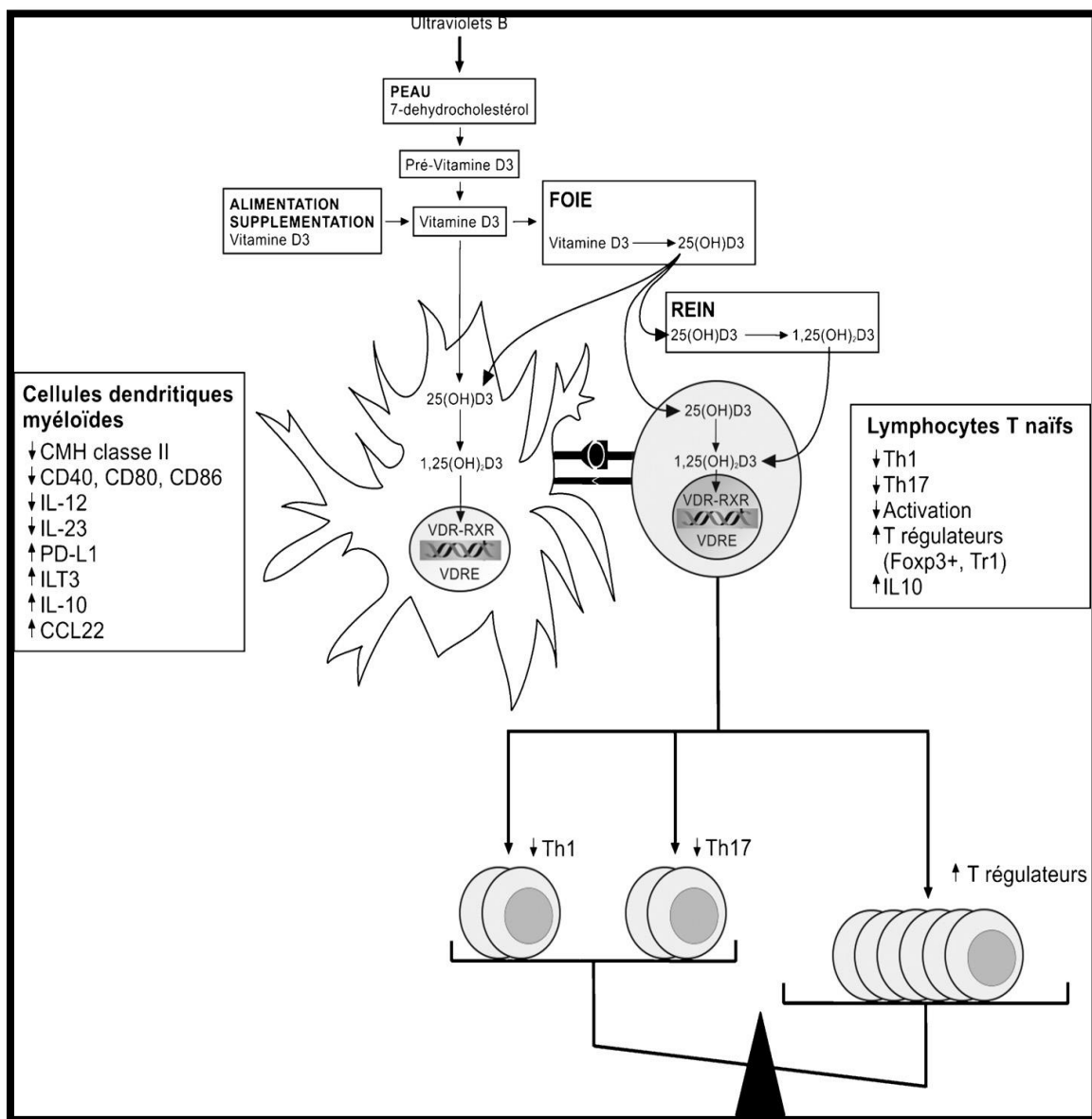


Figure 5 : Régulation de la balance du système immunitaire par la vitamine D (Schoindre et al, 2012).

II - 1 – 6 Vitamine D et auto-immunité

Des études épidémiologiques ont mis en évidence une relation entre une plus grande fréquence de certaines maladies auto-immunes (diabète de type 1, sclérose en plaques, polyarthrite rhumatoïde) et, soit de faibles apports de vitamine D, soit des concentrations basses de la 25OHD (Souberbielle et al, 2008).

Ces résultats sont cohérents avec des données expérimentales qui montrent que le calcitriol réduit la prolifération lymphocytaire et la production de certaines cytokines et peut atténuer ou même prévenir différentes maladies auto-immunes dans des modèles murins de sclérose en plaques, de lupus, de polyarthrite rhumatoïde et de DT1 (M. Courbebaisse et al, 2011). Le mécanisme de ces effets immunorégulateurs est en partie lié à la stimulation de la synthèse de TGF *transforming growth factor*)-β1 et d'interleukine-4 (IL4) et nécessite la présence de calcium (Mora et al ,2010).

II - 1 – 7 Mécanisme génomique de la vitamine D

Le gène des récepteurs spécifiques (VDR) (Figure 6 et 8) qui appartient à la superfamille des récepteurs nucléaires qui regroupe, outre les récepteurs aux divers stéroïdes, ceux des hormones thyroïdiennes et de l'acide rétinoïque (Guilhou, 2003).

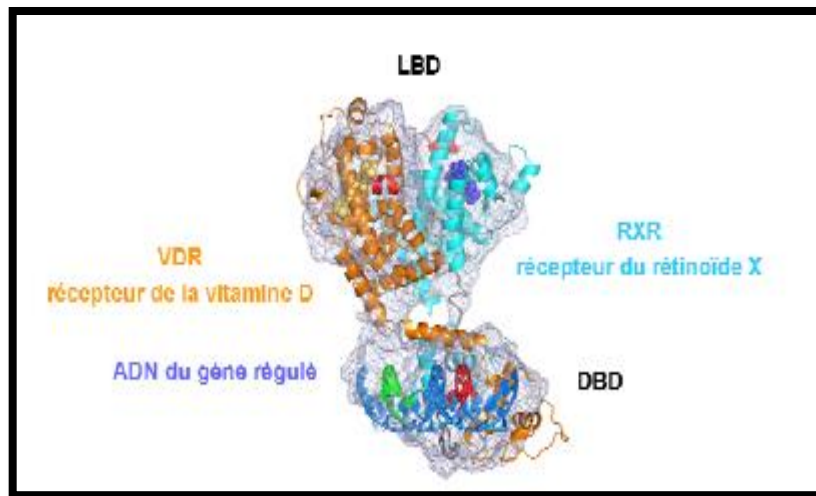


Figure 6 : Récepteur nucléaire de la vitamine D

Le VDR est situé sur le bras long du chromosome 12q12-q14 (Figure 7) et ses mutations sont responsables de la pathologie de DT1, et ses quatre polymorphismes communs ont été identifiés à savoir FokI (rs10735810), TAQI (rs731236), BSMI (rs1544410) et apaI (rs7975232). Un grand nombre d'études ont été publiées et qui ont étudiés l'association entre ces quatre polymorphismes avec le risque DT1 mais les résultats n'ont pas été concluants (Zhang *et al*, 2012).

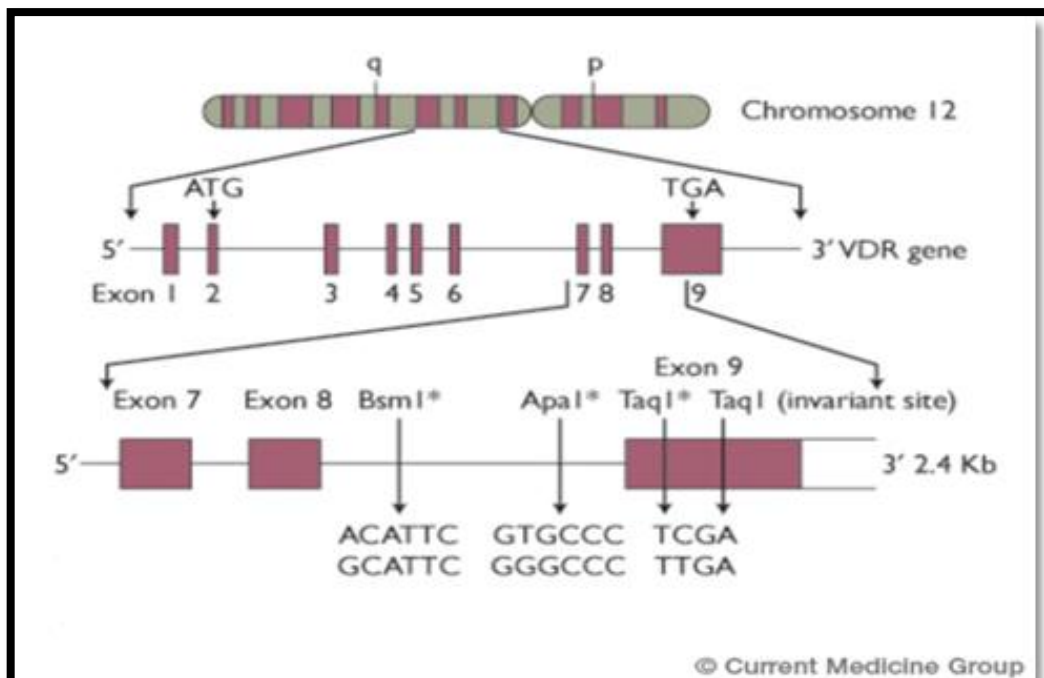


Figure 7: le gène de récepteur de la vitamine D (Klein et Robert, 2009)

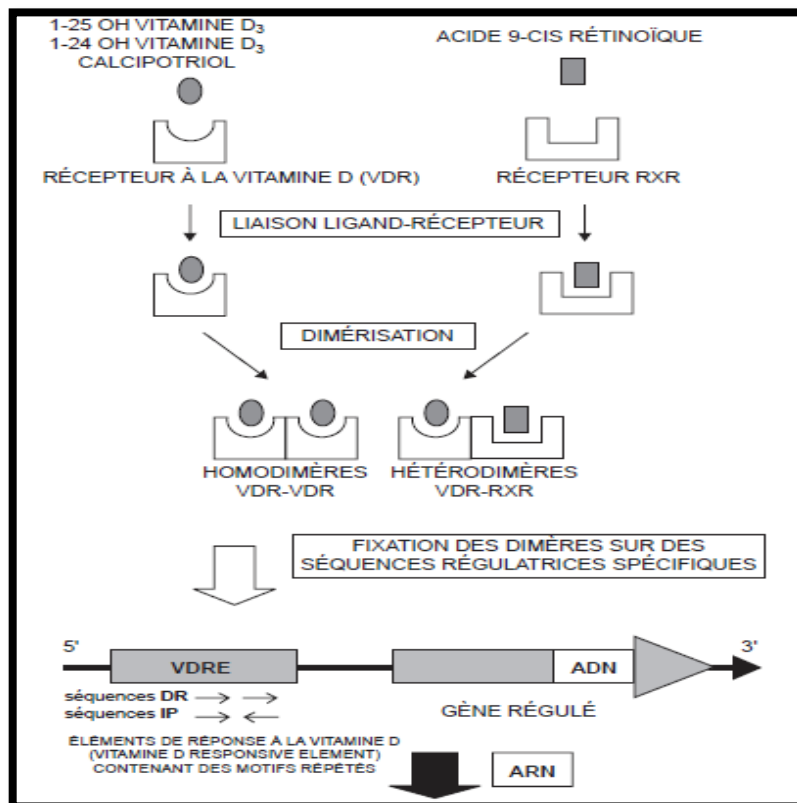


Figure 8: Modulation de l'activité transcriptionnelle par la Vitamine D (Guilhou, 2003)

II-2 Le Diabète type 1

II-2-1 Définition

Le diabète de type 1 résulte d'une insuffisance totale en insuline liée à la destruction de la plupart des cellules sécrétrices d'insuline du pancréas (cellules endocrines β des îlots de Langerhans). Il se caractérise par un syndrome cardinal de début brutal associant polyurie-polydipsie (l'augmentation de la quantité d'eau bue par jour et l'augmentation de la quantité d'urines émises par jour), polyphagie (sensation excessive et insatiable de faim), amaigrissement et asthénie. Il apparaît le plus souvent chez l'enfant et l'adolescent mais de plus en plus de cas sont diagnostiqués à l'âge adulte (Grimaldi, 2009).

II-2-2 Les causes du diabète type 1

Le diabète de type 1 est sous le contrôle d'un petit nombre de gènes qui interfèrent d'une part les uns avec les autres et d'autre part avec des facteurs d'environnement. À ce titre, le diabète de type 1 doit être considéré comme une maladie complexe (Concannon et al, 2009).

II-2-2 .a : Génétique du diabète de type 1

Les études de famille ont permis de caractériser les risques respectifs que confère l'existence d'un cas de diabète de type 1 dans une famille (tableau II) : 5 % pour les germains, 3 % pour les enfants d'une mère diabétique et 4 % pour ceux d'un père diabétique. Dans les paires de jumeaux monozygotes, la concordance pour la maladie représente environ 40 % dans la plupart des études, mais un groupe a récemment montré qu'avec le temps, cette proportion peut encore s'élever (65 % après l'âge de 65 ans) (Redondo et al, 2008).

Tableau II : prédispositions génétiques du diabète de type 1 (Jiang et al, 2007)

Risque de survenue d'un diabète de type 1	
Population générale	0,2 %
Personnes DR3 DR4 (1% de la population générale)	7%
Enfant de mère DT1	2-3%
Enfant de père DT1	4-5%
Frère ou sœur d'un DT1	5%
Frère ou sœur d'un DT1, HLA différent	< 1%
Frère ou sœur d'un DT1, HLA identique	15 %
Frère ou sœur d'un DT1, HLA semi-identique	7 %
Jumeau homozygote d'un DT1	30 – 40 %

Les études de déséquilibre de liaison dans des analyses cas-témoins ont permis d'identifier une région critique sur le bras court de la sixième paire chromosomique (6p21). Cette région abrite les gènes du complexe majeur d'histocompatibilité (Figure 9). L'association avec le diabète se fait essentiellement avec certains allèles de gènes de classe 2 codant pour les molécules HLA DR et DQ. Certains sont prédisposant à des degrés divers et d'autres protecteurs. Le génotype conférant le risque le plus élevé est représenté par une hétérozygotie DR3-DQ2/DR4-DQ8 (DQ8 pour DQA1*0301, DQB1*0302). En revanche, le génotype HLA DQB1*0602 confère une protection vis-à-vis du risque de diabète même chez les sujets porteurs d'autoanticorps dirigés contre le pancréas. La nature des allèles de prédisposition peut varier selon le fond génétique de la population (Monnier, 2014).

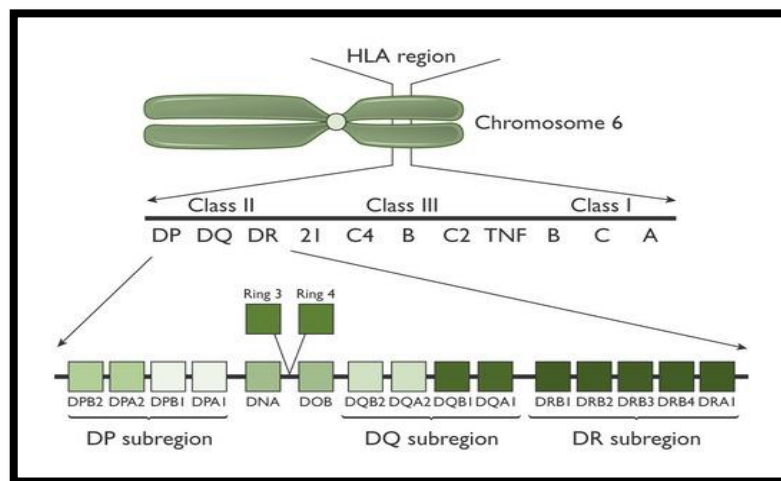


Figure 9 : Génétique de diabète type 1 (Atkinson et al , 2002)

Mais il existe aussi d'autres gènes de prédisposition à distance du CMH (Redondo MJ et al, 2008). Les études portant sur le génome entier réalisées ces dernières années ont permis d'établir une cartographie chromosomique des zones conférant un risque accru. Au moins 25 régions géniques à distance du CMH ont été ainsi repérées. Seulement un petit nombre des gènes correspondants a pu être identifié à ce jour (Monnier, 2014).

Le gène IDDM2 est représenté par le VNTR (*Variable Number of Tandem Repeat*) du gène de l'insuline. Il représente environ 10 % de l'héritabilité. Cette zone, très polymorphe dans le nombre des répétitions d'unité d'ADN, est située en amont en 5' du gène de l'insuline sur le

chromosome (11p15.51) . On distingue des allèles de classe I avec un petit nombre de répétitions (26 à 63) et des allèles de classe III avec un grand nombre de répétitions (140 à 200). Ces régions sont des récepteurs du facteur de transcription Pur 1 qui contrôle notamment l'expression du gène de l'insuline au niveau des cellules épithéliales thymiques (Lew et al, 2000). Il peut de ce fait conditionner la présentation de cet autoantigène au niveau thymique et influencer la qualité de la sélection négative des lymphocytes T (Monnier, 2014).

D'autres gènes ont aussi été impliqués tels que : Les polymorphismes de CTLA4 ont été associés à une faible augmentation du risque de diabète et/ou de thyroïdopathies auto-immunes (Monnier, 2014).

Des polymorphismes de PTPN22 ont aussi été décrits. Elle agit en déphosphorylant des tyrosine-kinases activatrices comme LCK, VAV, ZAP 70 et la chaîne ζ de CD3. Paradoxalement, la mutation (R620W) associée au diabète et à d'autres maladies auto-immunes (polyarthrite rhumatoïde, lupus, thyroïdopathies) conduirait plutôt à un « gain de fonction » avec une diminution de l'activation lymphocytaire suggérant qu'elle pourrait influencer plus particulièrement les cellules T régulatrices (Monnier, 2014).

Le gène IFIH1 (*Interferon Induced Helicase*) joue, lui, un rôle dans la réponse immune innée en permettant la reconnaissance de picornavirus (classe à laquelle appartient l'entérovirus *Coxsackie* B4 impliqué dans certains cas de diabète dits viraux).

Un dialogue entre certains de ces gènes est aussi retrouvé dans d'autres maladies auto-immunes suggérant qu'ils participent à la diabétogènes en déterminant une fragilité de la tolérance du soi. Il n'est pas anodin de rappeler que beaucoup des gènes associés au DT1 participent au contrôle de la sélection thymique (HLA, VNTR de l'insuline) et de l'activation (CTLA4 sur le chromosome 2 (2q33), PTPN22 (1p13)) des lymphocytes T (Monnier, 2014).

Le caractère « public » des gènes associés au diabète de type 1 et la faible différence d'incidence entre les populations malades et saines leur confèrent malheureusement peu d'utilité clinique tant pour le diagnostic que pour la prédiction. Seul le système HLA peut être utilisé pour sélectionner, au sein des familles, des sujets à très haut risque (DR3-DQ2/DR4-DQ8) ou éliminer des individus relativement protégés (HLA DQB1*0602) pour tester des approches préventives (Monnier, 2014).

II-2-2 .b : Facteurs d'environnement (Figure 10)

- Le surpoids peut augmenter l'insulinorésistance et favorise le diabète mais en particulier l'obésité, pourraient favoriser les deux formes de diabète, type 1 et type 2.
- l'hygiène, les soins et les vaccinations ont une diminution substantielle de l'exposition des individus dans leur jeune âge à de nombreux agents pathogènes, virus, microbes et parasites.
- les virus à tropisme bêta-insulaire. Il existe de tels virus susceptibles de produire des diabètes chez l'animal : virus EMC, *Coxsackie*, virus de Kilham, etc, via le mécanisme de la libération d'autoantigènes par la lyse de cellules β infectées, une modification du profil cytokinique vers une réponse Th1 ou une simple stimulation polyclonale.
- D'autres facteurs ont été aussi envisagés et demeurent discutés comme l'introduction précoce du lait de vache, ou de gluten du blé, la consommation de produits riches en dérivés nitrés, une insuffisance d'apport en vitamine D, etc. Le rôle des stress semble enfin plus précipitant que causal (Monnier, 2014).

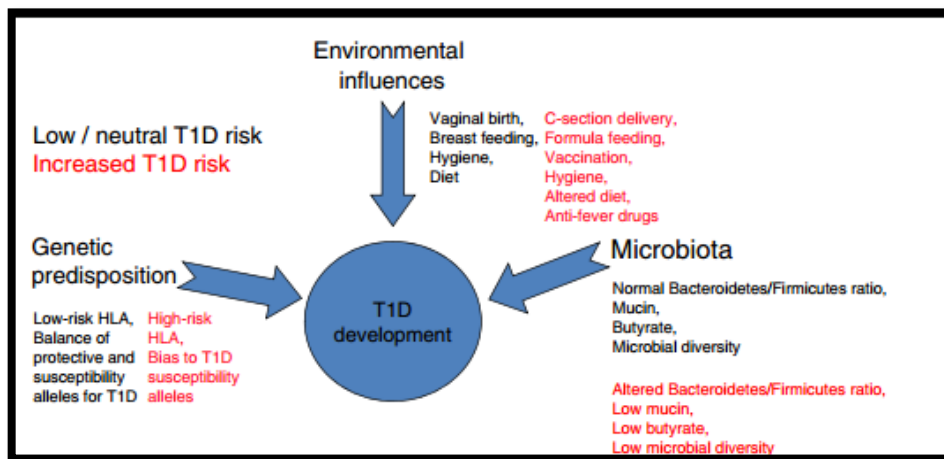


Figure 10: Facteurs déclenchant (Atkinson et Chervonsky ,2012)

II-2-3: Dépistage du diabète de type 1

On peut estimer le risque de diabète de type 1 en examinant les antécédents familiaux de diabète de type 1, soit le sexe des membres de la famille atteints et l'âge qu'ils avaient quand le diabète est apparu (Harjutsalo et al, 2006), et en déterminant le profil immunitaire et les marqueurs génétiques du patient. (Ekoé et al, 2013) . Ainsi le taux d'hémoglobine glyquée (HbA1c) variant entre 6,0 et 6,4 %, lesquels exposent les personnes à un risque élevé de diabète et de complications liées à la maladie (Goldenberg et Punthakee , 2013)

II-2-4 : Déroulement de la réaction auto-immune

La disparition des cellules β (Figure 11) fait intervenir sans doute des phénomènes de nécrose et d'apoptose induits par les immunocytes sans que la place de l'une ou de l'autre soit réellement connue. La lyse de ces cellules passe probablement mais non exclusivement par l'action cytotoxique des lymphocytes T CD8+. Les lymphocytes CD8+ sont capables de lyser les cellules cibles par contact direct et relargage de perforine- ou de sérine-estérases. Le signal de mort cellulaire peut aussi faire intervenir le ligand de Fas (*Fas ligand*) présent sur ces lymphocytes activés et Fas (CD95) exprimés par les cellules β quand elles sont exposées à un orage cytokinique (INF, TNF, IL-1) ou à l'oxyde nitrique NO. Des cytokines comme l'IL- 1, l'INF ou le TNF seuls ou en association peuvent aussi participer à l'apoptose des cellules β en activant la NO-synthase inducible. L'expression de Fas et d'INF dans les îlots de patients diabétiques semble confirmer ces pistes (Monnier, 2014).

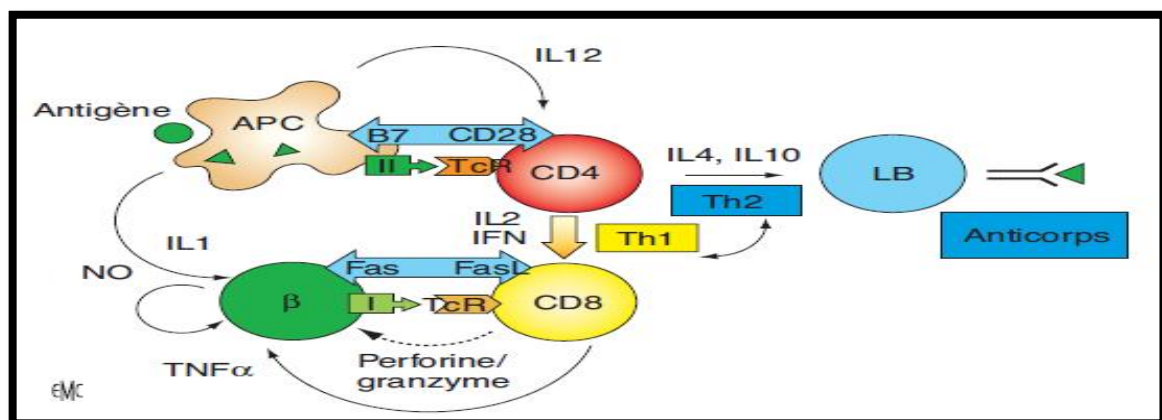


Figure 11: Phase effectrice de la réponse immunitaire au cours du DT1 (Dubois Laforgue, 2007)

II-2-5: Autoantigènes

La réponse humorale associée au diabète est dirigée contre plusieurs autoantigènes dominés par la triade « GAD, IA-2 et l'insuline », même s'il existe d'autres antigènes mineurs. L'identification de ces autoantigènes a aussi permis d'améliorer le diagnostic humoral de l'auto-immunité pancréatique en conduisant à des tests utilisant des autoantigènes chimiquement définis et donc plus fiables.

- **GAD** est présente non seulement dans les cellules β mais aussi dans les autres cellules endocrines des îlots de Langerhans. Elle est localisée au niveau du granule de sécrétion d'insuline. Sont retrouvés positifs dans 85 % des cas de diabète de type 1.

- **IA-2** exprimée par toutes les cellules de l'îlot de Langerhans et des cellules du système nerveux. Ils sont dirigés contre la portion extramembranaire de l'IA-2. Les autoanticorps anti-IA-2 sont moins fréquents dans le diabète de type 1 que la GAD (environ 50 % au diagnostic). Ils sont d'autant plus fréquents que le sujet est jeune.

- **Insuline et pro-insuline** sont des autoantigènes bêta-insulaires. Au cours du diabète, la prévalence des anticorps dirigés contre ces molécules est un peu plus faible que pour la GAD, soit environ 50 %. Ces anticorps anti-insuline détectés avant toute insulinothérapie sont surtout associés au diabète de type 1 à début juvénile. Après l'âge de 15 ans, ils deviennent beaucoup plus rares.

- **ZnT8**, dirigés contre le canal à Zinc de la cellule β ont été récemment décrits dans le diabète de type 1. Leur intérêt comparé à celui des autres spécificités est incertain en pratique clinique (Serban et al, 2014)

II-2-6 : Vitamine D et diabète de type 1 (DT1)

Plusieurs études épidémiologiques ont relevé une relation entre des concentrations basses de 25(OH)D et une augmentation de la fréquence de diabète de type 1 (De Jaeger et Cherin, 2010). Divers arguments plaident en faveur de l'intervention de la vitamine D dans la survenue du diabète de type 1. Citons l'existence d'un gradient Nord-Sud marqué (Knip et al, 2005), et une corrélation inverse entre la température moyenne et le nombre d'heures d'ensoleillement et l'incidence du diabète de type 1 (Bailey et al, 2007).

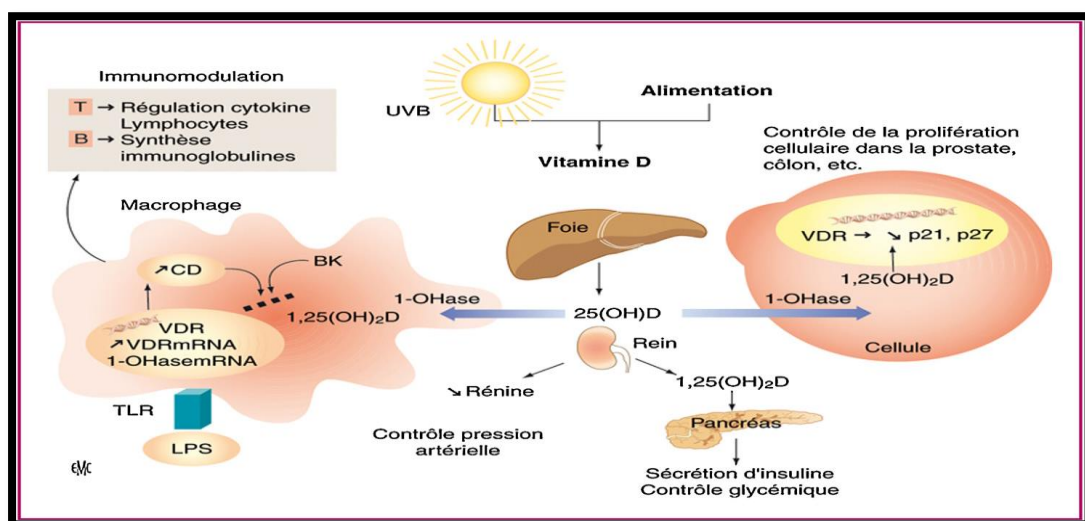


Figure 12: Actions non calcémiques ou squelettiques de la vitamine D2 et mise en évidence de la synthèse autocrine de 1,25(OH) D (Mallet, 2014)

La cellule β du pancréas exprime le VDR et a une activité 1 α -hydroxylase. La vitamine D participe à la modulation de la sécrétion de l'insuline et de la sensibilité à l'insuline, en régulant les flux calciques transmembranaires et la concentration calcique extracellulaire (Figure 12). Les propriétés immuno-modulatrices de la VD peuvent agir sur le processus autoimmunitaire qui conduit au DT1. L'administration de VD à la souris NOD permet de prévenir la réaction immunitaire contre les îlots de Langerhans ou insulite et la survenue du diabète (Bahri et *al*, 2013). Dans certaines populations, l'association entre un ou des polymorphismes du gène VDR et le risque de DT1 a été rapportée (Panierakis et *al*, 2009). Dans une étude de cohorte, il a été montré que l'administration de VD régulièrement pendant la première année de vie réduisait le risque relatif de survenue d'un DT1 avant 33 ans dans près de 90 % en comparaison avec l'absence de suppléments (Hypponen et *al*, 2001).

II-2-8 : Traitements

- Les cellules β et leurs VDR qui est indispensable pour la production et la sécrétion normale d'insuline. Il est par ailleurs apparu que le traitement de cellules bêta avec la forme 1,25(OH) 2D3 inhibait la sécrétion de protéines néfastes (les chimiokines) qui contribuent à la destruction de la cellule bêta (Yeomans et *al*, 2005).
- L'insulinothérapie demeure la pierre angulaire de la maîtrise de la glycémie chez les personnes atteintes de diabète de type 1 (McGibbon et *al*, 2013).
- La thérapie et les conseils nutritionnels font partie intégrante du traitement et de l'autogestion du diabète. Cela consiste à choisir une variété d'aliments provenant des quatre groupes alimentaires (Légumes et fruits, Produits céréaliers, Lait et substituts et Viandes et substituts) et à consommer de préférence une plus grande quantité d'aliments ayant une faible densité énergétique afin d'optimiser la satiété et d'éviter une surconsommation d'énergie (Paula et *al*, 2013).
- Transplantation pancréatique (Figure 13) (Monnier, 2014).

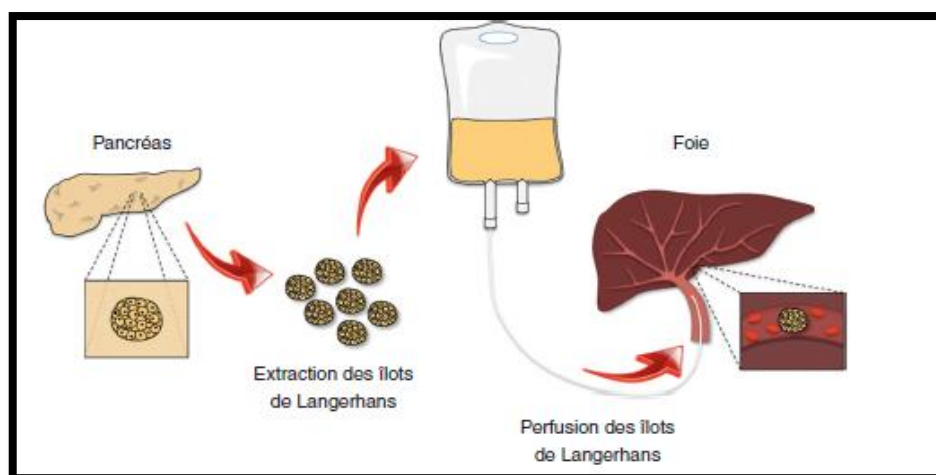


Figure 13: Transplantation pancréatique (Monnier, 2014).

III- Matériel et Méthodes

III. Matériels et Méthodes

III.1. Matériels

III.1.1 Patients

La présente étude a été réalisée au niveau du service d'Immunologique de l'institut Pasteur d'Algérie. Le recrutement de l'ensemble des patients a été réalisé au niveau du service de diabétologie du CHU Mustapha, Alger selon les critères de LADA et de l'OMS.

Les patients adultes présentant un DT1 ont été recrutés au niveau du service de diabétologie du CHU Mustapha, Alger. Les sujets sont diagnostiqués selon les critères de L'ADA et de l'OMS :

- Début rapide ou explosif.
- Syndrome cardinal (polyurie, polydipsie, amaigrissement, polyphagie).
- Troubles visuels transitoires (anomalies de la réfraction constatées surtout dans les jours qui suivent la normalisation glycémique après introduction de l'insuline).
- Diagnostic par mesure de la glycémie veineuse (souvent franchement élevée).
- Révélation possible par une acidocétose inaugurale.

31 sujets diabétiques type 1(DT1): moyenne d'âge $28,05 \pm 9,19$ ans

Le prélèvement de sang (5-10 ml) se fait par ponction veineuse dans un tube sec. Séparer le sérum par centrifugation à 200g pendant 10mn. Une hémolyse excessive et la présence de larges caillots ou de croissance microbienne dans l'échantillon peuvent interférer avec son déroulement. Congeler l'échantillon de sérum à -20°C si celui-ci ne peut être analysé en moins de 24h.

III.1.2. Population témoin

Elle est composée de **57** sujets sains non apparentés, ne présentant aucune maladie chronique ou auto-immune et sans antécédents personnel et familial.

Les caractéristiques générales des patients et des sujets témoins sont résumées dans le tableau III

Tableau III: Caractéristiques générales des patients et des sujets témoins

Caractéristiques	Témoins N= 57	DT1 N= 31
Age (moyenne SD)	26.5 ± 6.88 ans	28,05± 9,19 ans
Sujets de sexe Masculin	16	16
Sujets de sexe Féminin	41	15

III.2- Méthodes

III.2.1.Méthode de dosage

Les tampons et réactifs nécessaires sont résumés en annexe.

Dosage des différents paramètres

Le dosage de la vitamine D, l'hormone parathyroïdienne PTH et l'insuline est réalisé par la technique de chimiluminescence en phase solide (ELISA) utilisant des billes de polystyrène sur LIAISON.

Principe de dosage de la vitamine D, PTH et l'insuline

Le dosage se fait par la technique ELISA sandwich réalisée en deux temps :

1ère étape : l'anticorps monoclonal murin anti-vitamine D, PTH, et insuline humaine contenu dans l'unité test se lie à l'antigène spécifique contenu dans le sérum.

2ème étape : le complexe antigène-anticorps est mis en évidence par un anticorps polyclonal de poulet anti- vitamine D, PTH, et insuline humaine marqué à la phosphatase alcaline.

Le PPD est hydrolysé par l'enzyme (la phosphatase alcaline) en un anion intermédiaire instable, ce qui permet une émission de lumière dont l'intensité est directement proportionnelle à la concentration de la PTH et l'insuline contenue dans le sérum, et inversement proportionnelle à la concentration de la vitamine D.

Principe de dosage de Pep C

Le dosage du peptide C se fait par technique ELISA compétition réalisée en 2 temps:

- 1^{ère} étape : le peptide C marqué à la phosphatase alcaline entre en compétition avec le peptide C présent dans le sérum à tester vis-à-vis d'un nombre limité de sites d'anticorps (anticorps polyclonal de lapin anti peptide C humain contenu dans l'unité test).
- 2^{ème} étape : le substrat chimiluminescent (ester d'adamantyl dioxétane phosphate ou PPD) est hydrolysé par la phosphatase alcaline en un anion instable, ce qui permet une émission de lumière dont l'intensité est inversement proportionnelle à la concentration du peptide C contenu dans le sérum.

Mode opératoire

Le système **LIAISON** réalise automatiquement le prélèvement successif d'une solution à base de matrice sérique non humaine pour la saturation des sites non spécifiques et les sérums (50 µl pour le dosage de la PTH, 25 µl pour la 25(OH) D, 100µl pour l'insuline et 50µl pour le Pep C). Le mélange est injecté dans les unités test contenant des billes de polystyrène revêtues d'un anticorps monoclonal murin anti-vitamine D, PTH et insuline humaine ou d'un anticorps polyclonal de lapin anti- Pep C humain ; après une incubation de 30 min à 37°C, sous agitation continue, suivie d'un lavage avec une solution de lavage diluée au 1/10 par centrifugation axiale, les anticorps polyclonaux respectifs de poulet ou de l'intestin de veau anti- vitamine D, PTH, insuline et Pep C humaine sont ajoutés. Après incubation de 30 min à 37°C suivie d'un lavage par centrifugation axiale, 200 µl du substrat chimiluminescent l'ester d'adamantyl dioxétane phosphate (PPD) est ajouté dans l'unité test, suivie d'une incubation de 10 min à température ambiante.

Lecture

Le substrat chimiluminescent, un ester d'adomentyl dioxétane phosphate (PPD) est hydrolysé par la phosphatase alcaline en un anion intermédiaire instable. La concentration de complexe antigène -anticorps (Ag-Ac) formée est proportionnelle à la concentration de la PTH et l'insuline inversement proportionnelle à la concentration la vitamine D et le Pep C, contenus dans le sérum à une longueur d'onde λ .

Les résultats des paramètres sont exprimés en coups par seconde (CPS) et sont convertis pour la vitamine D en ng/ml ou en nmol/l selon la formule suivante: ng/ml x 2,5, pour la PTH en pg/ml, en µunités internationales pour l'insuline (µUI/ml) et en (ng/ml) pour le peptide C grâce à une courbe étalon qui est intégrée dans le logiciel de l'appareil.

III-2-1 Extraction de l'ADN par la technique de SALTING OUT

III-2-1-1- Principe

Les techniques d'extraction de l'ADN utilisant les solutions salines à forte concentration (NaCl à 6 M) sont des techniques de relargage salin (Salting out). En effet, les sels minéraux à forte concentration nécessitent d'être entourés par l'eau d'hydratation ; ceci se produit au détriment des protéines qui se trouvent privées d'eau, il se produit alors une surconcentration qui favorise leur agrégation et leur insolubilisation. Après centrifugation, les protéines sont précipitées sélectivement au fond du tube et l'ADN sera libre dans la phase supérieure (Miller *et al.*, 1988).

III-2-1-2. Mode opératoire

- Prélever 5 à 10 ml de sang total sur anticoagulant dans un tube de 50 ml à fond conique.
- Diluer le sang dans 2 volumes de solution de lyse des globules rouges (SLR)
- Mettre le tube à -20° C pendant 20 minutes et homogénéiser chaque 5 minutes.
- Centrifugation à 6000 g pendant 20 minutes.
- Eliminer le surnageant et répéter le lavage 2 à 3 fois si nécessaire jusqu'à l'obtention d'un culot clair sans globules rouges
- Ajouter au culot de globules blancs 9 ml de solution de lyse des globules blancs SLB, 60µl de SDS et 30µl de Protéinase K (PK). Homogénéiser et incuber le tube une nuit à 37°C dans un bain marie.
- Ajouter au culot 5ml de NaCl à 6M, agiter pour obtenir un aspect laiteux.
- Centrifuger à 8000 g pendant 15min et récupérer le surnageant contenant la méduse.
- Ajouter de l'éthanol glacial et récupérer la méduse par une pipette Pasteur scellée, et transférer dans un tube eppendorf contenant de l'éthanol 70%, la rincer 3 fois avec éthanol 70%, placer à 4°C.

III-2-1-3. -Dosage et contrôle de la qualité de l'ADN

a)-Dosage de l'ADN

L'évaluation de la concentration et de la pureté de l'ADN est réalisée par la Spectrophotométrie ; en effet, les bases puriques et pyrimidiques absorbent fortement dans l'UV à 260 nm. Une unité de DO à 260 nm correspond à une concentration d'ADN double brin de 50µg/ml. L'éventuelle contamination protéique peut être appréciée par une seconde

lecture de DO à 280 nm dans la mesure où les protéines absorbent à ces deux DO : un ADN pur doit présenter un rapport DO 260/280 compris entre 1,8 et 2,0.

b)-Contrôle de la qualité de l'ADN par l'électrophorèse

L'électrophorèse sur gel d'agarose à pH = 8,3, est une méthode simple et efficace pour la séparation, l'identification et la purification des fragments d'ADN. Elle consiste à faire migrer dans un gel soumis à un champ électrique des molécules d'ADN chargées négativement. Leur distance de migration dépend principalement de leurs poids moléculaires, de la concentration d'agarose et de l'intensité du courant appliqué.

- Préparer un gel d'agarose à 0,8 % dans un tampon Tris – acétate – EDTA (TAE) (1M Tris, 200 mM Acétate, 50 mM EDTA), pH 8 contenant 0,5 µg/ml de bromure d'éthidium.
- Préparer les échantillons de façon suivante : 5 µl d'ADN génomique et 5 µl de bleu de dépôt (0,05 % bleu de bromophénol, 60% glycérol). Déposer 10 µl des différents échantillons dans les différents puits du gel et le contrôle positif (ADN humaine) de poids moléculaire variable (DynaL).
- Faire migrer le gel dans le tampon Tris Acide Borique et EDTA (TBE) (0,5 M) pendant 30 mn à 100 V.
- Révéler l'ADN par exposition du gel aux rayons UV.

II.2.2.Méthode analytique

L'analyse statistique de l'ensemble de nos résultats pour chaque série d'expérience recouvre le calcul de la moyenne, l'écart type. Dans le cas des expériences de dosage, nous avons appliqué le test de Student's pour la comparaison des moyennes des concentrations de différents paramètres étudiés chez les patients diabétiques de type 1 et les témoins, et cela par le logiciel XLSTAT. La valeur de p – value permet de juger sur la significativité : si $p < 0,05$ la différence est significative, si $p > 0,05$ la différence est non significative. Et le coefficient de corrélation (r) est appliqué pour la mesure de l'intensité de la relation entre deux variables avec un r qui varie entre [-1, 1].

IV- Résultats et Discussion

IV-1 Comparaison de la moyenne de la vitamine D et l'hormone parathyroïdienne entre les témoins algériens et Européens

La comparaison de la moyenne des concentrations de la vitamine D montre une différence significative entre les témoins Algériens par rapport aux témoins Européens avec comme valeurs respectives : (10,04±5,02 ng/ml vs 23,6 ng/ml, $p = 0,001$), cependant la moyenne des concentrations de la PTH ne montre aucune différence significative entre les témoins Algériens et les témoins Européens avec des valeurs respectives (26,86±10.90 pg/ml vs 30 pg/ml, $p = 0,1$). Ces résultats nous révèlent que les témoins Algérienne souffrent de la déficience ou bien de l'insuffisance en vitamine D bien que les valeurs de la concentration de l'hormone parathyroïdienne (PTH) suit les normes Algérienne correspondant à des valeurs de : [12-72 pg/ml]. En effet les résultats rapportés par plusieurs études regroupent les différentes normes selon la déficience, l'insuffisance, suffisance et la toxicité dans valeurs sont résumés dans le Tableau IV.

Tableau IV: Norme Européenne de la concentration de la vitamine D

Normes	25(OH)D ng/ml	25(OH)D nmol/l
Déficience	< 10	< 25
Insuffisance	10-30	25-75
Suffisance	30-100	75-250
Toxicité	> 100	> 250

La différence des moyennes de la concentration de la vitamine D chez la population algérienne par rapport aux autres populations peut être expliquée soit par une différence d'effectif , soit la saison de prélèvement des témoins dans notre cas les prélèvements ont été réalisés les mois Sep (Eté) et Mars (Hiver) avec des valeurs respectives (15.81±6.78 ng/ml vs 10,04±5,02 ng/ml, $p = 0,001$), cependant les résultats ne montrent aucune différence significative pour la PTH avec des valeurs respectives (30.17 ±8.94 pg/ml vs 26,86±10.89 pg/ml, $p > 0,05$). Nos résultats corroborent avec les travaux de Mutlu et *al*, 2011 qui ont rapporté des différences significatives de la concentration de la vitamine D en fonction des saisons chez 120 témoins turques avec des moyennes de : (Hiver 24,8±26,7 ng/ml, Automne : 25±11,2 ng/ml, Printemps : 17,5±7,3 ng/ml, Eté : 30,4±10,4 ng/ml, $p < 0,005$).

Le mode de vie et le rapport alimentaire peut aussi influencer sur la concentration de la vitamine D qui dans certains pays (USA) encouragent l'ajout de la vitamine D dans certaines denrées alimentaires (lait, céréales, jus d'orange, yaourt....) (Ross, 2011 ; Holick, 2006 ; Holick et *al*, 2011).

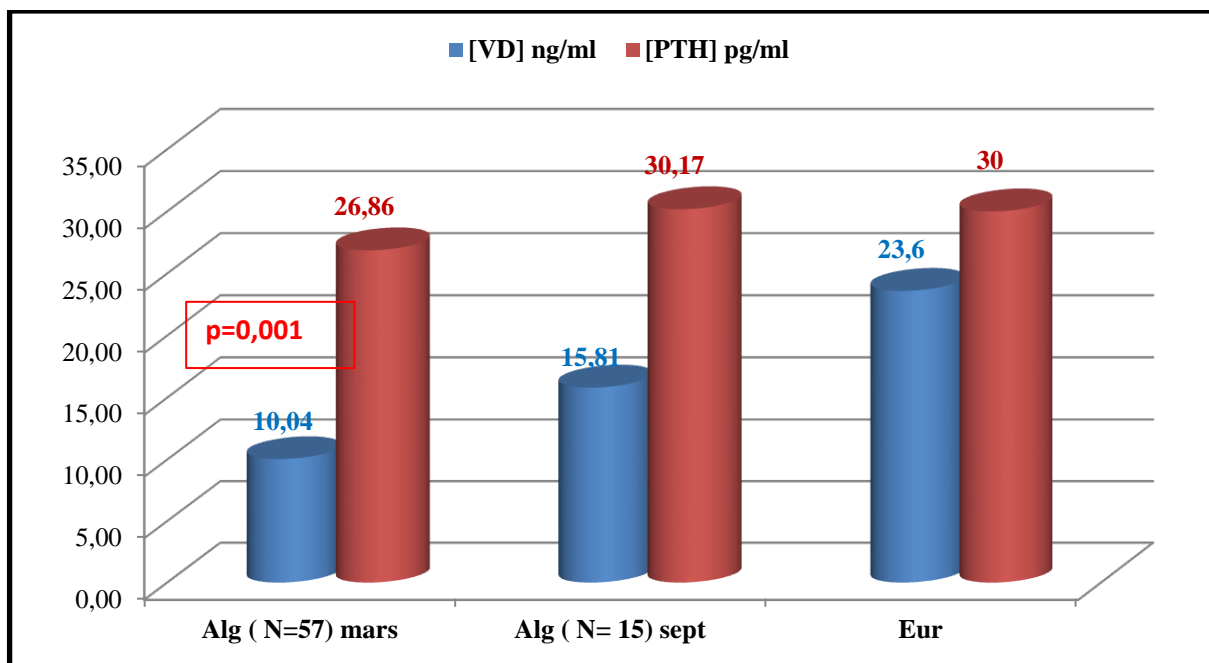


Figure 14 : comparaison de la concentration du Vitamine D et de la PTH entre les témoins Algériens et Européens

IV -2 Comparaison des moyennes du vitamine D et la PTH chez les témoins Algériens

La comparaison des moyennes de concentration du vit D et PTH chez les témoins algériens en fonction du sexe et l'âge montrent les résultats suivants :

IV.2.1 En fonction du sexe

La comparaison des moyennes des concentrations de la vitamine D entre les témoins (N=57) Algériens selon le sexe montre une différence significative entre les masculins et les féminins avec comme valeurs respectives ($11,92 \pm 5,63 \text{ ng/ml}$ vs $9,26 \pm 4,59 \text{ ng/ml}$ $p = 0,0001$), et pour la PTH une différence remarquable mais statistiquement non significative entre les deux sexes avec des valeurs respectives : ($22,14 \pm 7,76$ vs $28,9 \pm 11,48 \text{ pg/ml}$, $p = 0,18$).

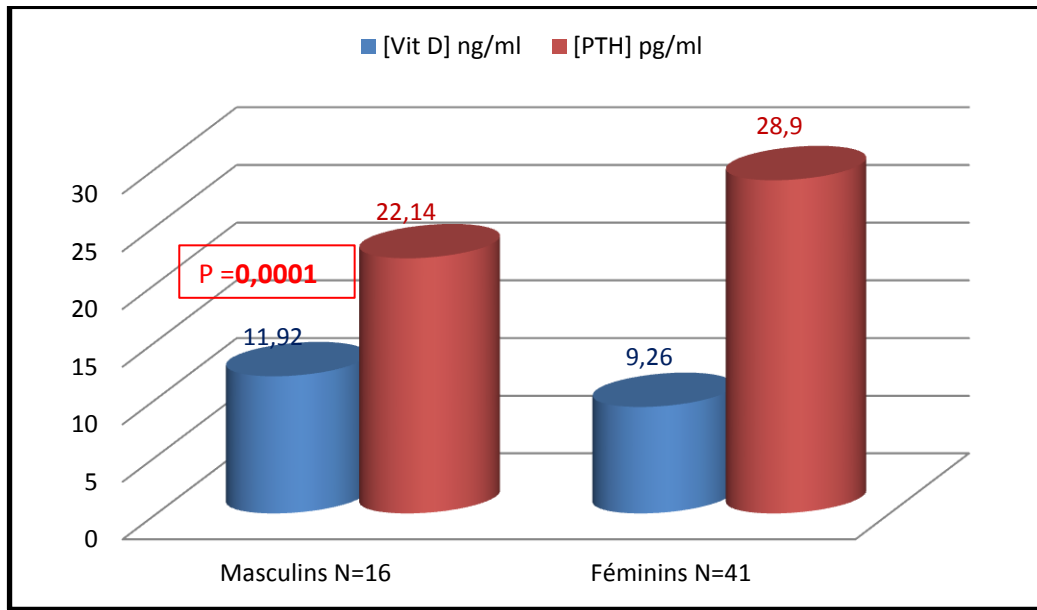


Figure 15: comparaison de la concentration de la vitamine D et hormone parathyroïdienne Chez les témoins en fonction du sexe

IV.2.2 En fonction de l'âge

La comparaison des moyennes des concentrations de la vitamine D chez les témoins en fonction de l'âge montrent une différence significative entre le premier groupe âgés entre [1-15] ans et 2eme groupe âgés entre [16-31] ans et le 3eme groupe âgé de plus de 32 avec des valeurs respectives : ($15,93 \pm 8,25$ ng/ml vs $9,53 \pm 4,53$, vs $8,45 \pm 1,81$ ng/ml $p1 < 0,05$), cependant il n'y a pas de différence significative entre le 2ème et le 3ème groupe ($p2 > 0,05$). Aucune différence significative n'est observée entre les moyennes des concentrations de la PTH entre le 2eme et 3eme groupe ($26,80 \pm 11,34$ vs $28,78 \pm 10,61$ pg/ml, $p4 > 0,05$), alors qu'il existe une différence significative entre le 1er groupe versus 2eme et 3eme groupe ($20,95 \pm 4,43$ vs $26,80 \pm 11,34$ vs $28,78 \pm 10,61$ pg/ml, $p3 < 0,05$)

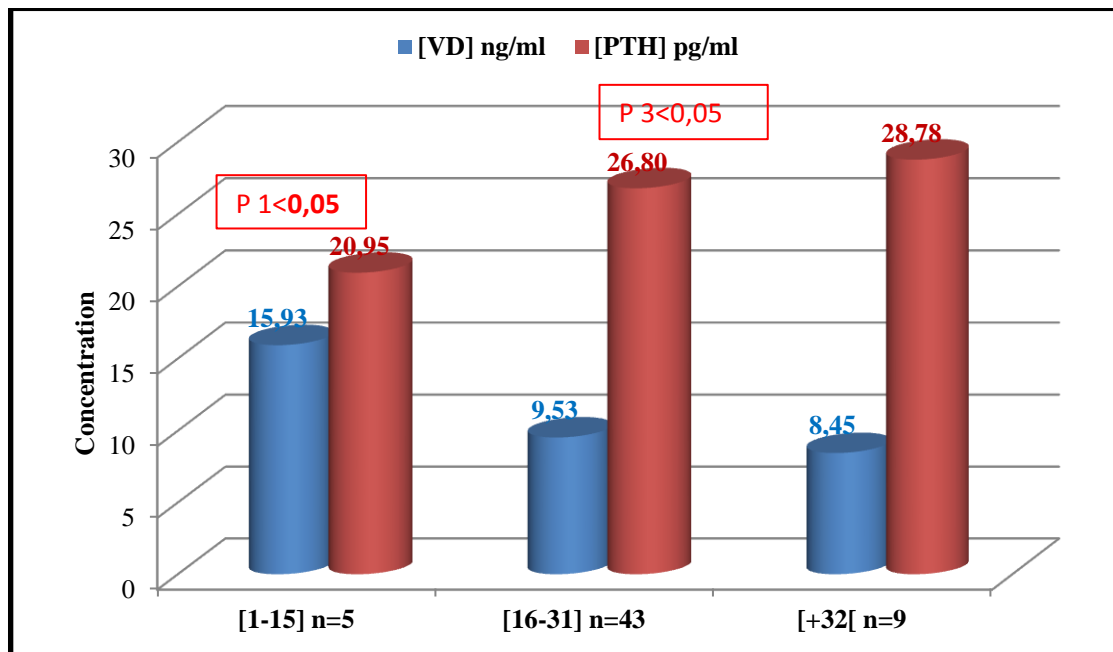


Figure 16 : Comparaison de la concentration de la vitamine D, et la PTH chez les témoins en fonction de l'âge

IV. 4 Comparaison des moyennes des concentrations des différents paramètres entre patients et témoins algériens

Les résultats résumés dans le tableau VII montrent une différence significative des moyennes des concentrations de la vitamine D, HbA1c, Glycémie et peptide C entre les patients DT1 et les témoins Algériens avec des valeurs respectives : Vit D : $(8,19 \pm 5,19 \text{ ng/ml vs } 10,04 \pm 5,02 \text{ ng/ml}, p < 0,05)$ HbA1c : $(11,51 \pm 3,24\% \text{ vs } 6 \pm 12\%, p < 0,001)$, peptide C $(0,32 \pm 0,33 \text{ ng/ml vs } 1,57 \text{ ng/ml}, p < 0,05)$ et pour la Glycémie $(3,21 \pm 1,56 \text{ g/l vs } 0,9 \text{ g/l}, p < 0,001)$ ainsi que les résultats montrent une différence non significative de la concentration moyenne de la PTH $(34,77 \pm 28,60 \text{ pg/ml vs } 26,86 \pm 10,90 \text{ pg/ml}, p > 0,05)$ et l'insuline : $(11,39 \pm 18,42 \text{ } \mu\text{U/ml vs } 7,78 \text{ } \mu\text{U/ml}, p = 0,511)$

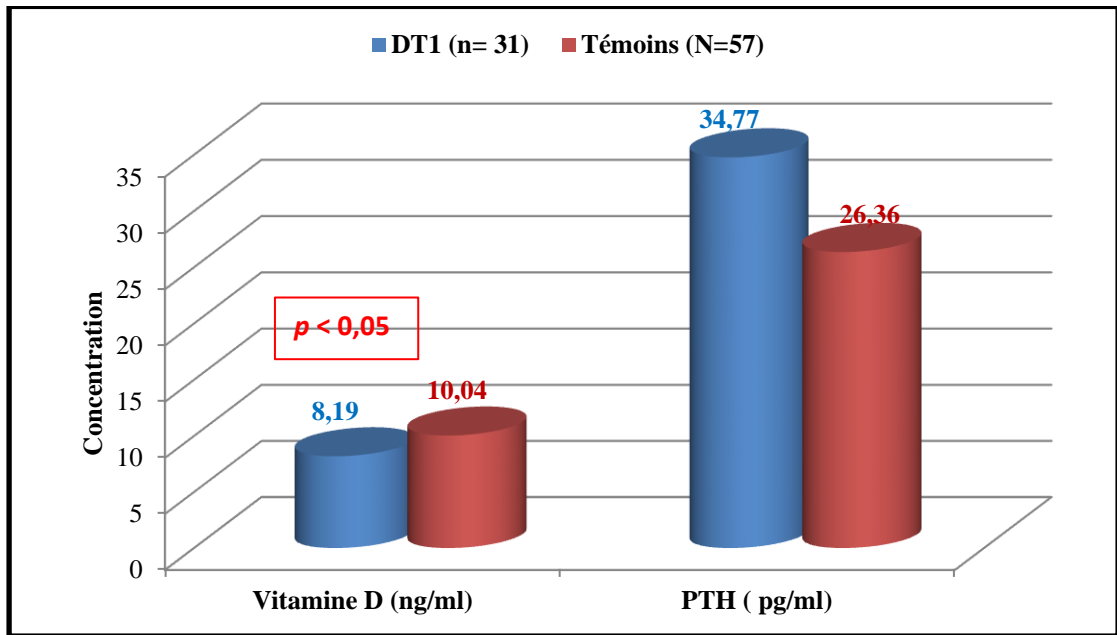


Figure 17: Comparaison de la concentration de la vitamine D et la PTH entre les patients et les témoins

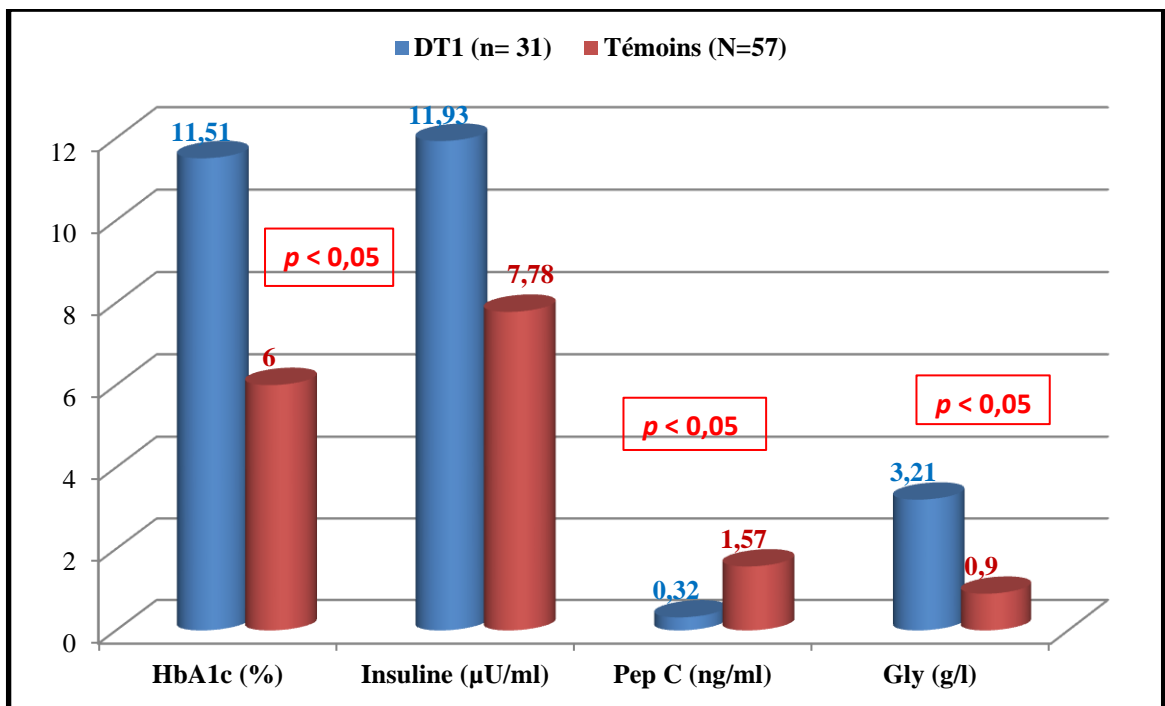


Figure 18 : Comparaison de la concentration d'autres paramètres entre les patients et les témoins

IV-5 Comparaison des moyennes de la vit D chez les DT1 en fonction de la durée du diabète

Les résultats de tableau VII de la moyenne de concentration de la vitamine D montrent une différence significative entre les sujets avec un DT1 inaugurale (groupe 1) et les sujets avec une durée du diabète [1-5] ans de groupe 2 avec comme valeur : (13,33±6,08 ng/ml vs 8,93±3,38 ng/ml, $p_1=0,002$) et entre les sujets du groupe 1 et groupe 3 [6-20] ans : (13,33±6,08 ng/ml vs 7,38±4,46 ng/ml, $p_3=0,001$). Cependant aucune différence significative n'est observée entre les sujets du groupe 2 et groupe 3 (8,93 ±3,38 ng/ml vs 7,38±4,46 ng/ml , $p_2=0,12$) .

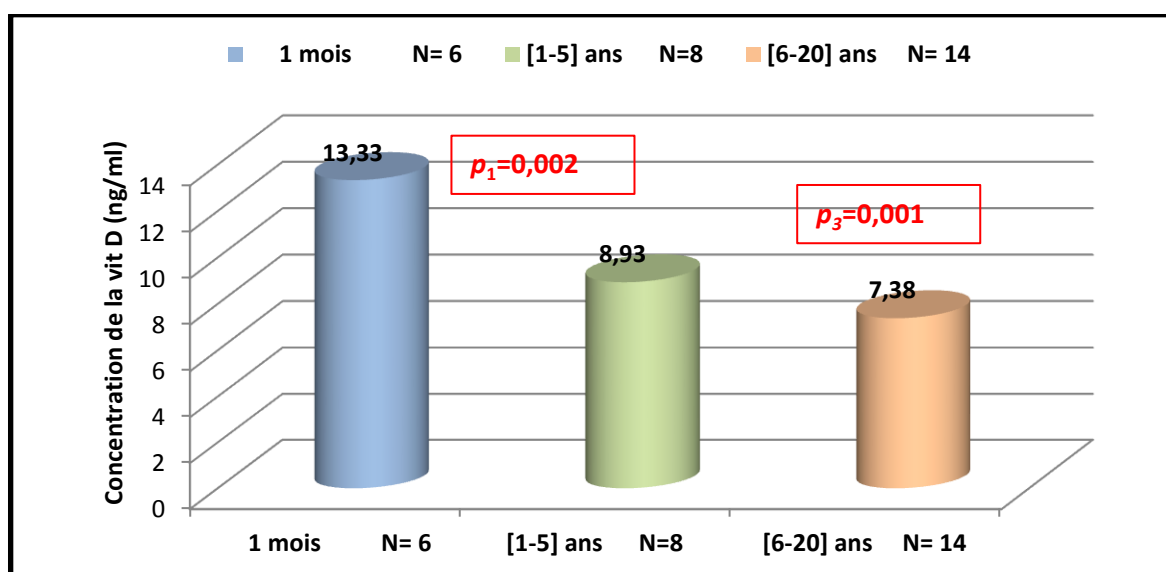


Figure 19: Comparaison de la concentration de la VD3 chez les patients en fonction de la durée du diabète

IV. 6 .a Comparaison des moyennes des concentrations de bilan lipidique entre patients et témoins algériens

Les résultats résumés dans le Tableau IX montrent une différence non significative des moyennes des concentrations de Cholestérol total entre les patients DT1 et les témoins Algériens avec des valeurs respectives Cholestérol total: (1,78±0,35g/l vs ≤ 2,20 g/l, $p>0,05$), et une différence faiblement significative des Triglycérides : (1,65±0,89 g/l vs 0,92 g/l, $p=0,04$).

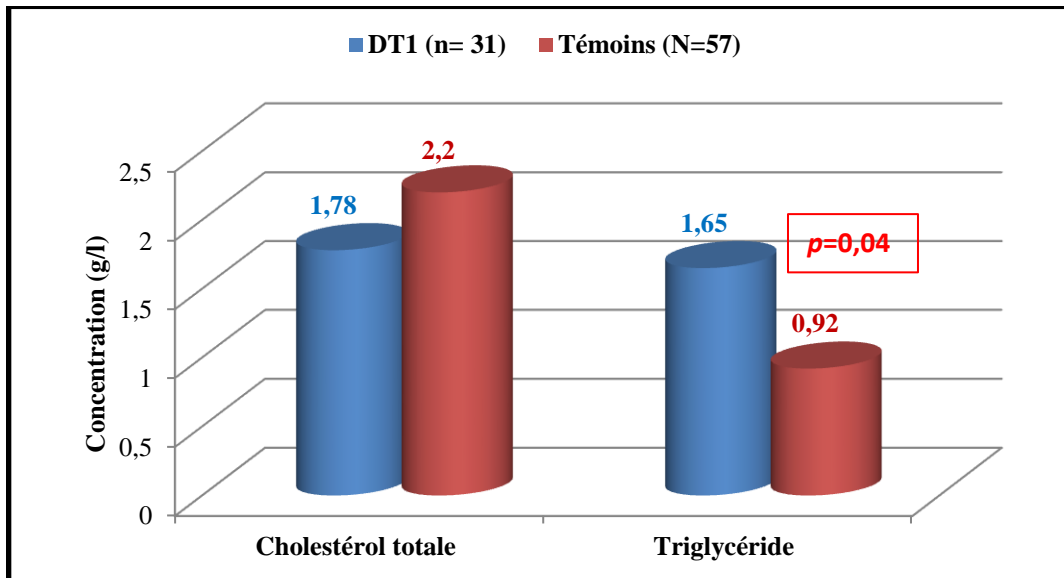


Figure 20 : Comparaison de la concentration de cholestérol et triglycéride entre lespatients et les témoins algériens

IV. 6 .b Comparaison des moyennes des concentrations d'urée, créatinine et acide urique entre patients et témoins algériens

Les résultats résumés dans le Tableau X ne montrent aucune différence significative des moyennes des concentrations entre patients et témoins avec des valeurs respectives urée ($0,35 \pm 0,18 \text{ g/l}$ vs $0,3 \text{ g/l}$, $p = 0,35$), l'acide urique ($35,58 \pm 18,28 \text{ g/l}$ vs 47 g/l , $p = 0,31$) et la créatinine avec des valeurs respectives : ($7,25 \pm 1,69 \text{ mg/l}$ vs $9,5 \text{ mg/l}$, $p > 0,05$)

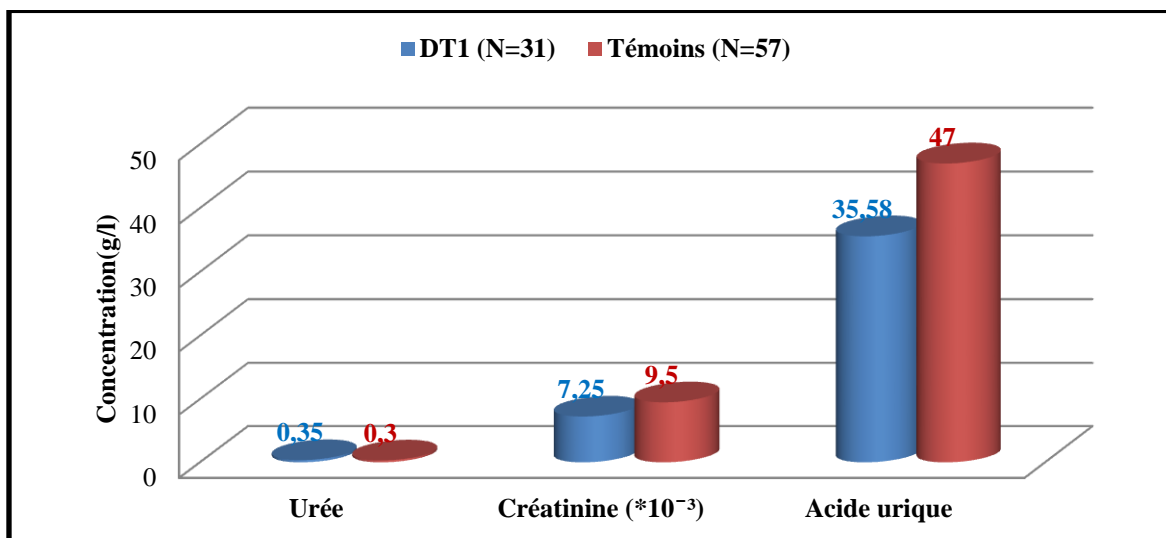


Figure 21 : Comparaison de la concentration d'urée, créatinine et l'acide urique entre les patients et les témoins algériens

IV .6.c Comparaison des moyennes des concentrations des potassiums, sodiums, phosphore et calciums entre patients et témoins algériens

Les résultats résumés dans le Tableau XI montrent des différences non significatives des moyennes des concentrations de potassium, sodium, phosphore et calcium entre les patients DT1 et les témoins avec des valeurs respectives potassium: ($3,96 \pm 0,41$ vs 4 , $p > 0,05$), sodium ($135,17 \pm 5,08$ vs 140 , $p > 0,05$), Calcium : ($83,00 \pm 20,99$ mg/l vs 100 mg/l $p > 0,05$) et le phosphore ($44,50 \pm 11,17$ g/l vs 35 g/l, $p > 0,05$)

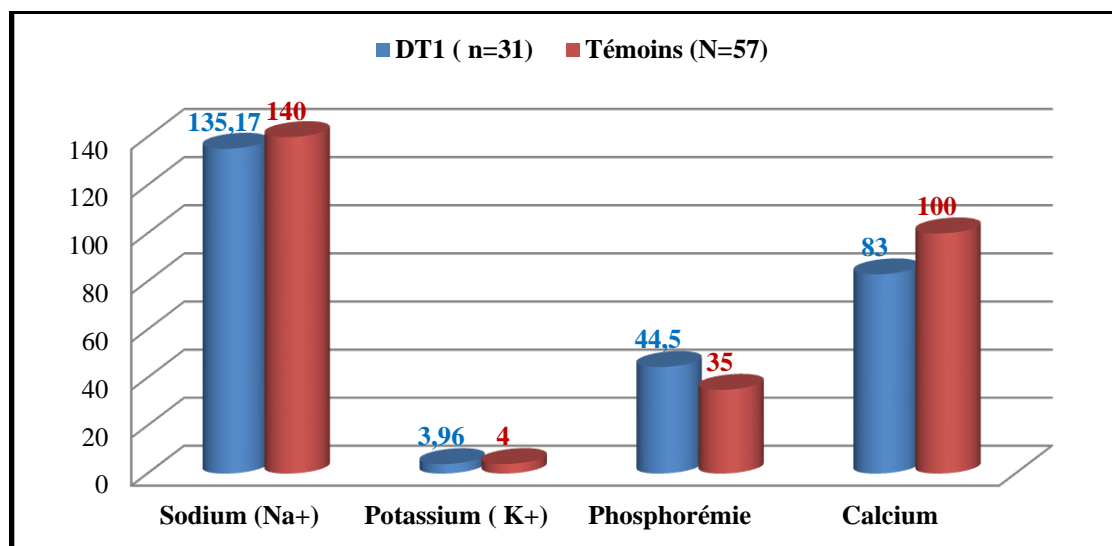


Figure 22 : Comparaison de la concentration du bilan ionotropes entre les patients et les témoins algériens

IV.7. Corrélation entre les différents paramètres chez les patients DT1

Les corrélations entre la vitamine D et les différents paramètres chez les patients DT1 avec comme valeurs respectives HbA1c ($r = -0,425$, $p = 0,001$ Figure 23) Pep C ($r = -0,1829$ $p < 0,05$ figure 24) la PTH, ($r = -0,3787$ $p = 0,0016$ figure 25) l'ancienneté du diabète ($r = -0,1287$ $p < 0,005$ figure 26) l'insuline ($r = -0,3787$ $p = 0,16$ (différence non significative) figure 27) et le cholestérol total ($r = -0,3787$ $p < 0,05$ figure 28) et une corrélation négative entre la PTH et l'HbA1c ($r = -0,7776$ $p < 0,005$ figure 29) montrent des corrélations négatives. Cependant pour le bilan ionotrope on remarque une corrélation négative entre la Vit D et le Sodium ($r = -0,3980$ $p < 0,05$ figure 23) et des corrélations positives entre la Vit D et le Potassium, Calcium et Phosphorémie avec comme valeurs respectives ($r = +0,2212$ $p > 0,05$) ($r = +0,1749$ $p > 0,05$) ($r = +0,7173$ $p > 0,05$).

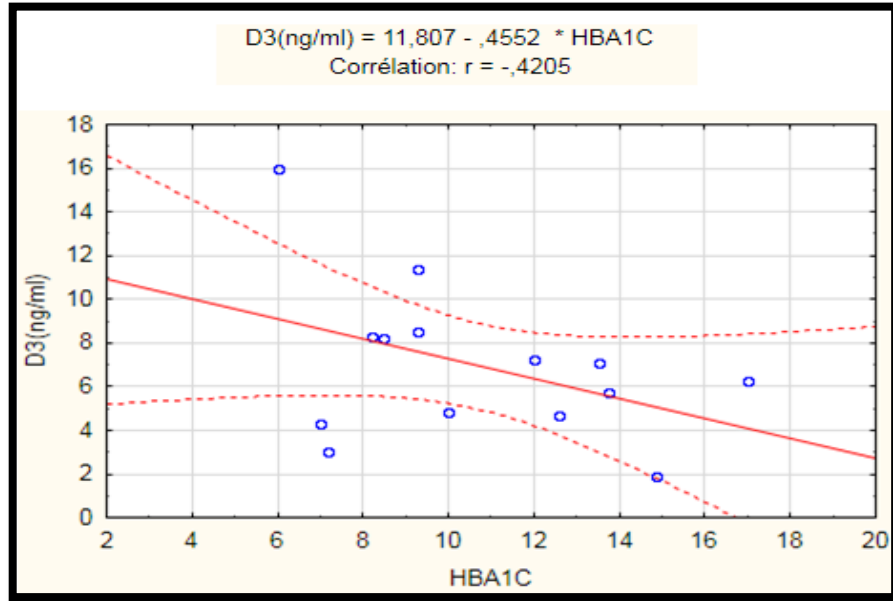


Figure 23: Corrélation entre Vitamine D et HbA1c chez les diabètes type 1

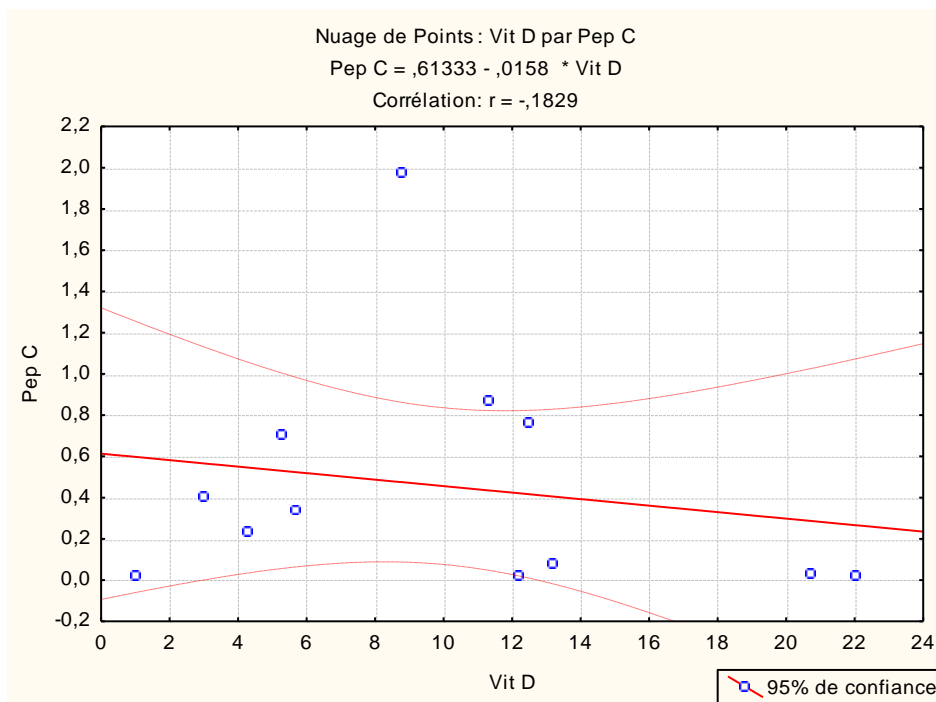


Figure 24: Corrélation entre la Vitamine D et Pep C

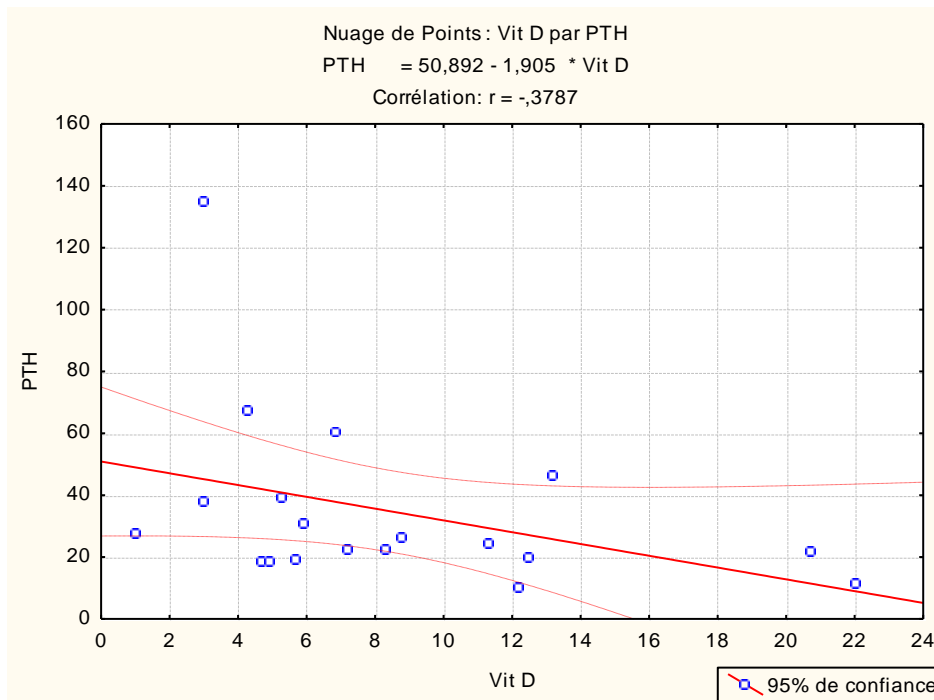


Figure 25: Corrélation entre la Vitamine D et la PTH

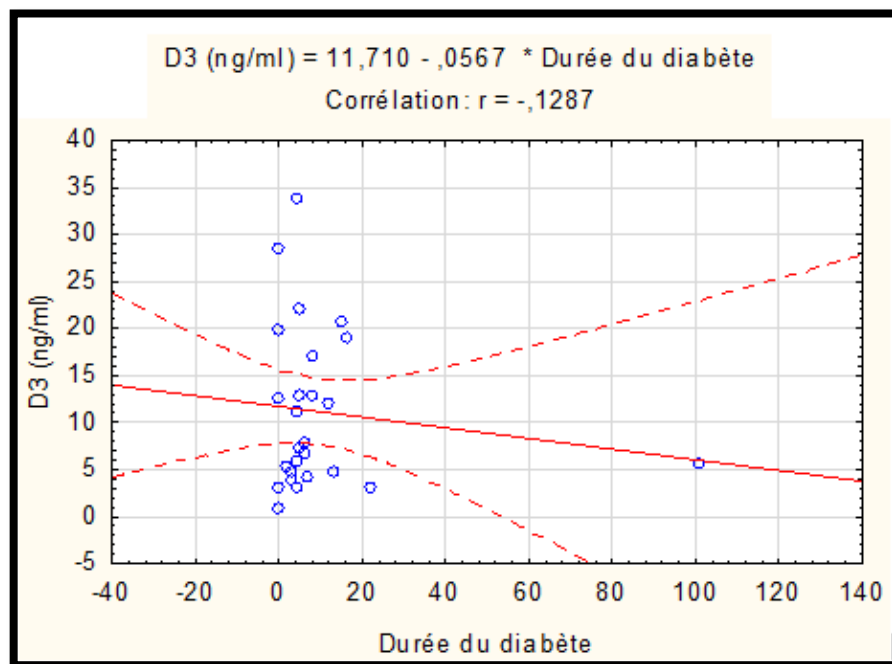


Figure 26: Corrélation entre la Vitamine D et l'ancienneté du diabète

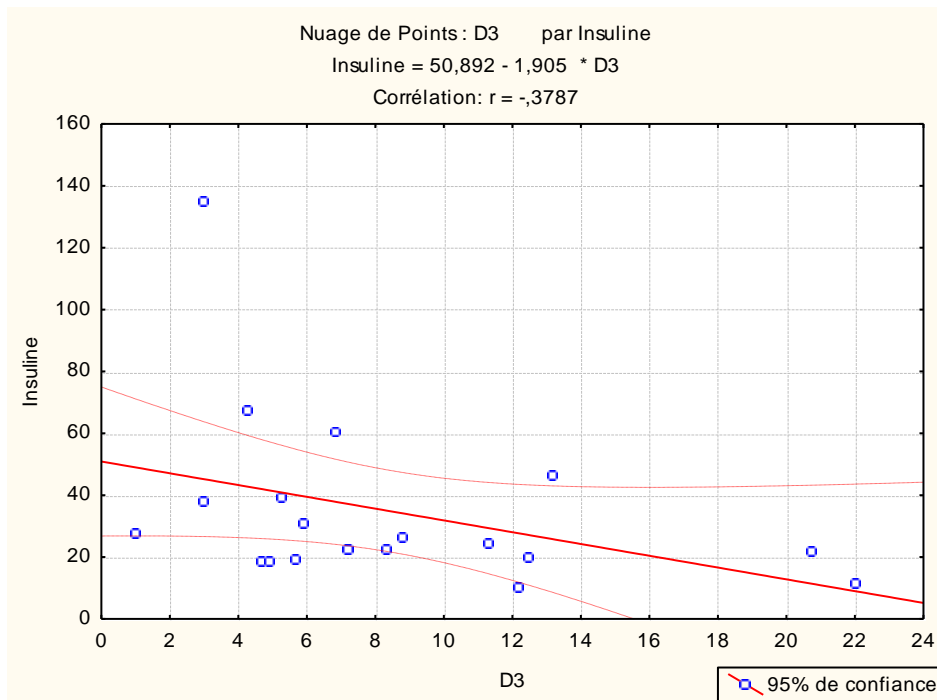


Figure 27: Corrélation entre la Vitamine D et l'insuline chez les diabètes type 1

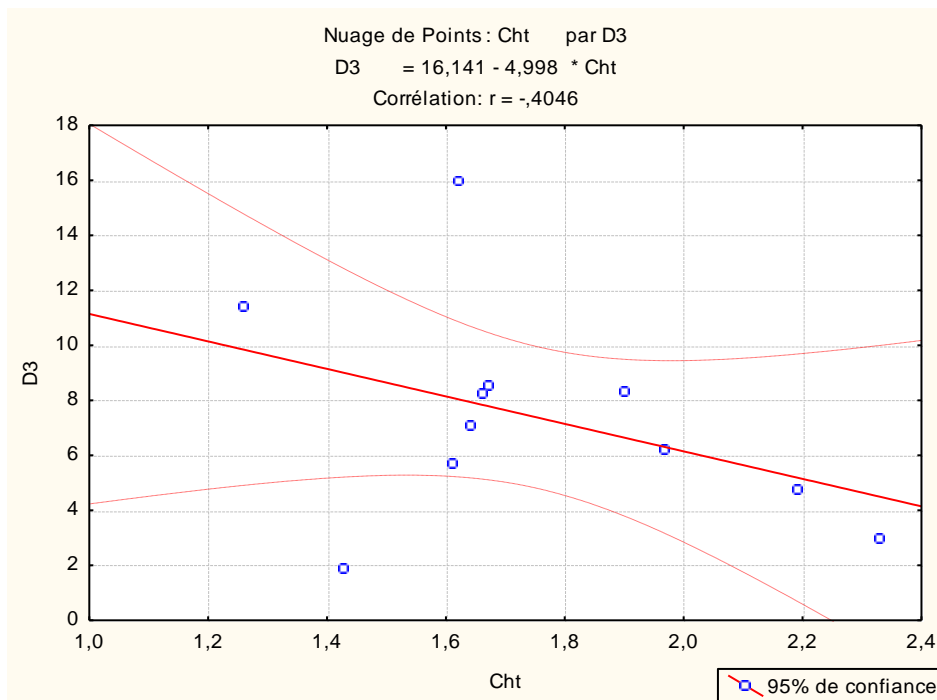


Figure 28: Corrélation entre la Vitamine D et le cholestérol total chez les diabètes type 1

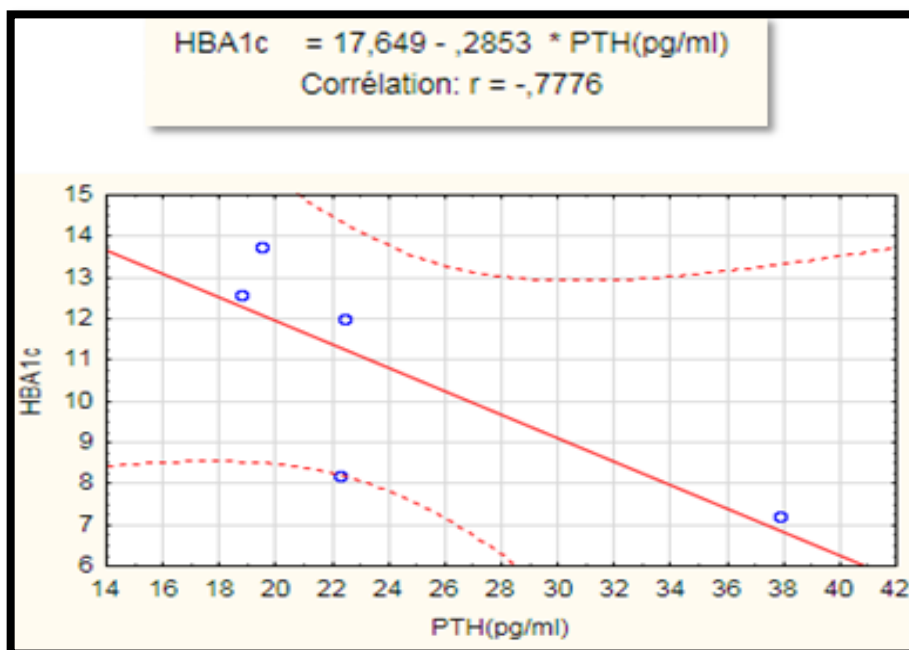


Figure 29: Corrélation entre la PTH et HbA1c chez les diabètes type 1

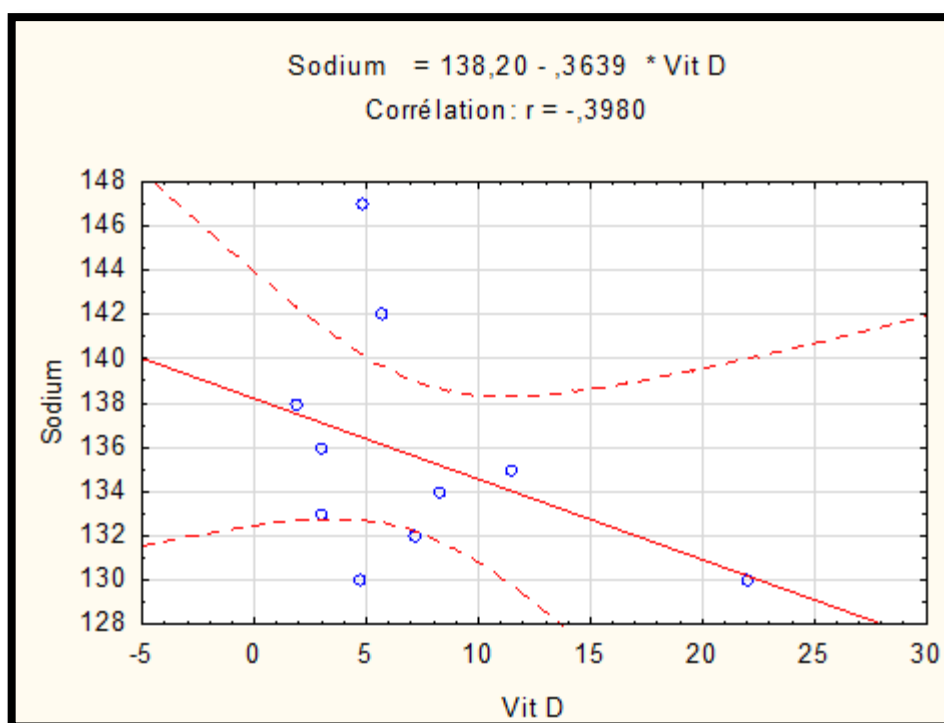


Figure 30 : Corrélation entre la Vit D et le Sodium

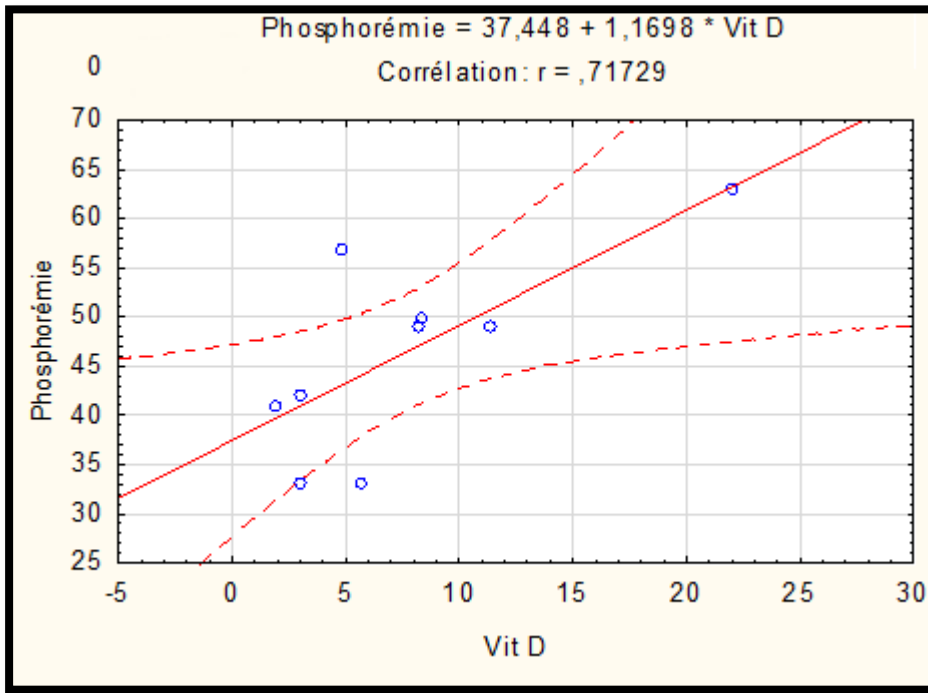


Figure 31 : Corrélation entre la Vit D et la Phosphorémie

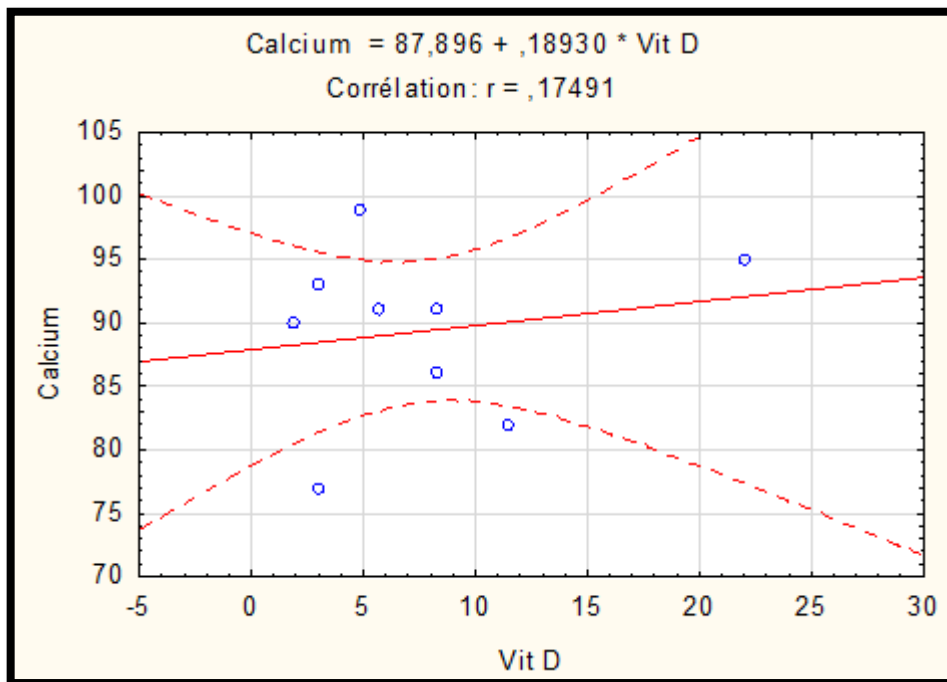


Figure 32 : Corrélation entre la Vit D et le Calcium

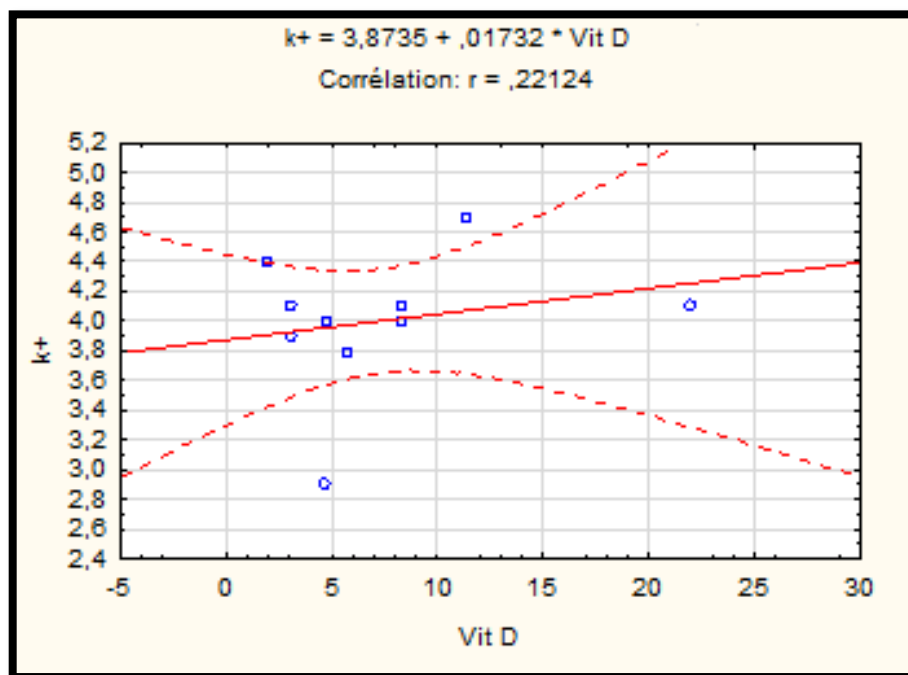


Figure 33: Corrélation entre la Vit D et le Potassium

Nos résultats corroborent avec les travaux de Ghandchi et *al*, 2012 sur la population Témoins (120) Iranienne (Tahran) et 60 sujets présentant un DT1 qui ont rapportés des différences significative pour la PTH et HbA1c entre les patients et les témoins avec des valeurs respectives: ($57,2 \pm 9$ pg/ml vs $55,4 \pm 6,3$ pg/ml, $p = 0,9$) et ($10,3 \pm 0,2\%$ vs $7,7 \pm 0,2\%$, $p = 0,001$). Cependant nos résultats ne corroborent pas avec les résultats de la même étude qui ont rapportés des différences non significative pour la vitamine D entre les patients et les témoins avec des valeurs respectives ($6,012 \pm 2,3$ ng/ml vs $8,16 \pm 3,3$ nmol/l, $p = 0,4$).

Nos résultats montrent une différence significative de la moyenne de la concentration de la vit D entre les DT1 et les témoins ($8,19 \pm 5,19$ ng/ml vs $10,04 \pm 5,02$ ng/ml, $p < 0,05$) dont 64,5% (20/31 cas) des DT1 ont une déficience en Vit D, en effet nos résultats corroborent avec plusieurs étude qui ont rapportés des fréquences respectives chez les DT1 (figure 35): Suisse (60 à 84 %) (Janner et al, 2010). À Qatar (90,6 %) (Bener et al 2009). Nord L'Inde (32 %) (Borkar et al, 2010). Au États-Unis (Nord-Est,) (15 % déficience et 61 % insuffisant) (Svoren et al, 2009).

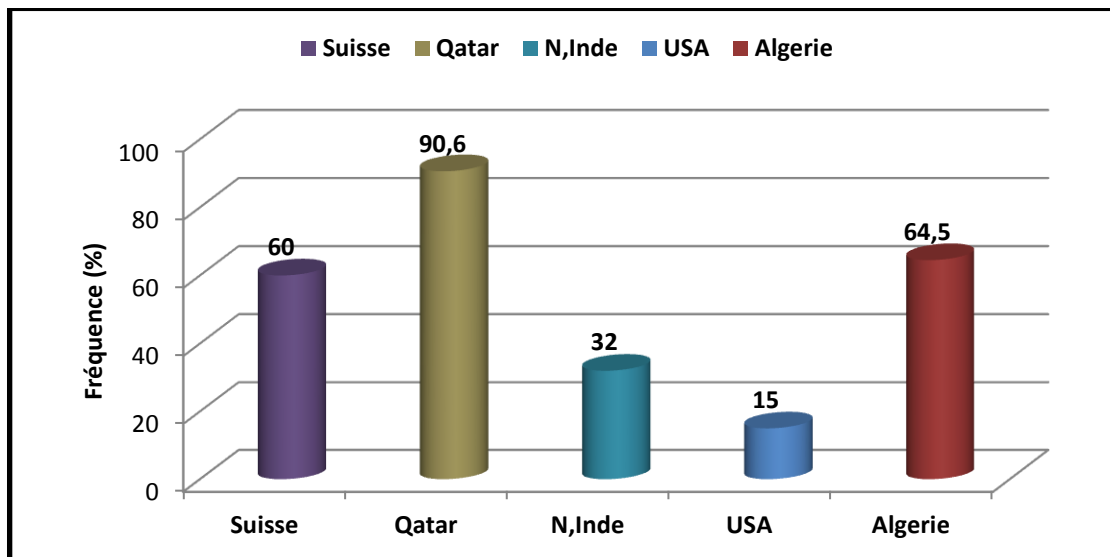


Figure 34: Fréquences de la Vitamine D chez les diabètes type 1 chez différents populations

Cependant il existe une différence significative de la moyenne de la concentration de la vit D chez les DT1 algérien par rapport aux DT1 des autres populations (Figure 35) : Australie, Egypte, Floride, Qatar, Suisse, USA (Nord Est), Algérie avec respectivement : (78,7 nmol/l, 46,75 nmol/l, 53, 39,8 nmol/l, , 82,5 nmol/l, ,67 nmol/l, , 18,5 nmol/l). Di Cesar et al ,2006 ont rapportés une différences de la 25(OH)D entre les DT1 et DT2 (18.1 ± 1.4 ng/ml versus $22,9 \pm 1.6$ ng/ml).

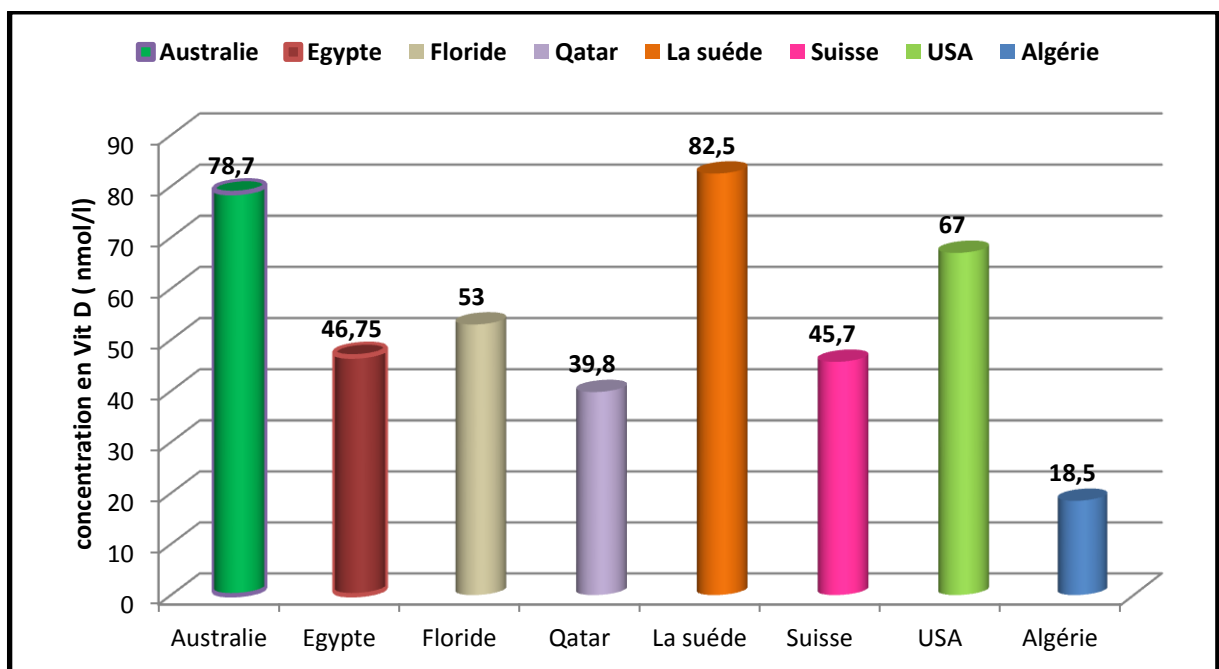


Figure 35: Le niveau moyen de (25OH)D (nmol/L) chez les DT1M chez différentes population (Chakhtour et Azar ,2013)

Le rôle de la vitamine D ne se limite pas à favoriser l'absorption et la fixation du calcium et du phosphore dans l'organisme. Elle interagit également avec l'expression de certains gènes, dont l'effet se répercute sur le système immunitaire, et intervient ainsi dans le DT1. Une carence en vitamine D est associée à un certain nombre de maladies, y compris le diabète de type 1.

En effet le VDR est présents dans les cellules du système immunitaire (macrophages, cellules dendritiques activées), ces cellules possèdent les enzymes nécessaires pour l'étape d'activation finale de la synthèse de 1, 25 (OH) 2D3 (figure 36). Les effets de 1, 25 (OH) 2D3 sur le système immunitaire sont multiples, entraînant à la génération de la tolérance et de l'anergie plutôt que l'activation immunitaire. En présence de 1, 25 (OH) 2D3, les CD matures sont tolérogène avec une faible expression des molécules HLA de classe II, et des molécules d'adhérence nécessaires pour la stimulation des cellules T. En outre, les cytokines cruciales pour le recrutement et l'activation des lymphocytes T sont supprimées par 1, 25 (OH) 2D3 en inhibant l'action de l'IL-12 par l'interférence avec la voie du facteur nucléaire Nf- κ B. Plusieurs cytokines des cellules T sont également des cibles directes de 1, 25 (OH) 2D3. En effet, la 1, 25(OH) 2D3 inhibe les cytokines de la voie Th1 (l'IL-2 et l'IFN- γ) et stimule des cytokines Th2 (l'IL-4). Cependant l'administration de vitamine D empêche le développement du diabète de type 1. Plusieurs études épidémiologiques démontrent que la vitamine D peut prévenir le diabète de type 1 (Mathieu et Badenhop, 2013).

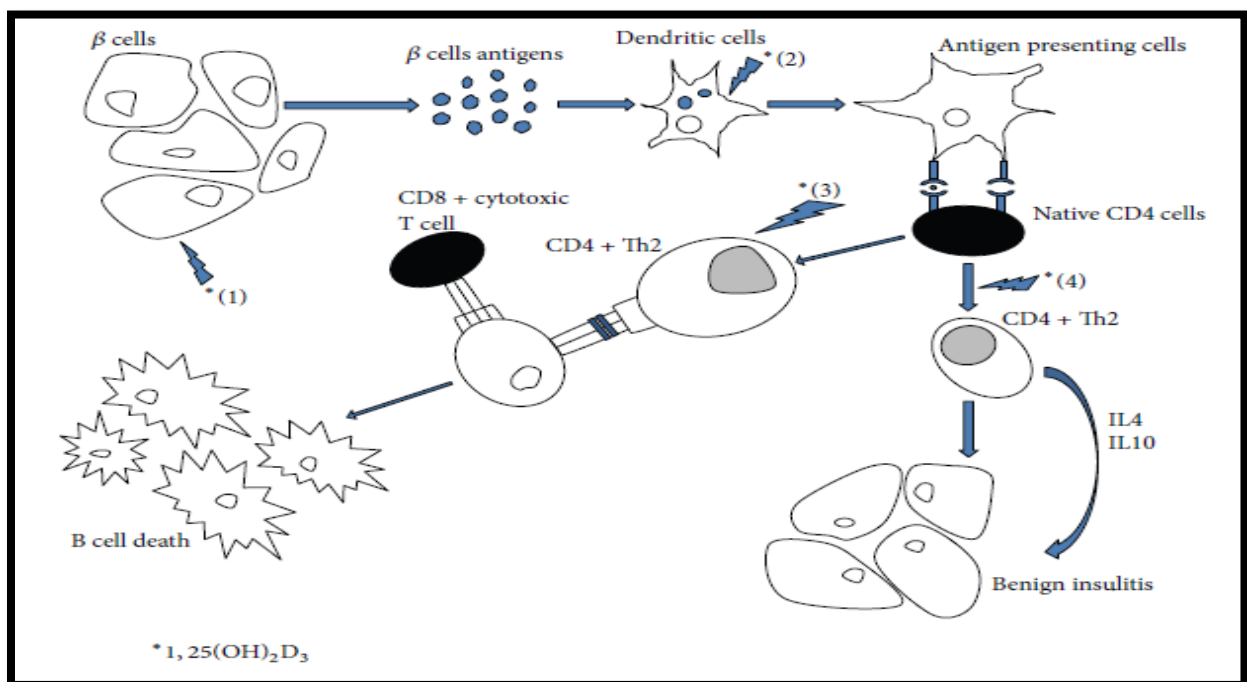


Figure 36 : Les effets immunomodulateurs de 1, 25(OH) 2D (Chakhtoura et Azar 2013)

Au terme de ce travail nous concluons que :

V- Conclusion

Les connaissances de la physiologie de la vitamine D ont considérablement progressé ces dernières années, avec la mise en évidence de ses récepteurs dans la plupart des tissus. La vitamine D est ainsi passée du rôle de vitamine à tropisme purement phosphocalcique et osseux à celui d'une hormone pléiotrope jouant un rôle global sur la santé en évitant l'apparition de certaines maladies tel que le diabète auto immun.

Dans un premier temps nous avons procédé au dosage de la vitamine D et PTH chez les témoins et les patients diabète type 1. Á la lumière de nos résultats , nous remarquons que les témoins Algérien ont une carence en vitamine D par apports aux normes de la population Européenne, sachant que ces témoins sont bien sélectionnés de faite que la valeur de PTH est dans les normes [12-72] pg/ml, et que les concentrations de la vitamine D se différent en fonction du sexe et du l'âge .

Les résultats de comparaisons des moyennes de concentrations de la vitamine D entre les patients DT1 et les témoins ont montrés une différence significative avec des valeurs (8,19±5.19 ng/ml vs 10,04±5,02 ng/ml, $p < 0,05$). Cependant, les résultats chez les patients ont révèles que la durée du diabète influence sur le taux de la vitamine D. Les différences de résultats entre les sujets étudiés peuvent être liés à la différence d'effectifs.

Ces résultats sont encourageants et méritent d'être poursuivis et approfondis par :

- L'augmentation d'effectifs des sujets sains pour établir les valeurs sériques normales de la vitamine D chez la population Algériens
- La prise en considération du dosage de la vitamine D dans le diagnostique.
- Suivre l'équilibre biochimique des patients supplémentés en vitamine D

Annexes

Annexe 1 : Aliments naturellement riches en vitamine D (Tonson et *al*, 2012)

Aliments	Quantités	Teneurs en vitamine D (UI)
Huile de foie de morue	15 ml	1400
Saumon frais sauvage	100 g	600-1000
Saumon d'élevage	100 g	100 – 250
Sardine , hareng , thon en boite	100 g	224 – 332
Champignons shiitake secs	100 g	1600
Bolets / morilles séchés	100 g	130
Margarine	15 ml (1 cuillère à soupe)	65 – 110
Beurre	100 g	50
Jaune d'œuf	1	40
Yogourt	100g	50
Fromage à pâte dure	100 g	44
Parmesan	100 g	28

Matériels biologique

- Sérum humain

Matériels non biologiques

- Cartouches de billes de polystyrène revêtues d'un anticorps monoclonal murin ou de lapin purifié par affinité anti- vitamine D, l'hormone parathyroïdienne PTH , l'insuline et pep C.
- Cartouche de billes revêtues d'un anticorps polyclonal de poulet ou de veau purifié par affinité anti- affinité anti- vitamine D, l'hormone parathyroïdienne PTH , l'insuline et pep C.
- Solution de lavage 1/10
- Substrat chimiluminescent : ester d'adamantyl dioxétane phosphate
- Tubes à essais
- Eau distillé
- Etiquettes contiennent des code barres

Appareillage

- Automate LIAISON
- Centrifugeuse
- Incubateur

Annexe 2 : Résultats des moyennes de l'âge de la concentration de la vitamine D et la PTH entre les témoins algériens selon le sexe

Témoins	Masculins N=16	Féminins N=41	P
[VD] ng/ml	11,92±5.63	9,26±4,59	0,0001
[PTH] pg/ml	22.14±7.76	28.9±11.48	0,18

Annexe 3 : Résultats des moyennes de l'âge de la concentration de la vitamine D et l'hormone parathyroïdienne des témoins algériens selon l'âge

Témoins	[1-15] ans N= 5	[16-31] ans N= 43	32 ans N=9
[VD] ng/ml	15,93±8,25 <i>p1</i> < 0,05	9,53±4.53 <i>p2</i> > 0,05	8,45±1,81
[PTH] pg/ml	20.95±4,43 <i>p3</i> <0,05	26,80±11,34 <i>p4</i> > 0,05	28,78±10,61

Annexe 4 : Résultats des moyennes des concentrations des différents paramètres entre patients et témoins algériens

Paramètres	DT1 N= 31 $\bar{x} \pm SE$	Témoins N= 57	<i>p</i>
Vitamine D (ng/ml)	8,19±5.19	10,04±5,02	<i>p</i> < 0,05 DS
PTH (pg/ml)	28,37±15,55	26,86±10.90	<i>p</i> > 0,05 DNS
HbA1c (%)	11,51±3,24	6 ± 1,2	<i>P</i> <0,0001 DS
Insuline (μU/ml) Norme	11,39±18,42	7,78 [4-27,2]	<i>p</i> = 0,511 DNS
Pep C (ng/ml) Norme	0,32±0,33	1,57 [0,8-4,2]	<i>p</i> <0,05 DS
Gly (g/l) Norme	3,21±1,56	0,9 [0,70-1,10]	<i>p</i> <0,001 DS

Annexe 5 : Résultats des moyennes des concentrations de la vitamine D en fonction de la durée du diabète

Duration de diabetes	Groupe 1 1 mois N= 6	Groupe 2 [1-5] ans N= 8	Groupe 3 [6-20] ans N= 14
[VD3] ng/ml	13,33±6,08 <i>p</i> ₁ =0,002 DS	8,93 ±3,38 <i>p</i> ₂ =0,12 DNS	7,38±4,46 <i>p</i> ₃ =0,001 DS

Annexe 6 : Résultats des moyennes des concentrations de bilan lipidique entre patients et témoins algériens

	DT1 N=31	Témoins N=57	P
Cholestérol total (g/l) Norme	1,78±0,35	≤ 2,20	<i>p</i> > 0,05 DNS
Triglycéride (g/l) Normes	1,65±0,89	0,92 F : [0.35-1.35] H: [0.40-1.60]	0,04

Annexe 7 : Résultats des moyennes des concentrations des d'urée, créatinine et acide urique entre patients et témoins algériens

	DT1 N=31	Témoins N=57	P
Urée (g/l) Norme	0,35±0,18	0,3 [0.10- 0.50]	<i>p</i> = 0,35 DNS
Créatinine (mg/l) Norme	7,25±1,69	9,5 [6- 13]	<i>P</i> < 0,05 DNS
Acide urique (g/l) Norme	35,58±18,28	47 H : [34- 70] F : [24- 60]	<i>p</i> >0,05 DNS

Annexe 8 : Résultats des moyennes des concentrations du potassium, sodium, phosphore et calcium entre patients et témoins algériens

	DT1 N=31	Témoins	p
potassium	3,96±0,41	4 [3,5-4,5]	DNS
sodium	135,17±5,08	140 [135-145]	DNS
Calcium (mg/l)	83,00±20,99	100 [95-115]	DNS
phosphore (g/l)	44,50± 11,17	35 [25-45]	DNS

References

bibliographiques

- 1- **Alsaied A, Al-Ali M, Al-Kubaisi A, Basha B, Abraham A, Guiter GE, Mian A (2009).** High prevalence of vitamin D deficiency in type I diabetes mellitus and healthy children. *Acta Diabetologica*, **46**, no 3, 183–189.
- 2- **Atkinson M. A ; Chervovsky A (2012).** Does the gut microbiota have a role in type 1 diabetes? Early evidence from humans and animal models of the disease. *Diabetologia*, **55**:2868–2877
- 3- **Atkinson M , Skyler , Jay (2002).** *Atlas of Clinical Endocrinology*, **2**, Chapter 5
- 4- **Bierschenk L, Alexander J, C.Wasserfall, M. Haller, D. Schatz, and M. Atkinson (2009).** Vitamin D levels in subjects with and without type 1 diabetes residing in a solar rich environment. *Diabetes Care*, **32**, no. 11, 1977–1979.
- 5- **Bahri. L, Sanhaji L, Tayeb Z, El Maataoui O , Farouqi B, Takourt B, El Bakkouri J (2013) .** Vitamine D et immunité. *Rev Mar Rhum ; 23*: 30-6 , 33-34
- 6- **Bailey R, Cooper JD, Zeitels L, Smyth DJ, Yang JH, Walker NM, Hyppönen E, Dunger DB, Ramos-Lopez E, Badenhop K, Nejentsev S, Todd JA (2007)** Association of the vitamin D metabolism gene CYP27B1 with type 1 diabetes. *Diabetes*; **56**:2616-21.
- 7- **Bener, Alsaied A, Al-Ali M, Al-Kubaisi A, Basha B, Abraham A, Guiter GE, Mian A (2009)** High prevalence of vitamin D deficiency in type 1 diabetes mellitus and healthy children . *Acta Diabetologica*, **46**, no. 3, 183–189.
- 8- **Borkar V. V, Devidayal V. S, Bhalla A. K (2010)** Low levels of vitamin D in North Indian children with newly diagnosed type 1 diabetes. *Pediatric Diabetes*, **11**, no 5, 345–350.
- 9- **Bouvard B, Annweiler C, Sallé A, Beaucheta O, Chappard D, Audrana M, Legrand E (2010).**
Les effets extra-osseux de la vitamine D: faits, questions et controverses
Revue du rhumatisme, **77S**, A18–A25.
- 10- **Chantal M , Badenhop K(2013),** Vitamin D and type 1 diabetes mellitus: state of the art , Article in press.x,x:4 ,
- 11- **Chakhtoura M et Azar S-T (2013) ,**
The Role of Vitamin D Deficiency in the Incidence, Progression, and Complications of Type 1 Diabetes Mellitus, *International Journal of Endocrinology*, Article ID 148673, 10 pages.
- 12- **Chiu KC, Chu A, Go VL, Saad MF (2004),** Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction

Am J Clin Nutr; **79** , no 5 ,820-825 .

- 13- Concannon P, Rich SS, Nepom GT (2009)** , Genetics of type 1A diabetes. N Engl J Med ; **360** : 1646–54.
- 14- Courbebaisse M, Prié D, Souberbielle J.C , Thervet E, Friedlander G (2011)** , Vitamine D : un champ qui s'élargit ,Revue Francophone Des Laboratoires ,**429**, 33 - 34.
- 15- Decochez K, Truyen I, van der Auwera B, et al (2005)**
Combined positivity for HLA DQ2/DQ8 and IA-2 antibodies defines population at high risk of developing type 1 diabetes. Diabetologia ;**48**:687e94.
- 16- De Jaeger C, Cherin P (2010)** , Vitamine D : effets sur la santé. Recommandations de bon usage.Revue Médecine & Longévité ; **2**:182-199.
- 17- Di Cesar D. J, Ploutz-Snyder R, Weinstock R. S, Moses A. M (2006)** ,Vitamin D deficiency is more common in type 2 than in type 1 diabetes . Diabetes Care, **29**, no. 1, 174.
- 18- Dubois Laforgue D (2007)** . Etiologie et physiologie du diabète type 1, endocrinologie – Nutrition , **10**-366-C-10
- 19- Dworatzek P-D, Arcudi K, Gougeon R, Husein N, Sievenpiper J-L, Williams S-L(2013)** Thérapie nutritionnelle . Canadian Journal of Diabetes , **37** ,S409-S421
- 20- Ekoé J.M , Punthakee Z , Ransom T (2013)** . Dépistage du diabète de type 1 et de type 2 , Canadian Journal of Diabetes , **37** ,S373- S376.
- 21- Ghandchi Z , Neyestani T R, Saboor Yaraghi AA, Eshraghian MR, Gharavi A ,Shariatzadeh N, Kalayi A , Houshiarrad A (2012)** Vitamin D status and the predictors of circulating T helper 1-type immunoglobulin levels in Iranian subjects with type 1 diabetes and their siblings: a case-control study. Journal of Human Nutrition and Dietetics. **25**:65–372
- 22- Grimaldi A, dir (2009)** Traité de Diabétologie , Médecine-Sciences ; 2e éd.
- 23- Guilhou JJ (2003)** , Dérivés de la vitamine D. Encycl Méd Chir ,Dermatologie, 98-918-A-10, 8 .
- 24- Gysemans CA, Cardozo AK, Callewaert H, et al (2005)** 1,25-Dihydroxyvitamin D3 modulates expression of chemokines and cytokines in pancreatic islets: implications for prevention of diabetes in nonobese diabetic mice. Endocrinology; **146**: 1956-64.
- 25- Harjutsalo V, Reunanen A et Tuomilehto J (2006).** Differential transmission of type 1 diabetes from diabetic fathers and mothers to their offspring. Diabetes ,**55**:1517e24

- 26- **Holick MF (2006)**. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for healthy . Mayo Clinical .3.81:353-54
- 27- **Holick MF, Binkley NC, Gordon CM, Hanley DA , Bischoff ferrari HA (2011)** Evaluation, treatment and prevention of vitamin D deficiency . Endocrine Society clinical practice guideline.96 (7):1911-30.
- 28- **Hyppönen E, Läärä E, Reunanen A, Järvelin MR, Virtanen SM (2011)** . Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohortstudy. Lancet ;358:1500—3.
- 29- **Janner M, Ballinari P, Mullis P-E, Flück C-E (2010)**. High prevalence of vitamin D deficiency in children and adolescents with type 1 diabetes . Swiss Medical Weekly, 140, w13091
- 30- **Jie Zang, Wei Li , Jiaming Liu , Wenhe Wu, Houxian Ouyang, Qingqing Zhang, Yue Wang, Libin Liu,Rongrong Yang, Xiaoting Liu, Qinghe Meng , Jianxin Lu (2012)** Polymorphisms in the vitamin D receptor gene and type 1 diabetes mellitus risk: An update by meta-analysis, Molecular and Cellular Endocrinology; 355 ,135–142.
- 31- **Jiang J, Au M, Lu K, Eshpeter A, Korbitt G, Fisk G,et al (2007)** Generation of insulin-producing islet-like clusters from human embryonic stem cells. Stem Cells ;25(8):1940-53.
- 32- **Kai Yin , Devendra K Agrawal**. Vitamin D and inflammatory diseases, Journal of Inflammation Research 2014;7 69–87
- 33- **Knip M (2002)** Can we predict type 1 diabetes in the general population?. Diabetes Care; 25(3):623-5.
- 34- **Knip M, Veijola R, Virtanen SM, Hyoty H, Vaarala O, Akerblom HK(2005)** . Environmental triggers and determinants of type 1 diabetes. Diabetes ;54:125-36.
- 35- **Lang P-O. (2013)** La vitamine D : effets de son déficit et de sa supplémentation sur l'incidence des infections, 13, Issue 74, 79–88.
- 36- **Lew A, Rutter WJ , Kennedy GC (2000)**
Unusual DNA structure of the diabetes susceptibility locus IDDM2 and its effect on transcription by the insulin promoter factor Pur-1/MAZ.
Proc Natl Acad Sci USA ; 97 : 12508–12.
- 37- **Littorin B, Blom P, Schölin A, Arnqvist HJ, Blohmé G, Bolinder J, Ekblom-Schnell A, Eriksson JW, Gudbjörnsdottir S, Nyström L, Ostman J, Sundkvist G (2006)** .Lower levels of plasma 25-hydroxyvitamin D among young adults at diagnosis

of autoimmune type 1 diabetes compared with control subjects: results from the nationwide Diabetes Incidence Study in Sweden (DISS)
Diabetologia, **49**, no. 12, 2847–2852.

- 38- **Mallet E (2014)**. Vitamine D. *Journal de pédiatrie et de puériculture* , **27**, 29-38.
- 39- **McGibbon A , Richardson C, Hernandez C , Dornan J (2013)** . Pharmacothérapie du diabète de type 1, *Canadian Journal of Diabetes*, **37**, S422-S427
- 40- **Monnier L (2014)**. *Diabétologie 2éme édition* , *Elsevier Masson*.2014
- 41- **Mora JR, Iwata M, von Andrian UH (2010)**. Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. *Nat Rev Immunol*
- 42- **Murry E (2011)**. Actualités sur la vitamine D et nouvelles perspectives thérapeutiques. universite joseph fourier , Faculté de pharmacie de grenoble
- 43- **Ronald G et Zubi P (2013)** . Définition, classification et diagnostic du diabète, du prédiabète et du syndrome métabolique. *Canadian Journal Diabetes* ;**37** , S369-S372.
- 44- **Svoren B.M, Volkening L. K, Wood J. R, Laffel L.M. B (2009)**. Significant vitamin D deficiency in youth with type 1 diabetes mellitus. *Journal of Pediatrics*, **154**, no 1, 132–134.
- 45- **Tonson la Tour A, Wilhelm-Bals A, Gonzalez Nguyen Tang E, Girardin E(2012)**
Le point sur la vitamine D. *Pediatrica* , **23** , no. 4.
- 46- **Vivien M**. Le diabète de type 2 et le déficit en vitamine D. université Angers ,
- 47- **O. Rodland, T. Markestad, L. Aksnes, and D. Aarskog, (1985)**
Plasma concentration of vitamin D metabolites during puberty of diabetic children, *Diabetologia*, **28**, no. 9, 663–666
- 48- **Panierakis C, Goulielmos G, Mamoulakis D, Petraki E, Papavasiliou E, Galanakis E (2009)**. Vitamin D receptor gene polymorphisms and susceptibility to type 1 diabetes in Crete, Greece. *Clin Immunol* ;133:276-81.
- 49- **P. Pozzilli, S. Manfrini, A. Crino et al (2005)**. Low levels of 25- hydroxyvitamin D3 and 1, 25-dihydroxyvitamin D3 in patients with newly diagnosed type 1 diabetes . *Hormone and Metabolic Research*, **37**, no. 11, 680–683
- 50- **Ross AC (2011)**. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab* .96 (1); 53–8
- 51- **Redondo MJ, Jeffrey J, Fain PR, et al (2008)** . Concordance for islet auto-immunity among monozygotic twins. *N Engl J Med* ; 359 : 2849–50.

- 52- Serban A, Boitard C, Larger E (2014). P142 Anticorps anti-ZnT8 dans le diabète de type 1 : analyse sur un groupe de 185 patients. Diabetes & Metabolism , 40, Supplement 1, A62–A63.**
- 53- Schoindre Y, Benveniste O, Costedoat-Chalumeau N (2013) Vitamine D et auto-immunité .Presse Med; 42: 1358–1363**
- 54- Schoindre Y, Terrier B, Kahn J-E, Saadoun D, Souberbielle J-C, Benveniste O, Amoura Z , Piette J-C, Cacoub P, Costedoat-Chalumeau N(2012). Vitamine D et auto-immunité. Première partie : aspects fondamentaux. La Revue de médecine interne ,33 ,80–86.**
- 55- Souberbielle JC, Prie D, Courbebaisse M, et al. (2008). Update on vitamin D and evaluation of vitamin D status. Ann Endocrinol;69:501-10.**
- 56- V.Preumont et M. Buyschaert (2013). Evaluation du taux de vitamine D et du nombre de patients prenant une supplémentation orale en vitamine D dans une population de diabétiques de type 1 et 2 suivis en consultation .Diabetes & Metabolism , **39**, Supplement 1, 26–29 , A106**
- 57- Yoland Schoindre, Olivier Benveniste et Nathalie Costedoat-Chalumeau (2013) Vitamine D et auto-immunité .Presse Med.; 42: 1358–1363**