

UNIVERSITÉ DE LILLE
FACULTÉ DE MÉDECINE HENRI WAREMBOURG
Année 2020

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

**Etude descriptive d'une cohorte d'enfants apparentés à des sujets
diabétiques de type 1**

Présentée et soutenue publiquement le 4 décembre 2020 à 18h
au Pôle Formation
par **Thomas LEMOINE**

JURY

Président :

Monsieur le Professeur Pierre FONTAINE

Assesseurs :

Monsieur le Professeur Pascal PIGNY

Madame le Docteur Isabelle FAJARDY

Madame le Docteur Clara LEROY

Directeur de thèse :

Madame le Professeur Anne VAMBERGUE

Travail du Centre de Dépistage du Pré-diabète de type 1 du C.H.R.U de Lille

Avertissement

La faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.

Table des matières

INTRODUCTION :	14
EPIDEMIOLOGIE DU DIABETE DE TYPE 1	18
PHYSIOPATHOLOGIE DU DIABETE DE TYPE 1	20
I/Processus auto-immun :	20
A/Le système immunitaire :	21
1) Généralités :	21
2) Le rôle des lymphocytes T :	22
B/La réponse auto-immune au cours du diabète de type 1 :	24
1) Physio-pathogénèse :	24
2) Mécanismes de lyse des cellules β :	25
3) Les cibles de la réponse immunitaire : les auto-antigènes et la réponse humorale	29
II/Prédisposition génétique	35
III/Histoire naturelle du diabète :	38
ETUDES DE COHORTE ET DE PREVENTION	41
I/Études de cohortes :	41
A/Descriptif et résultats des études de cohorte :	41
1) Type 1 Diabetes Prediction and Prevention, l'étude DIPP:	42
2) Diabetes Prediction in Skåne, l'étude DiPiS :	44
3) The Diabetes Autoimmunity In The Young study, l'étude DAISY:	46
4) Les études BABYDIAB et BABYDIET :	50
5) The Environmental Determinants of Diabetes in the Young : l'étude TEDDY	53
6) All Babies in Southeast Sweden : l'étude ABIS	57
7) L'étude MIDIA (Miljøårsaker til type 1-diabetes)	58
B/Facteurs environnementaux étudiés :	59
1) Potentiels facteurs de risque :	59
2) Potentiels facteurs protecteur :	64
C/Impact psychologique des études de cohorte :	68
II/Études de prévention :	70
A/Prévention primaire :	71
1) L'étude TRIGR : Protéines de lait de vache	71
2) L'étude BABYDIET : Régime sans gluten	71
3) L'essai Pre-Point :	72

B/Prévention secondaire :	73
1) Favoriser la tolérance :	73
2) Protéger la cellule β :	75
C/Prévention tertiaire :	78
1) La Ciclosporine et l'Azathioprine	78
2) Immuno-modulateur plus spécifique	78
3) L'insuline orale	80
4) La vaccination	80
5) Thérapie cellulaire - Cellules souches	81
6) Autres études	82
EPIDEMIOLOGIE DESCRIPTIVE DE LA COHORTE	85
I/ Matériels et méthodes	85
A/Patients inclus dans l'étude :	85
B/Définitions :	87
C/Méthode de dosage des auto-anticorps :	88
1) Dosage des ICA	88
2) Dosage des anticorps anti-GAD	88
3) Dosage des anticorps anti-IA2	89
4) Dosage des anticorps anti-insuline	90
D/Réalisation de l'analyse génétique :	91
E/Analyse statistique :	94
II/Résultats	95
A/Première partie : Population générale	95
B/Deuxième partie : Patients ayant eu une séroconversion	99
C/Troisième Partie : Risque de devenir diabétique	117
III/Discussion	130
IV/Conclusion :	148
ANNEXE	150
BIBLIOGRAPHIE	151

Abréviations

AAI	Anticorps anti-insuline
AIRE	Auto-Immune Regulator
APECED	Auto-immune PolyEndocrinopathy, Candidiasis, Ectodermal Dystrophy
Anti-ZnT8	Anti-protéine transporteuse du zinc
ASP	Aspartate
CD	Cluster de différenciation
CPA	Cellule présentatrice d'antigène
CTLA-4	Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4
FOX-P3	Forkhead box P3
GAD	Acide glutamique décarboxylase
HbA1c	Hémoglobine glyquée
HGPO	Hyperglycémie provoquée par voie orale
HPIV	Hyperglycémie provoquée par voie veineuse
HSP	Heat shock proteins
HLA	human leukocyte antigen
IA-2	Insulinoma Antigen-2
ICA	Anticorps anti-îlots de Langerhans
Ig	Immunoglobine
IPEX	Immunodysregulation polyendocrinopathy enteropathy X-linked
NOD	Non-obese diabetic
PD-1	Programmed Cell Death-1
PTPN	Protein tyrosine phosphate, non-receptor
TCR	T cell receptor
VNTR	Variable number of tandem repeats

INTRODUCTION :

Le terme « diabète » désigne un ensemble hétérogène de maladies métaboliques caractérisées par un état d'hyperglycémie chronique (1). Celle-ci s'associe au développement de complications micro-angiopathique et à une augmentation du risque cardiovasculaire.

L'immense majorité, au moins 90 % des formes de diabètes, est regroupée dans une pathologie assez mal définie, longtemps asymptomatique, qui survient généralement après la cinquantaine, particulièrement chez des personnes en surpoids ou qui ont des antécédents familiaux de la même maladie : c'est le diabète de type 2.

Le diabète de type 1 est beaucoup plus rare, c'est une maladie auto-immune secondaire à la destruction des cellules insulino-sécrétrices, les cellules β , situées dans les îlots de Langerhans du pancréas. Le processus auto-immun responsable d'une insulite, décrite pour la première fois en 1965, se déroule sur une période de plusieurs mois à plusieurs années. C'est une affection bruyante avec des signes cliniques souvent intenses (polyurie, polydipsie, amaigrissement) et survenant préférentiellement dans l'enfance et l'adolescence ou chez l'adulte jeune.

Aujourd'hui, en France, un sujet est considéré comme diabétique s'il est dans une des situations suivantes (1):

- glycémie à jeun supérieure ou égale à 1,26 g/L à 2 reprises (le jeûne est défini par l'absence d'apport calorique depuis au moins 8 heures);
- ou signes cliniques d'hyperglycémie (signes cardinaux classiques à savoir : polyurie, polydipsie, perte de poids inexplicée) et découverte au hasard à un moment quelconque de la journée d'une glycémie supérieure ou égale à 2 g/L
- ou glycémie à la 2^{ème} heure d'une HGPO (en utilisant une charge orale en glucose anhydre égale à 75 g que l'on dissout dans de l'eau) supérieure ou égale à 2 g/L.

La majorité des diagnostics cliniques du diabète de type 1 se font devant un tableau d'hyperglycémie associés au syndrome cardinal : la carence en insuline induit une hyperglycémie qui, au-delà de 1,80g/L (seuil rénale d'absorption du glucose) entraîne une glycosurie. Le pouvoir osmotique du glucose provoque une diurèse osmotique et donc une polyurie. Cette fuite d'eau doit être compensée par une polydipsie. La diminution de l'utilisation de glucose, en tant que substrat énergétique, force l'organisme à puiser dans ses réserves, en utilisant les graisses et les acides aminés. Ceci conduit à un amaigrissement ainsi qu'à la formation de corps cétoniques. Ces derniers sont à l'origine de l'acidocétose ou céto-acidose diabétique. Elle révèle un diabète de type 1 dans pratiquement la moitié des cas (2).

Le diagnostic paraclinique du diabète de type 1 passe par la confirmation de l'hyperglycémie selon les critères suscités mais aussi par la confirmation de l'insulinopénie : via le dosage du peptide C plasmatique à jeun. Il est actuellement reconnu qu'au moment du diagnostic, 80 à 90% des cellules β sont détruites. La recherche d'une cétonurie associée à une glycosurie à la bandelette urinaire traduit également une carence en insuline, elle doit amener à rechercher l'acidose qu'elle peut entraîner. La recherche de la nature auto-immune pour confirmer l'étiologie du diabète passe par les dosages des anticorps anti-GAD, anti insuline et anti-IA2 entre autre et par la recherche d'haplotypes de susceptibilité (gènes HLA de la classe II). Plusieurs études ont montré qu'il existait une prédisposition génétique au diabète de type 1.

Dans la population caucasienne, le risque de développer la maladie est d'environ 0,4% mais ce risque passe à 5 % pour les patients ayant un apparenté au premier degré atteint. Les études ont permis de caractériser les risques que confère l'existence d'un cas de diabète de type 1 au sein d'une famille : 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 presque 50 % dans la plupart des études, ce qui démontre un impact majeur de la génétique. La concordance imparfaite du diabète de type 1 au sein des paires de jumeaux monozygotes suggère fortement que

d'autres éléments se mêlent aux prédispositions génétiques pour déclencher la maladie. De plus, l'incidence du diabète de type 1 s'accroît fortement ces dernières années et donc ne peut correspondre qu'à une modification génomique de la population.

Le processus pathologique conduisant au diabète de type 1 est initié plusieurs mois voire plusieurs années avant l'apparition de l'hyperglycémie. Il s'agit, tout d'abord, de l'insulite, mise en évidence en pratique par la présence d'auto anticorps dirigés contre les antigènes pancréatiques puis le pré-diabète qui associe l'insulite et des anomalies de la régulation glycémique. En combinant l'analyse des données génétiques et des marqueurs biologiques, il est possible d'estimer, pour un individu, le risque théorique de développer un diabète de type 1.

Cependant, cette pathologie est trop rare et la valeur prédictive de ces marqueurs est trop faible pour effectuer un dépistage systématique dans la population générale. Par contre, étant donnée la prévalence chez les individus présentant une histoire familiale de diabète de type 1, les fratries issues d'un parent atteint ou comportant un enfant atteint sont susceptibles de bénéficier d'un dépistage. C'est à partir de ces familles que des essais thérapeutiques préventifs peuvent être mis en place et elles constituent des outils efficaces pour approfondir les connaissances des facteurs génétiques ou environnementaux de l'histoire naturelle du diabète de type 1.

De plus, le dépistage permet d'une part, de répondre aux interrogations des familles qui veulent savoir si leurs enfants sont à risque de développer un diabète et d'autre part de permettre un diagnostic précoce et d'éviter une entrée dans la maladie à un stade de céto-acidose potentiellement grave. Dans une grande majorité des cas, le dépistage permet de rassurer les familles en l'absence de risque.

A Lille, en 1996, fut créé le centre clinico-biologique de dépistage du diabète de type 1. Nous proposons à des familles, dont un des parents ou un enfant est atteint de diabète de type 1, une analyse de risque, par l'étude de certains marqueurs génétiques (typage HLA) et un suivi des enfants à la fois clinique et immunologique (auto-anticorps).

Dans ce travail nous présenterons dans un premier temps les données générales relatives à l'épidémiologie, la physiopathologie et l'histoire naturelle du diabète de type 1 puis nous détaillerons les différentes cohortes de patients à risque et les études de prévention et leurs apports dans la compréhension du diabète. Enfin, nous décrirons la population suivie au centre de dépistage sur une période d'environ 20 ans et nous analyserons le profil sérologique de ces patients pour identifier une population à haut risque.

EPIDEMIOLOGIE DU DIABETE DE TYPE 1

Le diabète de type 1 est considéré comme relativement rare et représente, en France, environ 10% de l'ensemble des diabètes. Environ 1,1 million le nombre d'enfants et d'adolescents de moins de 20 ans vivent avec un diabète de type 1 dans le monde en 2019. Le nombre de nouveaux cas est estimé à 128900 par an entre 0 et 20 ans. L'incidence annuelle du diabète de type 1 comporte une grande variabilité internationale. Pour la tranche d'âge 0-14 ans où il y a d'avantage de données, l'incidence est de 57 pour 100000 enfants de moins de 15 ans en Finlande alors qu'elle est 0,6 pour 100000 enfant de moins de 15 ans en Chine. Plus d'un quart du nombre total de diabète de type 1 vivent en Europe.

Cependant, malgré ces disparités, à l'échelle mondiale, on note une augmentation annuelle globale de l'incidence d'environ 2 à 3 % par an. L'étude SEARCH (3), une étude observationnelle multicentrique, suggère que l'incidence entre 2002 et 2009 chez les sujets jeunes américains (<20 ans) blancs non-hispaniques, diabétique de type 1, augmente de 2,7% par an. De manière similaire, l'étude EURODIAB (4) évaluant la tendance de l'incidence du diabète de type 1 dans 17 pays européens entre 1989 et 2003 chez des sujets jeunes de moins de 15 ans retrouve une augmentation de 3,9% de l'incidence annuelle. L'étude EURODIAB confirme l'incidence plus élevée dans les pays Scandinaves et également en Sardaigne alors que l'incidence est plus basse en Europe centrale et Europe du Sud. Les plus fortes augmentations observées de l'incidence du diabète de type 1 concernent les enfants de moins de 15 ans, en particulier ceux de moins de 5 ans (augmentation annuelle de 5,4% entre 0 et 4 ans). Ces augmentations ne peuvent être expliquées par des changements génétiques et mettent en évidence l'importance des facteurs de risque environnementaux. De plus, l'incidence de la maladie augmente chez les migrants d'une région à faible incidence vers une zone de plus forte incidence (5). Enfin, il existe un caractère saisonnier de la manifestation clinique de la maladie chez l'enfant. Le diagnostic est souvent fait en hiver et au début du printemps (4) ce qui pourrait

suggérer le rôle des infections virales saisonnières capables de précipiter la carence en insuline. Il serait intéressant d'étudier l'incidence des infections virales pendant la période de pandémie Covid-19, qui devrait probablement être plus faible que les années précédentes en raison des mesures sanitaires prises (geste barrières, port du masque, distanciation sociale ...), et d'en évaluer l'impact sur les cas de diabète de type 1 diagnostiqués pendant cette période.

En France, on estime à plus de 27000 enfants (entre 0-19 ans) atteint d'un diabète de type 1 en 2019. Entre 2013 et 2015 le taux d'incidence en France était de 18 pour 100000 personnes-années avec des variations régionales : 19,7 pour 100000 personnes-années dans les Hauts-de-France (Figure A) et 16,8 pour 100000 personnes-années en Nouvelle-Aquitaine alors qu'en 1997, il était de 9,6 pour 100000 habitants par an (6).

Taux d'incidence du diabète de type 1 en France (hors Mayotte) chez les enfants, par région, 2013–2015

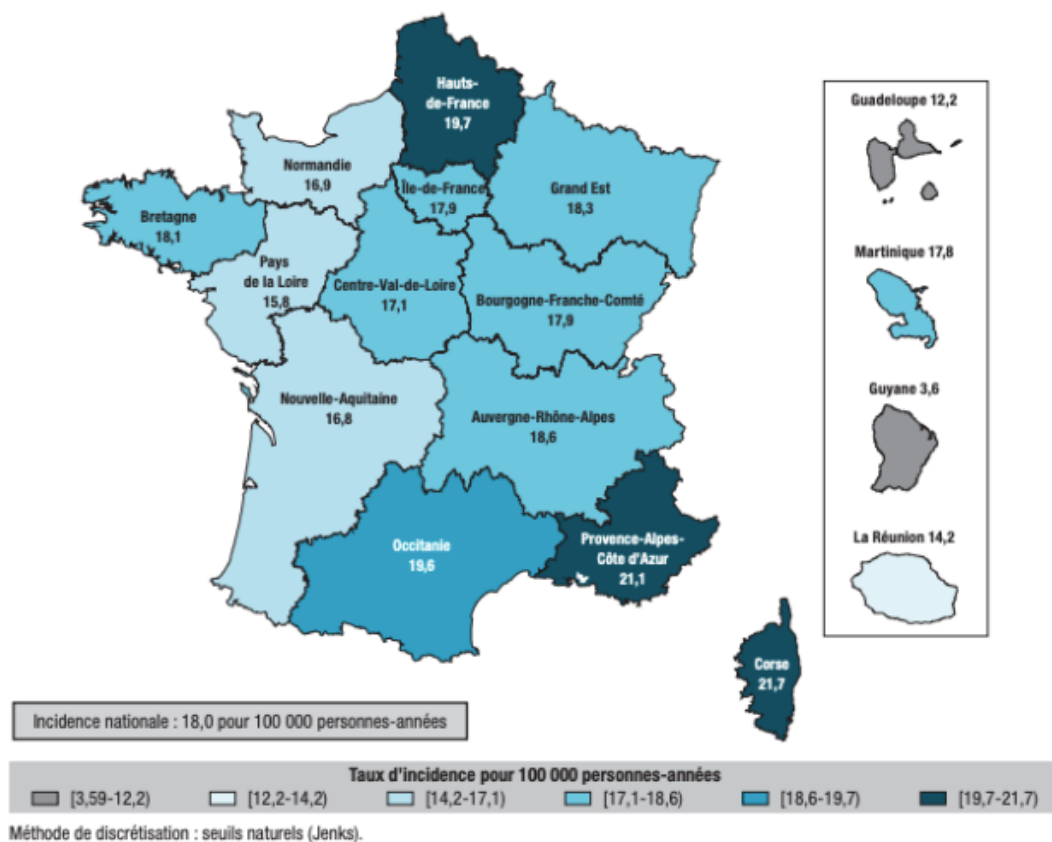


Figure A : Taux d'incidence du diabète de type 1 (Santé publique France)

PHYSIOPATHOLOGIE DU DIABETE DE TYPE 1

I/Processus auto-immun :

Le diabète de type 1 est une maladie auto-immune spécifique d'organe : la cellule β -pancréatique. Elle est le siège de la production d'insuline. La destruction progressive de ces cellules aboutit à une carence absolue en insuline.

La première description histologique d'une infiltration inflammatoire du pancréas (insulite) date de 1958 (7) et suggère déjà à l'époque une origine auto-immune. Cependant, il faudra attendre les années 70 pour que le concept d'auto-immunité du diabète fasse un bond en avant suite à la découverte d'anticorps anti-îlots de Langerhans détectés par immunofluorescence indirecte (sur coupes de pancréas humain) en 1974(8) et des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (ou HLA en anglais pour human leukocyte antigen) associées au diabète en 1975 (9).

De plus, le concept d'auto-immunité s'est grandement appuyé sur la découverte de deux modèles animaux :

- la souris NOD pour Non Obese Diabetic mouse (10)
- le rat BioBreeding/Wistar(11).

La souris NOD développe un diabète insulino-pénique vers le 120^{ème} jour de vie. Une phase silencieuse initiale, marquée par une infiltration lymphocytaire des îlots de Langerhans précède la lésion d'insulite. La participation de l'immunité cellulaire est confirmée par la possibilité de transférer le diabète à un hôte sain en lui injectant des lymphocytes spléniques d'animaux diabétiques (transfert adoptif) (12). L'incidence du diabète chez ses souris dépend fortement de

l'environnement : jusqu'à 100 % pour les souris femelles élevées dans des conditions sans pathogène et l'incidence chute dans les élevages exposés aux infections non contrôlées. Le rat BB/W développe un diabète vers les 60^{ème} – 80^{ème} jours de vie. On peut moduler la survenue du diabète en modifiant l'alimentation des rats pendant la période de sevrage (13). Il existe une souche dite DR résistante au diabète ce qui permet d'explorer les mécanismes protecteurs. Néanmoins, malgré de nombreuses homologues, il existe des différences majeures avec le diabète de type 1 humain et la discussion de l'utilité de ses modèles animaux font encore l'objet de débats.

A/Le système immunitaire (14):

1) Généralités :

L'analogie entre notre système immunitaire et une armée défendant un territoire est une clé pour mieux appréhender le système immunitaire. On retrouve une hiérarchie pour les cellules du système immunitaire.

Les cellules du système immunitaire inné (comme par exemple les polynucléaires neutrophiles ou les macrophages) agissent rapidement lors du contact avec un pathogène. Ces cellules sécrètent des médiateurs de l'inflammation comme les cytokines.

Dans un second temps, les cellules du système adaptatif (lymphocytes T et B) ont une réponse plus ciblée, capables de reconnaître les structures moléculaires, les antigènes, propres à chaque pathogène ou cellule du soi. Les anticorps, pour les lymphocytes B, et les récepteurs d'antigène (ou TCR pour T cell receptor), pour les lymphocytes T, reconnaissent spécifiquement des parties d'antigène, les épitopes.

2) Le rôle des lymphocytes T :

a) L'éducation thymique :

Le lymphocyte T a pour rôle d'amplifier ou de freiner la réponse immunitaire. Il se caractérise par l'expression de marqueurs membranaires :

- le CD3
- un récepteur spécifique : le TCR qui est directement impliqué dans la reconnaissance antigénique.

La maturation des lymphocytes T se déroule dans le thymus. A partir de cellules souches hématopoïétiques provenant de la moelle osseuse, sont produits des lymphocytes pro-T. Une phase de maturation, permettant à ses lymphocytes d'exprimer à la fois CD4 et CD8, précède une phase de sélection par la présentation du HLA avec le récepteur TCR du lymphocyte T.

Chaque lymphocyte T est donc capable de reconnaître spécifiquement certains peptides qui leur seront présentés par une cellule présentatrice d'antigène (CPA). Néanmoins, un même TCR peut reconnaître, avec une affinité moindre, d'autres antigènes présentés par le HLA. Cette poly-spécificité est indispensable car la probabilité qu'un lymphocyte T naïf arrivant dans un ganglion trouve par hasard et d'emblée le couple peptide-HLA qui lui est spécifique est quasi nulle, alors que cette stimulation par le TCR est primordial pour la survie du lymphocyte T naïf. Il existe 2 principaux types de lymphocytes T : les CD8+ cytotoxiques et les CD4+.

La phase de sélection permet d'orienter le lymphocyte T vers l'un ou l'autre type :

- Les lymphocytes dont les récepteurs TCR ont une affinité pour les CMH de classe I conservent l'expression du CD8 et perdent le CD4 devenant des lymphocytes T CD8+.
- Ceux dont les récepteurs reconnaissent le HLA de classe II, conservent le CD4 et perdent le CD8 devant ainsi des lymphocytes T CD4+.
- Les lymphocytes qui ne reconnaissent pas de molécule du HLA meurent par apoptose, c'est un échec de sélection positive.

- De même, les lymphocytes T immatures double positifs dont les récepteurs reconnaissent fortement les complexes HLA dans le thymus sont éliminés par apoptose, c'est la sélection négative. Ceci permet d'éliminer les lymphocytes T susceptibles de réagir de manière nocive contre les antigènes du soi.

b) L'activation du lymphocyte T :

Le lymphocyte T CD4 naïf, qui n'a pas encore été au contact avec son antigène spécifique, quitte le thymus et circule alternativement entre la circulation sanguine et lymphatique et ainsi passe régulièrement dans les organes lymphoïdes secondaires (ganglions, rate).

Dans les organes lymphoïdes, les antigènes pathogènes sont présentés par les CPA aux lymphocytes circulants. Les cellules dendritiques, présentes dans tous les tissus, ont pour rôle de récupérer les débris apoptotiques et de les digérer afin de présenter des fragments peptidiques (les antigènes) à leur surface dans le cadre des molécules HLA. Ces cellules vont migrer vers les ganglions lymphatiques, où transitent des lymphocytes T CD4 naïfs.

Pour qu'une cellule T naïve devienne effectrice, trois signaux sont nécessaires :

- Le 1^{er} signal : L'interaction entre le TCR et le HLA des cellules dendritiques induit un signal mais qui n'est cependant pas suffisant pour activer le lymphocyte T.
- Le 2^{ème} signal : le signal de "co-stimulation" tel que la liaison du CD28 (lymphocyte T) et la molécule B7 (à la surface des cellules dendritiques) induisent un deuxième signal qui est indispensable à la transmission du signal intracellulaire aboutissant à l'activation du lymphocyte T.
- Le dernier signal résulte des cytokines sécrétées par les cellules dendritiques qui stimulent les lymphocytes T et favorisent leur différenciation en sous-types lymphocytaires.

B/La réponse auto-immune au cours du diabète de type 1 :

1) *Physio-pathogénèse :*

Le fonctionnement du système immunitaire dans sa réponse pathologique vis-à-vis d'une cellule du Soi, comme la cellule β , n'est pas très différent de la réponse physiologique contre un pathogène étranger ou face à une cellule cancéreuse.

Normalement, les lymphocytes T, capables de reconnaître le Soi, sont peu nombreux. En effet, au niveau thymique lors de la phase de sélection, quand un lymphocyte T reconnaît des auto-antigènes, il est perçu comme potentiellement dangereux et est donc éliminé sur place : c'est la sélection négative. Malheureusement, il arrive que certains lymphocytes auto-réactifs s'échappent vers la circulation : c'est la tolérance centrale.

Au niveau ganglionnaire, les lymphocytes T reconnaissant le Soi, transitent constamment entre le système lymphatique et la circulation sanguine. Ils se différencient vers un phénotype de lymphocyte T régulateur (T reg) lorsqu'une cellule dendritique migrant dans un ganglion, présente, via le HLA, les antigènes du Soi et notamment ceux de la cellule β . C'est un état de tolérance immunitaire. Les lymphocytes Treg ont la particularité de freiner la réponse immune après avoir reconnu les auto-antigènes via l'expression de CTLA-4 à leur surface ou via la libération de cytokines inhibitrices (IL-10). Ces lymphocytes T expriment en grandes quantités la molécule CD25 et le facteur de transcription FOX-P3.

La présence de populations cellulaires régulatrices capables de contenir les clones auto-réactifs est connue dans les modèles animaux. Le transfert adoptif de la souris NOD n'étant possible que si les cellulaires immunitaires de l'hôte sont préalablement détruites (par irradiation), c'est le témoin indirect de l'existence de ces populations régulatrices. Les plus connues sont les lymphocytes T régulateurs CD4⁺ CD25⁺. La présence d'un diabète auto-immun dans le syndrome IPEX (Syndrome de dérèglement immunitaire-polyendocrinopathie-entéropathie lié

à l'X) causé par la mutation inactivatrice de FOXP3, causant l'absence de cellules CD4+ CD25+, est une preuve supplémentaire du rôle que jouent ces populations régulatrices.

Les cellules du système immunitaire inné (macrophages...) peuvent migrer dans le pancréas en réponse à des facteurs environnementaux et sécréter des cytokines inflammatoires qui sont perçus par les lymphocytes T comme un signal de danger. Les lymphocytes T CD4+ ainsi activés, au niveau des ganglions lymphatiques, se différencient vers un phénotype de type « effecteur ». Ils organisent ainsi la réponse immunitaire, en activant encore plus de cellules dendritiques, en attirant des lymphocytes T CD8+ cytotoxiques et en stimulant la prolifération des lymphocytes B qui produisent à leur tour les auto-anticorps.

Au niveau des îlots pancréatiques, ces lymphocytes T « effecteurs » surpassent les lymphocytes T régulateurs et orchestrent la destruction de la cellule β .

Ainsi trois paramètres sont déterminants au déclenchement du processus auto-immun du diabète de type 1 :

- La disponibilité des antigènes de la cellule β ;
- Des lymphocytes T auto-réactifs capables de reconnaître ces antigènes de la cellule β et de surpasser la réponse immunitaire régulatrice ;
- Un contexte inflammatoire dans le microenvironnement pancréatique.

2) Mécanismes de lyse des cellules β :

a) L'insulite :

La lésion primordiale du diabète de type 1 est l'insulite (infiltration cellulaire des îlots de Langerhans). Les données des modèles animaux, souris NOD et le rat BB/W, soutiennent l'hypothèse que la destruction β -pancréatique résulte d'une réaction immunitaire cellulaire de type Th1. Par exemple, les immunosuppresseurs déprimant la fonction cellulaire T comme la cyclosporine A ou les anticorps anti-CD3 murins sont relativement protecteurs (15,16).

Chez l'homme, l'infiltration cellulaire des îlots est dominée par les lymphocytes CD8+. La lyse des cellules β du pancréas passe, non exclusivement, par l'action cytotoxique des lymphocytes T CD8+. De véritables transferts adoptifs du diabète de type 1 sont survenus au cours de greffes de moelle allogéniques entre sujets HLA identiques (17). De même que chez la souris NOD, des remissions plus ou moins longues ont été obtenues en agissant sur la fonction cellulaire T, sans toutefois obtenir une réelle guérison (18).

b) La rupture de la tolérance immunitaire :

Une défaillance de la sélection négative des lymphocytes T au niveau thymique peut entraîner un diabète de type 1. Des anomalies dans la tolérance centrale ont été décrites chez la souris NOD (19). Chez l'Homme, c'est également le cas pour certaines formes de diabète auto-immun notamment le syndrome APECED (Auto-immune PolyEndocrinopathy, Candidiasis, Ectodermal Dystrophy), une poly-endocrinopathie liée à une mutation du gène AIRE. Ce gène code pour un facteur de transcription exprimé dans le noyau des cellules épithéliales thymiques. Le gène AIRE est indispensable à l'étape de sélection négative des précurseurs de lymphocyte T auto-réactifs. En cas de mutation, certains des auto-antigènes, sous la dépendance du facteur de transcription AIRE, sont incorrectement présentés et les lymphocytes T qui les reconnaissent, ne sont pas soumis à la sélection négative et peuvent ainsi passer, en grand nombre, dans la circulation périphérique.

Autre exemple, il existe un locus de vulnérabilité contenant le VNTR (variable number of tandem repeats) du gène de l'insuline, une région régulatrice du gène de l'insuline, contrôlant l'expression de l'insuline au niveau thymique (20). Le VNTR est une zone très polymorphe dans le nombre de répétitions d'unités d'ADN. Elle est située en amont du gène de l'insuline (11p15). On distingue, les allèles de classe I (IL et IS) dont le nombre de séquences répétées est petit (26 à 63) et sont associés à une susceptibilité accrue vis-à-vis du diabète de type 1. Tandis que les allèles de classe III qui se composent d'un grand nombre de répétitions (140 à 200), confèrent

une protection vis-à-vis de la maladie. Les allèles de prédisposition induisent une expression plus faible d'insuline dans le thymus, ce qui mène à une élimination moins efficace des lymphocytes T anti-insuline et à leur présence en quantité plus importante dans la circulation. Certains HLA pourraient aussi être défaillants dans leur activité de présentation des auto-antigènes et pourraient jouer un rôle dans la rupture de la tolérance immunitaire.

Rappelons également que la tolérance périphérique a un rôle tout aussi important (Cf. syndrome IPEX). La sélection négative thymique est donc incomplète et doit être renforcée par un contrôle périphérique des lymphocytes auto-réactifs (via les lymphocytes T reg). On peut aussi citer les allèles de prédisposition CTLA-4 qui codent une molécule limitant l'activation du lymphocyte T. Les variantes CTLA-4, associées au diabète, codent pour des molécules moins efficaces dans cette action « freinatrice ». De plus, actuellement, les anticorps monoclonaux anti-CTLA-4 (mais aussi PD-1), de plus en plus utilisés en oncologie, ont comme effet secondaire fréquent le déclenchement de maladie auto-immune, dont parfois un diabète.

Les cytokines peuvent aussi participer à la rupture de la tolérance. Le profil fonctionnel des lymphocytes T peut s'orienter soit vers un phénotype Th1 en présence d'IL-2 et d'INF- γ , soit vers un phénotype Th2 en présence d'IL-4 et IL-10. Chez la souris NOD, il est possible de moduler la prévalence du diabète en agissant sur ces profils, Th1 étant sensibilisateur et Th2 protecteur.

Le rôle de l'immunité naturelle doit être aussi soulevé. Les premières cellules envahissant l'îlot chez la souris NOD ou le rat BB sont les macrophages. Ces cellules provoquent une réaction inflammatoire avec sécrétion de cytokines et des molécules co-stimulatrices. Cet orage inflammatoire est susceptible d'induire localement à la fois des anomalies fonctionnelles et structurales des cellules β et une stimulation de l'immunité adaptative. Ce système pourrait jouer un rôle important dans la rupture de tolérance.

c) Rôle de la cellule β

L'infiltrat immunitaire dans les différents îlots est incroyablement hétérogène. On observe des îlots complètement détruits par les lymphocytes T, d'autres où l'infiltrat reste à la périphérie et d'autres encore qui sont complètement préservés.

La cellule β joue donc probablement un rôle par elle-même dans la destruction induite par les lymphocytes T. Certes, l'inflammation qui entoure la cellule β modifie son «image immunologique» en la rendant plus visible pour le système immunitaire (largage d'antigènes après lyse cellulaire, surexpression des molécules HLA de classes I par la cellule β). Mais, la cellule β est dotée d'un système immunitaire autonome, qui a la capacité de sécréter des cytokines inflammatoires (IFN γ et IL-2). Ces derniers attirent de nouvelles cellules immunitaires dans l'ambiance locale et augmentent leur activation. De plus, ces cytokines, par un effet autocrine, provoque l'apoptose de la cellule β .

En conclusion, les mécanismes impliqués dans le déclenchement de la réponse auto-immune dirigée contre les cellules β restent inconnus. Il peut s'agir d'un défaut de sélection au niveau du thymus, d'une anomalie intrinsèque du lymphocyte T, d'un défaut de contrôle périphérique par les cellules régulatrices, d'une ambiance cytokinique singulière, d'une incapacité de la cellule β à se défendre ou même qui participe à sa propre destruction.

3) Les cibles de la réponse immunitaire : les auto-antigènes et la réponse humorale

a) Définition :

Les auto-antigènes, au cours du diabète, sont des protéines du Soi qui sont reconnues soit par des anticorps, soit par les cellules du système immunitaire. Les auto-anticorps reconnaissent des épitopes le plus souvent conformationnels (liés à la structure de la protéine), alors que les lymphocytes T reconnaissent eux surtout des structures peptidiques, qui doivent être doublement ajustées à la molécule de HLA de la CPA d'une part et à la reconnaissance du récepteur TCR spécifique d'autre part.

L'identification des auto-antigènes impliqués dans la réponse dirigée contre les cellules β pancréatiques a beaucoup bénéficié de la recherche des auto-anticorps impliqués. Ceux-ci ont permis d'identifier la plupart des cibles potentielles de la réaction auto-immune.

La réponse humorale associée au diabète est dirigée contre plusieurs auto-antigènes dominés par la triade :

- GAD (Glutamic Acid Decarboxylase),
- IA-2 (Insulinoma Antigen-2)
- Insuline

auxquels s'ajoutent la recherche des anticorps anti-îlots (ICA), utilisée historiquement, réalisée par immunofluorescence indirecte sur des coupes de pancréas humain de groupe O (actuellement sur des pancréas de primate) et de ce fait très opérateur dépendant.

b) Différents auto-anticorps :

α) Anticorps anti-îlots de Langerhans (ICA) :

Bottazzo [2] en 1974 a été le 1^{er} à montrer l'existence d'auto-anticorps circulants dirigés contre les îlots de Langerhans et ainsi d'établir l'origine auto-immune au diabète de type 1. Les ICA sont des auto-anticorps dirigés contre une multitude de spécificités antigéniques du cytoplasme des cellules des îlots de Langerhans, dont font partie les auto-anticorps anti-GAD et anti IA-2. Elle ne détecte pas les auto-anticorps anti-insuline. Ils sont présents chez 75 à 90% des diabétiques de type 1 au moment du diagnostic et ont tendance à se négativer quelques mois ou années après le déclenchement de la maladie. Ils sont présents chez 3 à 9% des apparentés des diabétiques de type 1.

Actuellement la technique d'immunofluorescence indirecte est réalisée sur des coupes de pancréas de primate et le résultat est exprimé en unités JDF (Juvenile Diabetes Foundation) définies par rapport à un standard international.

β) Anticorps anti-GAD (décarboxylase de l'acide glutamique)

Les anticorps anti-GAD ont été identifiés par une équipe Californienne en 1994 (21). Ils ont constaté que le Stiffman syndrome, le syndrome de l'homme raide, une maladie neurologique caractérisée par une rigidité de certains muscles et des spasmes douloureux était souvent compliquée d'un diabète. Ils ont émis l'hypothèse que l'auto-anticorps impliqué dans ces deux maladies auto-immunes devait être commun : il s'agit des auto-anticorps anti-GAD spécifique du Stiffman syndrome.

La protéine GAD, glutamate décarboxylase, est l'enzyme qui convertit le glutamate en GABA (acide gamma-amino-butyrique). Elle existe sous deux iso formes de poids moléculaire différent : GAD-65 et GAD-67. Chez l'homme, les îlots de Langerhans n'expriment que la forme 65 kilodalton (kd). La protéine GAD est exprimée dans les cellules β des îlots de Langerhans mais aussi dans les autres types cellulaires des îlots et dans l'ensemble des neurones,

en particulier dans le cervelet. Dans les cellules β , la GAD est située dans les granules de sécrétion d'insuline. A noter que la protéine GAD 65 partage une homologie de structure avec une séquence de la protéine P2-C du virus Coxsackie B (22).

Les auto-anticorps anti-GAD sont en grande majorité des IgG1 de type polyclonal et sont dirigés contre des épitopes répartis sur l'ensemble de la molécule GAD 65. Ils peuvent précéder l'apparition du diabète et persistent longtemps après son diagnostic. C'est donc un excellent marqueur diagnostique du diabète de type 1. Leur prévalence est plus élevée chez les sujets HLA-DR3.

Les anticorps anti-GAD sont retrouvés chez 60 à 80% des diabétiques de type 1 au moment du diagnostic et persistent longtemps après le diagnostic. Ils sont retrouvés chez 20% des diabétiques après 25 ans de diabète. On retrouve des anticorps anti-GAD chez 2 à 5 % des apparentés diabétiques de type 1.

γ) Anticorps anti-IA-2 (Insulinoma Antigen-2 ou « isletcellantigen 512)

L'antigène IA-2 est une molécule transmembranaire exprimée dans les granules de sécrétion, s'apparentant à une tyrosine-phosphatase mais est inactive (23). Comme la GAD, elle est retrouvée dans toutes les cellules des îlots de Langerhans et des cellules du système nerveux. Il en existe deux formes : IA-2 (ou ICA 512) et IA-2 β (ou phogrine) codées par des gènes différents mais tous deux la cible d'anticorps impliquées dans le diabète de type 1. IA-2 s'exprime dans les cellules endocrines et neuronales alors que IA-2 β s'exprime préférentiellement dans les cellules β des îlots de Langerhans.

Les anticorps anti IA-2 reconnaissent exclusivement la partie intracellulaire de la molécule IA-2, seule impliquée dans l'immuno-réactivité. Les auto-anticorps anti-IA-2 sont moins fréquents dans le diabète de type 1 que la GAD. Il existe une association étroite entre les anti-IA-2 et l'haplotype HLA-DR4 (24). Les anticorps anti-IA2 sont dans une grande majorité des cas des IgG1 de type polyclonal et leur présence serait associée à une agressivité et une rapidité

d'évolution plus grandes de la maladie. Leur prévalence au moment du diagnostic de diabète de type 1 est augmenté chez les patients de moins de 20 ans. Leur titre diminue avec le temps. Les anticorps anti-IA2 sont retrouvés chez 1 à 4% des apparentés de diabétiques de type 1.

δ) Anticorps anti-insuline :

La première spécificité antigénique identifiée fut l'insuline (25). Il est le seul auto-antigène impliqué dans le diabète de type 1 à être véritablement spécifique des cellules β .

Les anticorps peuvent reconnaître l'ensemble de la molécule de pro-insuline (insuline + peptide C). Les anticorps anti-insuline (AAI) sont habituellement les premiers à apparaître dans l'histoire naturelle du diabète de type 1 comme l'a suggéré fortement l'étude BABYDIAB (26). Les auto-anticorps anti-insuline sont associés à HLA-DR4. La prévalence des AAI au moment du diagnostic, diminue avec l'âge. Ils sont présents entre 60-90% avant l'âge de 4 ans et entre 25-30% chez les adultes. Chez les apparentés de diabétiques de type 1, la prévalence varie entre 2 et 11% selon les études.

Néanmoins, les AAI ne sont pas spécifique du diabète de type 1. On en retrouve dans d'autres maladies auto-immunes, infections virales et chez 1% de la population générale sans aucune valeur prédictive d'un développement d'un futur diabète de type 1. D'ailleurs, les AAI n'ont pas la même spécificité lorsqu'ils sont associés au diabète de type 1. Les AAI prédisposant au diabète de type 1 reconnaissent la pro-insuline, les insulines humaines, porcines et bovines lorsque les IAA associés à d'autres pathologies ou chez les témoins reconnaissent seulement l'insuline humaine (27). Ces anticorps sont dans la majorité des cas des IgG3 ou IgG1. Ils peuvent être induits, en dehors de toute auto-immunité, par l'insulinothérapie sous-cutanée et sont généralement des IgG1 de type polyclonal. Malgré l'utilisation d'insuline humaine, 40 à 70% des patients diabétiques développent des AAI.

Enfin, un dosage isolé d'AAI positif a peu de valeur dans la population générale. Il faut qu'un deuxième auto-anticorps lui soit associé pour que le risque de développer un diabète augmente (28).

ε) Anticorps anti-Zn T-8 (29)

Le ZnT8, identifié en 2004, est exprimé très majoritairement par les cellules β pancréatiques à la surface des vésicules contenant l'insuline. Ce transporteur contrôle les mouvements du zinc, cation qui stabilise la molécule d'insuline.

Les anticorps anti-ZNT8 sont détectés chez 60 à 80 % des patients atteints de diabète de type 1. Ils sont retrouvés dans un quart des patients souffrant d'un authentique diabète de type 1 mais négatifs aux auto-anticorps traditionnels (30).

Il existe, à ce jour, deux techniques de dosage utilisables en routine: une technique de radio-immuno-précipitation et une technique immuno-enzymatique de type ELISA.

c) *Signification des auto-anticorps :*

Les anticorps dirigés contre la plupart des auto-antigènes de la cellule β ne participent pas directement à sa lyse. En effet, le transfert des anticorps, au cours de la grossesse par exemple, ne cause pas de perturbation, même momentanée, de la tolérance glucidique. De plus, les enfants de mère diabétique, donc possiblement exposés à ce type de transfert, sont moins susceptibles de développer ultérieurement un diabète comparativement à ceux dont le père est diabétique.

Les auto-anticorps sont alors plutôt des témoins de la destruction cellulaire qui relargue du matériel antigénique et active l'auto-immunité humorale. Ceux sont les meilleurs marqueurs diagnostiques du diabète de type 1 quels que soient le stade, de la phase infra-clinique au moment du diagnostic clinique et même après plusieurs années d'évolution.

Devant la multiplicité des auto-antigènes, la question de l'antigène dominant peut se poser. L'insuline pourrait être celui-ci. Chez la souris NOD, l'inactivation du gène de la pro-insuline 2, forme exprimée dans le thymus, conduit à une exacerbation de la maladie auto-immune (31).

Chez l'homme, le rôle du VNTR du gène de l'insuline et l'apparition précoce des anticorps anti-insuline chez les futurs diabétiques de l'étude BABYDIAB confirment le rôle de cet antigène. Une fois la réaction auto-immunitaire déclenchée contre les cellules β , d'autres antigènes et de nouveaux épitopes au sein d'une même molécule sont progressivement impliqués (32). Cette diffusion antigénique pourrait être en lien avec les phénomènes lytiques libérant de nouveaux auto-antigènes non visibles jusqu'alors. Ce phénomène amplificateur pourrait entraîner la destruction de la quasi-totalité de la masse cellulaire β de manière inéluctable. Il est intéressant de rappeler que le risque de développer un diabète chez les apparents sains dépend du nombre d'auto-anticorps présents. La présence de trois types d'auto-anticorps donne un risque proche de 100 % à 7,5 ans (33).

II/Prédisposition génétique

Le diabète de type 1 est sous le contrôle d'un petit nombre de gènes qui interfèrent les uns avec les autres et avec des facteurs d'environnement.

La principale région génomique contrôlant cette prédisposition familiale est celle du complexe majeur d'histocompatibilité qui code pour les HLA de classes I et II.

Les gènes du complexe majeur d'histocompatibilité, localisés sur le bras court du chromosome 6, sont les plus polymorphiques du génome humain, plus de 400 allèles ont été répertoriés. Les acides aminés, de la molécule d'HLA, localisés dans la niche peptidique sont extrêmement polymorphes ce qui se traduit par une présentation de répertoires d'antigènes variés entre les individus et donc une réponse immunitaire différente. La capacité de la molécule HLA à présenter dans les bonnes conditions l'auto-antigène, soit dans le thymus ou soit en périphérie, est importante pour la conservation de la tolérance du Soi. Cette présentation peut être modifiée par la structure chimique ou le niveau d'expression de la molécule HLA. La zone critique, faisant le lit de la prédisposition (ou de la protection) génétique du diabète de type 1, correspond aux structures polypeptidiques de la poche de présentation de l'auto-antigène sur la portion extracellulaire de la molécule HLA. Ainsi, l'acide aminé en position 57 de la chaîne β DQ jouerait un rôle crucial dans l'affinité du récepteur des lymphocytes T pour l'antigène. Les molécules DQ β avec un acide aspartique sur cette position (ASP 57+) ont un effet protecteur sur le risque de développer un diabète de type 1 alors que celles qui portent un autre acide aminé (ASP 57-) prédisposent à la maladie (34).

L'association avec le diabète se fait essentiellement avec certains allèles du gène codant pour les molécules HLA de classe II : DR et DQ. On estime, que le HLA intervient pour 40 à 50 % dans la prédisposition génétique du diabète de type 1.

Les molécules HLA DR3 et DR4 sont les plus incriminées dans le développement du diabète de type 1. Les hétérozygotes DR3-DR4 ont un risque particulièrement élevé. On a découvert plus récemment que les allèles de classe II codés au niveau du locus DQ sont impliqués dans la prédisposition au DT1. 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, l'allèle HLA DQB1*0602 confère une protection du diabète.

Il est probable que le complexe majeur d'histocompatibilité abrite d'autres gènes impliqués dans la prédisposition du diabète, comme certains allèles de classe I (HLA 1A-24 (35)).

Mais il existe aussi d'autres gènes de prédisposition à distance du HLA. De nouveaux gènes ont récemment été identifiés dans les études d'associations pan-génomiques. Celles-ci ont déterminé plus de 40 polymorphismes de gènes (non HLA) qui sont associés au risque de développer un diabète de type 1 (36) :

- Le gène de l'insuline situé sur le chromosome 11 et le VNTR situé à l'extrémité 5' du gène de l'insuline, qui comme on l'a déjà vu, contrôle l'expression du gène de l'insuline au niveau thymique (20) et influence la qualité de la tolérance centrale. Ainsi, l'homozygotie pour des allèles VNTR du gène de l'insuline de classe I (petit nombre de répétitions) confère un risque accru de développer un diabète. On le retrouve également chez la souris NOD, qui lors d'une invalidation sélective du gène de la pro-insuline 2 (exprimé au niveau thymique, le gène de la pro-insuline 1 étant exprimé dans la cellule β chez la souris) augmente le risque diabéto-gène (31).
- Le CTLA-4 est un récepteur exprimé à la surface du lymphocyte T. C'est un point de contrôle immunitaire, il agit comme un interrupteur, en inhibant l'action du lymphocyte, quand il se trouve au contact avec son ligand spécifique B7 à la surface d'une CPA. Des polymorphismes de CTLA-4 associés au diabète de type 1 codent

pour des molécules moins efficaces dans cette action frénatrice. Plusieurs études ont confirmé le rôle joué par un polymorphisme nucléotidique particulier au niveau de la position 49 de l'exon 1 du gène CTLA-4 dans la prédisposition au diabète. La mutation d'une adénosine en guanine sur cette position est responsable de la substitution de la thréonine par l'alanine au niveau du codon 17 de la molécule CTLA-4. Le génotype G/G ou A/G est associé à un risque plus élevé de développer un diabète de type 1 (37).

- PTPN₂₂ code pour la protéine tyrosine phosphate non-receptor type 22, membre de la famille des tyrosines phosphatases intracellulaires dont une trentaine sont exprimées dans le lymphocyte T. Ces tyrosines phosphatases entraînent une régulation négative du lymphocyte T. Une étude italienne suggérait une association d'un variant (620W) du gène PTPN22 avec le diabète de type 1 (38). Ce polymorphisme du gène PTPN22 prédispose à de nombreuses maladies auto-immunes dont la polyarthrite rhumatoïde ou les thyroïdites auto-immunes. Le rôle de cet allèle à risque n'est pas encore élucidé, il semblerait qu'il augmente l'inactivation lymphocytaire et pourrait donc influencer plus particulièrement les lymphocytes T régulateurs.
- Un autre gène de la famille des tyrosines phosphatases intracellulaires, PTPN2, pourrait être un gène de susceptibilité au diabète de type 1 en agissant sur le signal cytokinique et l'apoptose des cellules β (39).

En conclusion, le diabète de type 1 est sous la dépendance d'un petit nombre de gènes, qui agissent principalement au niveau de la sélection thymique (HLA, VNTR de l'insuline) ou au niveau de l'activation (HLA, CTLA4, PTPN22) des lymphocytes T et chez qui, pour une large partie de la population, ne provoquent pas de diabète. Il faut donc, pour que le diabète se déclare, que ces gènes interfèrent entre eux et avec les agents de l'environnement.

III/Histoire naturelle du diabète :

La maladie auto-immune responsable du diabète de type 1 débute précocement, les auto-anticorps β -insulaires ont été détectés dès le 9^{ème} mois de vie chez les enfants de parents diabétiques. Dans l'étude BABYDIAB (26), les auto-anticorps sont retrouvés essentiellement entre le 9^{ème} mois de vie et l'âge de 5 ans. La phase clinique du diabète de type 1 est ainsi précédée d'une phase asymptomatique : le pré-diabète. Cette période est marquée par la présence d'auto-anticorps et par une dégradation plus ou moins rapide de la fonction β -pancréatique, pouvant aller de quelques mois à plusieurs années

En 1984, Georges Eisenbarth développe un modèle explicatif sur l'histoire naturelle du diabète de type 1. Il découpe l'histoire du diabète de type 1 en différents stades chez des individus ayant un facteur de risque génétique prédisposant et évoluant dans un environnement précipitant (40,41).

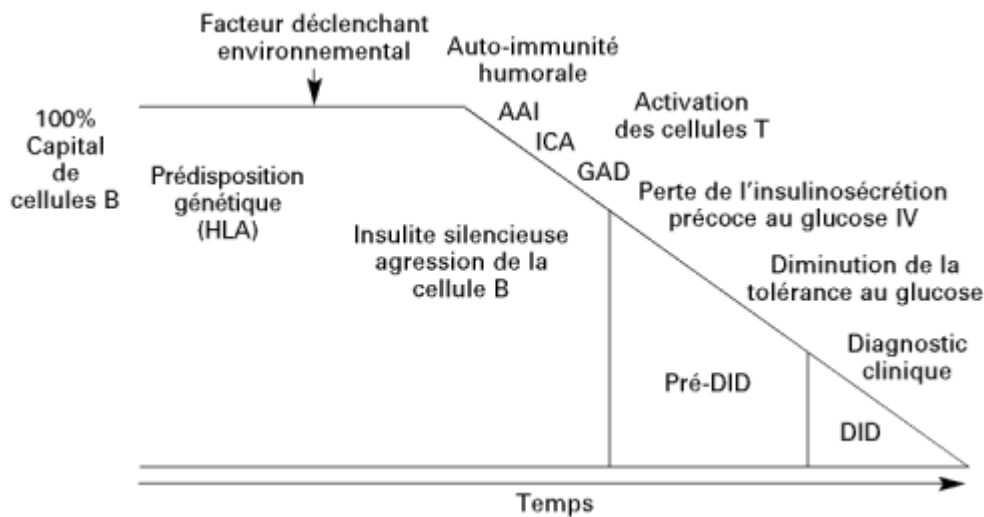


Figure B : Schéma d'Eisenbarth sur l'histoire naturelle du diabète de type 1 (42)

Le stade 1 correspond au développement d'une auto-immunité spécifique de la cellule β sans anomalie glycémique. Il est défini chez les individus présentant au moins 2 auto-anticorps associés au diabète de type 1. La présence de plusieurs auto-anticorps (≥ 2) chez les enfants ayant un HLA prédisposant au diabète de type 1, est associée à un risque de progression vers la maladie symptomatique d'environ 44% à 5 ans et 70% à 10 ans et un risque à vie approchant les 100% (43,44).

Le stade 2 inclut également les individus présentant au moins 2 auto-anticorps mais dont la maladie a progressé vers le développement d'une intolérance au glucose provoquée par une perte plus importante de la fonction β -insulaire. Le risque de développer la maladie symptomatique à 5 ans est d'environ 75% et de 100% sur le risque sur toute la vie (45).

Le stade 3 est défini par les manifestations cliniques du diabète comme la polyurie, polydipsie, perte de poids et/ou la présence d'une hyperglycémie manifeste associée à des paramètres métaboliques biologiques du diabète. Cette phase de diabète avérée se poursuit jusqu'à la perte totale de la fonction insulino-sécrétrice et se termine par l'absence de sécrétion du peptide-C, témoin de la production d'insuline endogène.

La vitesse de la progression d'un stade à l'autre est très différente d'un individu à l'autre. Il existe des diabètes explosifs chez des jeunes enfants et d'autres dont la perte des cellules β est très progressive comme le diabète LADA (Latent Autoimmune Diabetes in Adults) chez l'adulte. De plus, la destruction des cellules β est non linéaire, sauf peut-être dans les mois qui précèdent le diagnostic du diabète. Il existe de multiples mécanismes qui accélèrent la perte de la masse cellulaire β et d'autres qui, au contraire, luttent contre la progression vers le diabète. La maladie auto-immune peut se poursuivre alors même que ses marqueurs ne sont plus détectés (46).

Cette classification a un double impact. Elle encourage le dépistage à des stades précoces du diabète de type 1 chez les sujets à risque évitant ainsi la découverte de la maladie à un stade clinique avancé et prévenant la céto-acidose (cette prévention a des avantages au long terme car la céto-acidose diabétique inaugurale est associée à un plus mauvais contrôle glycémique plusieurs années après le diagnostic (47)). Et elle fournit également une terminologie commune aux stades pré-symptomatiques du diabète permettant ainsi, aux chercheurs, de cibler les interventions préventives : de la prévention primaire, fondée sur les patients génétiquement à risque, à la prévention tertiaire chez les patients dont il existe déjà une dégradation de la tolérance glycémique, en passant par la prévention secondaire quand seuls les marqueurs de l'auto-immunité sont détectables.

ETUDES DE COHORTE ET DE PREVENTION

I/Etudes de cohortes :

A/Descriptif et résultats des études de cohorte :

La découverte de nouveaux gènes de susceptibilités du diabète de type 1 se précise. En revanche, l'identification des facteurs environnementaux jouant un rôle dans le développement du diabète de type 1 est plus délicate. Ceci peut être expliqué par le nombre considérable de facteurs environnementaux pouvant favoriser ou au contraire protéger le diabète de type 1. De plus, l'exposition à ces différents facteurs peut survenir à n'importe quel moment et sur une longue période, de la vie in-utero jusqu'au début du diabète.

Pour identifier ces facteurs environnementaux, de larges études de cohorte prospectives chez des individus à risque sont nécessaires. Ces études incluent un grand nombre de patients, suivis généralement de la naissance jusqu'au déclenchement du diabète.

1) Type 1 Diabetes Prediction and Prevention, l'étude DIPP:

DIPP est une étude de suivi clinique à long terme débutée en 1994 en Finlande dans trois hôpitaux universitaires à Turku, Oulu et Tampere, pour mieux comprendre la pathogénèse du diabète de type 1 et pour prédire la survenue du diabète de type 1 (48–50).

a) Design de l'étude :

L'étude était conçue pour suivre sur le long-terme des nouveaux nés dans la population finlandaise qui avaient un risque modéré à sévère de développer un diabète selon leur génotype HLA DR-DQ. Initialement seuls les HLA DQB1 *02/*0302 ou DQB1 *0302/x (où x est différent de : *02, *0301 ou *0602) étaient inclus, mais par la suite de nouveaux HLA à risque ont été ajoutés.

Ces enfants étaient suivis à partir de l'âge de 3 mois tous les 3 mois jusque l'âge de 2 ans puis tous les ans jusque l'âge de 15 ans ou jusqu'à ce qu'ils développent un diabète. A chaque visite de l'étude, une prise de sang était réalisée pour rechercher des auto-anticorps associés au diabète (ICA, GAD, IA2 et anti insuline) et les données concernant les expositions à des facteurs environnementaux étaient collectées (régime alimentaire de la mère pendant la grossesse et de l'enfant à partir de 3 mois, l'allaitement ...).

b) Résultats principaux:

Dans cette étude, plus de 7000 enfants sont encore suivis et plus de 1000 enfants ont développé plusieurs auto-anticorps associés au diabète de type 1. Il y a 461 enfants (2,8%) qui ont déclaré un diabète de type 1 (51). Ils ont remarqué que la cinétique d'apparition du 1^{er} auto-anticorps chez ces enfants était différente d'un anticorps à l'autre distinguant ainsi deux groupes. L'anticorps anti-insuline, en tant que 1^{er} anticorps, a un pic d'apparition vers l'âge de 2 ans alors que l'anticorps anti-GAD, en tant que 1^{er} anticorps, a un pic d'apparition plus tardif vers l'âge de 3 et 5 ans (52).

Les auteurs ont estimé le risque de développer des auto-anticorps et de progresser vers un diabète en fonction des haplotypes HLA. L'haplotype qui est associé à la plus forte susceptibilité de développer un diabète est : HLA DRB1*04:01-DQA1*03-DQB1*03:02 (OR = 10,11, [8.86–11.54]) (53). Cette cohorte a, par ailleurs, permis d'étudier l'alternance de l'incidence du diabète de type 1 avec les saisons, de démontrer que généralement, l'anticorps anti-insuline est le 1er anticorps détectable, ce qui suggère un rôle primordial de l'insuline comme 1er antigène en cause dans le diabète de type 1 (48).

c) Etudes de prévention rattachées :

A partir de cette étude, il a été proposé de développer un programme de prévention fondé sur l'insuline intranasal qui sera développé à la fin de ce chapitre (54).

2) Diabetes Prediction in Skåne, l'étude DiPiS :

DiPiS est une étude de cohorte prospective basée dans le comté de Scanie (Skåne), à l'extrémité sud de la Suède.

a) Design de l'étude :

De 2000 à 2004, ils ont collecté, sur cinq hôpitaux du comté de Scanie, du sang de cordon ombilical des nouveaux nés pour analyser les génotypes HLA et la présence d'auto-anticorps (GAD, IA-2 et IAA). Un questionnaire concernant les antécédents médicaux, le stress et les événements graves de la vie des parents, le statut socio-économique des parents et les événements gestationnels et périnataux avait été remis au patient. Ils ont ainsi développé, sur ces données biologiques et cliniques, un score de risque de développer un diabète.

Les enfants à risque étaient dépistés annuellement à partir de l'âge de 2 ans à la recherche d'auto-anticorps associés au diabète (GAD, IA-2, IAA et les isoformes ZnT8) et répondaient également à un questionnaire. Lorsqu'un enfant développait au moins 2 auto-anticorps, il était suivi tous les 3 mois, jusqu'à l'âge de 15ans, avec la réalisation d'analyses biologiques : HbA1c, glycémie et recherche d'auto-anticorps associés au diabète. Un test d'hyperglycémie provoqué par voie orale (HGPO) est réalisé tous les ans (55).

b) Résultats principaux :

Dans cette étude, un peu plus de 7800 enfants étaient classés à risque de développer un diabète de type 1, 3340 ont été suivis à partir de l'âge de 2 ans. Il y en a 82 qui ont développé au moins deux auto-anticorps et 51 (1,7%) ont été diagnostiqués diabétiques de type 1 (56).

La participation à cette étude de cohorte a mené à des diagnostics de diabète de type 1 avec des symptômes moins graves, réduisant l'incidence de la céto-acidose, et permettant un meilleur contrôle métabolique pendant les premières années du diabète (55).

c) Etudes de prévention rattachées :

L'étude DiPiS n'a pas seulement un rôle d'identification des événements qui augmentent le risque de diabète mais elle a permis de recruter des enfants pour des études interventionnelles de prévention comme l'étude DIAPREV-IT qui a étudié un vaccin dont la substance active est le GAD 65 (57,58).

3) *The Diabetes Autoimmunity In The Young study, l'étude DAISY:*

DAISY est une étude de cohorte prospective débutée en 1993 à Denver, Colorado.

a) *Design de l'étude :*

Les chercheurs ont suivi plus de 2500 enfants à risque de développer un diabète de type 1 inclus de 1993 à 2004 (suivi médian de 11,1 ans).

Il y avait deux groupes d'enfants :

- Le 1er groupe regroupait les enfants qui présentaient un apparenté au 1er degré diabétique de type 1. Ils étaient inclus dans l'étude entre leur naissance et l'âge de 7 ans.
- Le 2ème groupe, issu de la population générale, regroupait des enfants nés à Denver, Colorado et identifiés comme ayant un risque accru de développer un diabète de type 1 établi sur le dépistage de leur haplotype HLA à la naissance (HLA DR3/3, DR 4/4, DR 3/4 et DR 3/x ou 4/x ou x est différent de DR3 ou DR4) (59,60).

Les enfants inclus dans l'étude étaient suivis à l'âge de 9 mois, 15 mois et 24 mois puis annuellement. A chaque visite les enfants étaient mesurés et pesés, des analyses biologiques à la recherche d'anticorps anti GAD, anti-insuline et anti-IA-2 étaient réalisées et ils répondaient à un questionnaire qui déterminait les potentielles expositions à des facteurs environnementaux spécifiques.

Quand un enfant avait un anticorps positif, les parents recevaient une information sur les symptômes d'hyperglycémies et le suivi s'intensifiait. Ces enfants étaient revus tous les 3 à 6 mois avec un dosage d'auto-anticorps, de l'HbA1c et d'une glycémie capillaire.

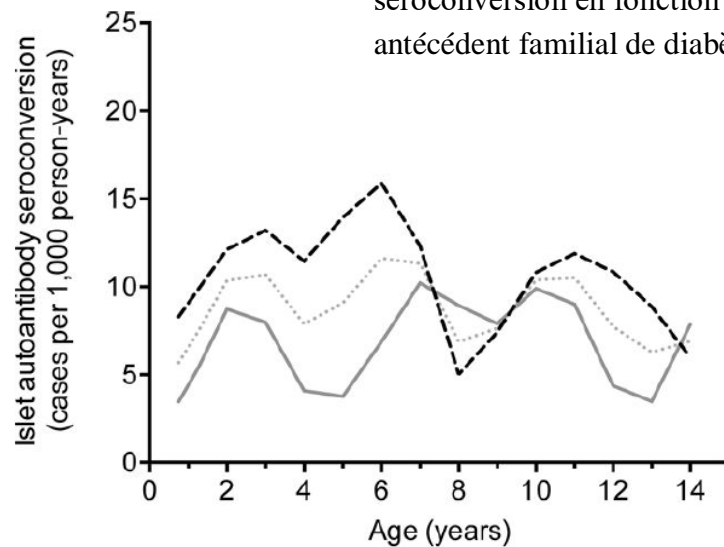
b) Résultats principaux :

Au 29 septembre 2015, 207 enfants (8,1%) sur les 2547 ont développé une auto-immunité β -insulaire persistante (au moins un auto-anticorps positifs lors de deux visites consécutives) et 79 (3,1%) d'entre eux ont progressé vers un diabète de type 1. La prévalence de diabète atteint 4,2% dans le groupe apparenté à un diabète de type 1 au 1^{er} degré.

Dans le groupe d'enfant ayant un antécédent au 1^{er} degré de diabète de type 1, il existe deux pics d'incidence de l'auto-immunité. Le 1^{er} entre 2 et 6 ans et le 2nd autour de 11 ans. Ainsi, ils ont défini deux catégories d'enfants qui développent une auto-immunité. Ceux qui la développent précocement (avant l'âge de 8 ans), avec un âge médiane de séroconversion à l'âge de 3,3 ans et ceux qui développent une auto-immunité plus tardivement (à partir de 8 ans) qui ont un âge médian de séroconversion à 11,1 ans (Figure C).

Frohnert et al.

Figure C : Taux d'incidence de la séroconversion en fonction d'un antécédent familial de diabète de type 1



FDR	1123	1032	939	836	739	648	526	394
GP	1424	1064	869	753	668	599	487	367

Fig. Age-specific incidence of islet autoantibody seroconversion by family history status. The total numbers of individuals followed at each time point are noted below the graph. Black dashed line, first-degree relative (FDR); solid grey line, general population screened participant (GP); light grey dotted line, incidence for all participants combined

Contrairement aux enfants présentant une séroconversion précoce, ceux qui débutent leur séroconversion tardivement sont plus fréquemment associés à une rémission de l'auto-immunité et ils progressent aussi plus lentement vers le diabète de type 1. Ceci suggère que ces enfants ont peut-être été exposés à des facteurs environnementaux protecteurs qui ralentissent ou décalent la progression vers l'auto-immunité β -insulaire et le diabète de type 1. De plus, il est intéressant de noter qu'à cet âge plus tardif, ces enfants sont en phase de modifications hormonales, aussi bien au niveau hypothalamo-hypophysaire (axe gonadotrope ou somatotrope) que surrénalien et que ce changement pourrait également moduler la réponse auto-immune (59).

Ils ont aussi confirmé que le risque de progresser vers un diabète de type 1 dépendant de l'âge de séroconversion, des marqueurs génétiques de susceptibilité (principalement l'haplotype HLA DR3/4), du nombre d'auto-anticorps initial (89% des enfants ayant progressés vers un diabète de type 1 exprimaient au moins 2 auto-anticorps avec une incidence cumulée à 10 ans à 74% chez les enfants exprimant 3 auto-anticorps) mais aussi du taux initial et du taux moyen des auto-anticorps et plus particulièrement de l'anticorps anti-insuline (IAA) (61).

c) Impact de l'étude :

Dans cette étude, ils ont montré que les enfants dépistés et suivis dans ce type de cohorte développent un diabète de type 1 à un stade moins sévère, réduisant ainsi les hospitalisations au diagnostic pour une décompensation sur un mode de céto-acidose. Les doses d'insuline sont plus faibles au 1er mois et 12ème mois comparativement aux enfants qui ne sont pas suivis dans cette cohorte. Ils ont également un taux d'HbA1c plus faible au diagnostic (7,2 % vs 10,9%) (62).

DAISY a permis d'étudier le rôle de gènes de susceptibilité au diabète de type 1 pour améliorer la prédiction de l'auto-immunité et la progression vers le diabète de type 1. Ainsi, dans une

analyse multivariée ajustée sur les antécédents familiaux de diabète de type 1 et le génotype HLA DR3/4, ils ont montré que le polymorphisme nucléotidique de PTPN22R620W (rs2476601) était associé significativement au risque de développer une auto-immunité β -insulaire (HR = 1,87 ; p=0,001). Les polymorphismes du gène *INS*-23Hph1 (rs689) étaient associés significativement au risque de progression de l'auto-immunité β vers le diabète de type 1 (HR = 1,65 ; p=0,03) (63).

Elle a aussi permis d'étudier un score de risque issus d'une population composée de sujets ayant une histoire familiale, au premier degré, de diabète de type 1 incluant 10 facteurs génétiques prédisposant au diabète de type 1 (HLA, PTPN22, *INS*, *IL2RA*, *ERBB3*, *ORMDL3*, *BACH2*, *IL27*, *GLIS3*, *RNLS* (64)). La cohorte DAISY a permis d'évaluer la performance de ce score de risque et de prouver que ce score était capable de prédire efficacement la survenue du diabète de type 1 aussi bien chez des enfants ayant un apparenté au 1er degré diabétique de type 1 que chez des individus provenant de la population générale (65).

4) Les études BABYDIAB et BABYDIET :

BABYDIAB est une étude prospective de plusieurs centres allemands de suivis d'enfants de parents diabétiques de type 1 dont le centre principal se trouve à Munich (26).

a) Design de l'étude :

Pour l'étude BABYDIAB, 1650 enfants nés de père ou de mère diabétique de type 1 ont été recrutés entre 1989 et 2000 en Allemagne. Le HLA ne faisait donc pas partie des critères d'inclusions de l'étude. Les enfants démarraient un suivi avec un dosage des auto-anticorps (IAA, GAD, IA-2 et ZnT8) à la naissance et au 9ème mois. Ils étaient ensuite suivis avec de nouveaux dosages des auto-anticorps tous les trois ans à partir de l'âge de 2 ans ou tous les 6 mois si le dosage d'un auto-anticorps était positif.

Dans une 2^{de} étude, BABYDIET (66), les enfants qui avaient un apparenté au 1^{er} degré diabétique de type 1 et un haplotype HLA à risque (HLA DR3/DR3, HLA DR3/DR4 et HLA DR4/DR4) étaient recrutés entre 2000 et 2004 et suivis de l'âge de 3 mois tous les trois mois jusque l'âge de 3 ans puis annuellement. S'appuyant sur les données des études DIASY et BABYDIAB qui montraient que l'introduction précoce (avant l'âge de 3 mois) de nourriture contenant du gluten ou des céréales augmentait le risque de développer un diabète de type 1, l'étude BABYDIET a cherché à réduire le risque de diabète de type 1 en modifiant le délai d'introduction du gluten dans l'alimentation. C'est une étude interventionnelle où les enfants étaient randomisés en deux groupes et l'on introduisait une alimentation contenant du gluten au 6ème mois pour l'un et au 12ème mois pour l'autre.

b) Résultats principaux :

Sur les 1650 enfants de BABYDIAB, 152 enfants (9,2%) ont développé des auto-anticorps. L'incidence d'apparition de cette auto-immunité la plus élevée se situe à l'âge de 9 mois et 2 ans (18,5 pour 1000 personne-année au 9ème mois et 21 pour 1000 personne-année à 2 ans ;

Figure D (67)), faisant de cette période un moment clé à cibler pour les études de prévention primaire. Ce pic d'incidence est surtout vrai pour les enfants avec un haplotypes HLA à risque: HLA DR3/DR4 ou HLA DR4/DR4.

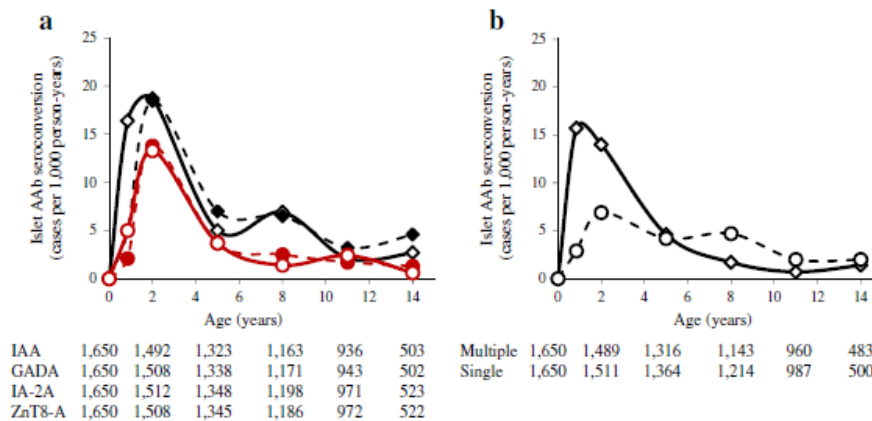


Fig. 1 Incidence (cases per 1,000 person-years) of specific islet autoantibodies (AAb). a IAA (solid black line), GADA (dashed black line), IA-2A (solid coloured line) and ZnT8-A (dashed coloured line) in offspring of parents with type 1 diabetes (BABYDIAB Study).

b Incidence of multiple (solid line) and single (dashed line) islet autoantibodies. Incidence is shown at the ages of islet autoantibody testing (9 months and 2, 5, 8, 11 and 14 years). Numbers under the x-axes are the numbers of children still followed at each time point

En analysant ces deux cohortes (BABYDIAB et BABYDIET) (68), la cinétique d'apparition des auto-anticorps a pu être précisée. Au total 218 enfants (8,9%) ont développé une auto-immunité, le 1er anticorps était soit l'anticorps anti-insuline dans des cas 37% (80 enfants), soit l'anticorps anti-GAD dans 29% (63 enfants) ou soit d'emblée de multiples anticorps (au moins deux auto-anticorps parmi : anti-IAA, anti-GAD, anti-ZnT 8 et anti IA-2) dans 31 % (68 enfants) des cas. Il y a 35% de ceux qui étaient positifs à un seul auto-anticorps (15 enfants avec anti GAD seul et 35 enfants avec anti-IAA seul) ont développé de multiples auto-anticorps par la suite. L'auto-anticorps anti-insuline est souvent le 1er à apparaître (souvent au 9ème mois de vie) puis il y a une extension de l'immuno-réactivité vers les autres antigènes β -insulaires tandis que le pic d'incidence de la positivité à de multiples auto-anticorps se produit plutôt à l'âge de 2 ans. La progression de l'auto-immunité de l'anti-GAD seul vers de multiples auto-anticorps est surtout observée à l'âge de 5 ans (Figure E (26)).

Figure E : Probabilité de développer les différents anticorps chez les enfants des mères ou pères diabétiques

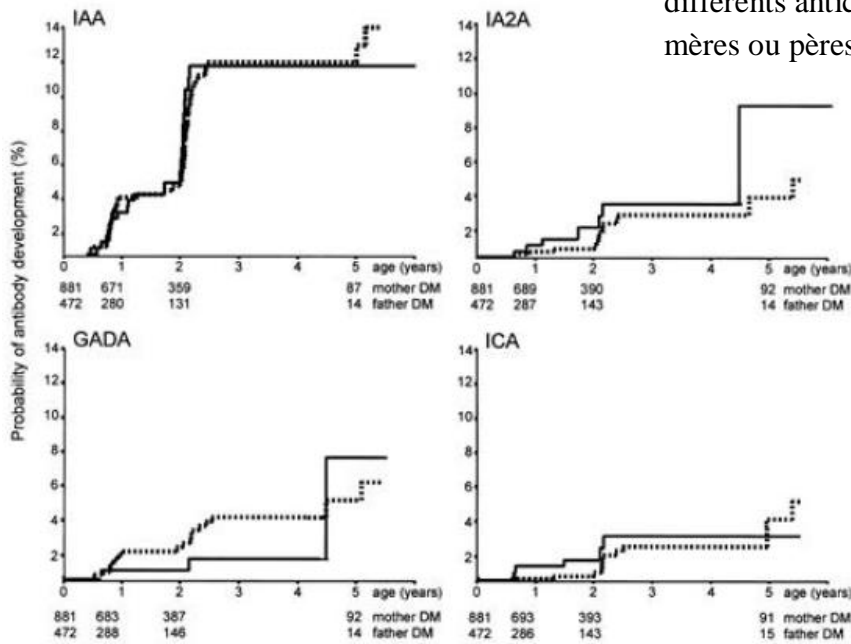


FIG. Kaplan-Meier analysis: probability of developing IAAs, GADAs, IA2As, and ICAs in offspring of mothers (---) and fathers (—) with type 1 diabetes. IAAs are detected earlier and at a higher proportion than GADAs, IA2As, or ICAs. No significant difference in the probability to develop any respective marker was observed between children of mothers versus fathers with type 1 diabetes.

Enfin, sur les 218 enfants présentant une auto-immunité, 82 (3,4%) ont développé un diabète conférant un risque à 10 ans de développer un diabète de type 1 supérieur à 50% chez les enfants présentant de multiples auto-anticorps.

BABYDIAB a permis d'étudier les gènes de susceptibilité au diabète de type 1 (INS VNTR, PTPN22, CTL-A4 ...) chez les enfants qui ont de multiples auto-anticorps afin d'expliquer les différences entre ceux qui progressent et les autres qui ne progressent pas (69).

Cette cohorte a été utile pour la validation externe d'un score de risque qui porte sur une combinaison pondérée de 10 facteurs génétiques prédisposant au diabète de type 1, incluant les différents haplotypes HLA à risque et les polymorphismes nucléotidiques de gènes de susceptibilités au diabète de type 1 (INS, PTPN22, ERBB3, IL2RA, ORMDL3, BACH2, IL27, GLIS3 et RNLS) (64).

5) *The Environmental Determinants of Diabetes in the Young : l'étude*

TEDDY

TEDDY est une cohorte prospective multicentrique débutée en 2004 et qui a pour but d'identifier les facteurs environnementaux qui protègent ou déclenchent une auto-immunité β -insulaire et/ou le diabète de type 1.

a) Design de l'étude :

Dans l'étude TEDDY, des enfants issus de 3 centres de recherche clinique aux Etats-Unis à Denver (Colorado), Augusta (Georgia)/Gainesville (Florida), et Seattle (Washington) et 3 centres en Europe : Turku (Finlande), Malmö (Suède), et Munich (Allemagne) ont été inclus de 2004 à 2010.

424788 nouveau-nés ont été prélevés afin d'étudier leur génotype HLA DR-DQ. Les génotypes HLA éligibles étaient : DR4-DQ8 homozygote, DR3-DQ2 homozygote ou les hétérozygoties DR3-DQ2/DR4-DQ8 et DR4-DQ8/DR8-DQ4. Cinq génotypes HLA additionnels rendaient éligibles les nouveau-nés ayant un apparenté au 1er degré diabétique de type 1 (70). Au total, 418367 nouveau-nés qui n'avaient pas d'apparenté au 1er degré diabétique de type 1 ont été testés, 20142 (4,8%) étaient éligibles dont 7754 ont été inclus.

Pour les enfants ayant au moins un apparenté au 1er degré diabétique de type 1, 6421 nouveau-nés ont été testés, 1437 (22,4%) étaient éligibles dont 928 ont été inclus.

Les enfants participant à l'étude étaient revus à l'âge de 3 mois pour évaluer les expositions environnementales pendant la grossesse et la période périnatale et le dosage des auto-anticorps (anti-GAD, anti-IA-2 et anti-insuline). Puis, ils étaient suivis tous les 3 mois jusque l'âge de 4 ans puis tous les 3 mois pour les enfants présentant une auto-immunité persistante et tous les 6 mois pour les autres, jusque l'âge de 15 ans (ou jusqu'au développement d'un diabète de type 1 clinique). A chaque visite, les données anthropométriques ainsi que le journal alimentaire des

3 derniers jours étaient recueillies, une prise de sang pour le dosage des anticorps, mais également pour doser différentes vitamines (vitamine D, C, E ...) était prélevée. Et tous les 6 mois une HGPO était réalisée chez les enfants avec des auto-anticorps persistants. Des échantillons de sang, de selles et également d'autres fluides étaient analysés à la recherche d'agents infectieux. Les parents remplissaient, à intervalle régulier, un livre (TEDDY Book) contenant des informations sur les vaccinations, les allergies, l'alimentation, les maladies, les traitements, les animaux de compagnies, les événements de vie significatifs. L'activité physique était mesurée à partir de l'âge de 5 ans par un accéléromètre (71,72).

b) Résultats principaux :

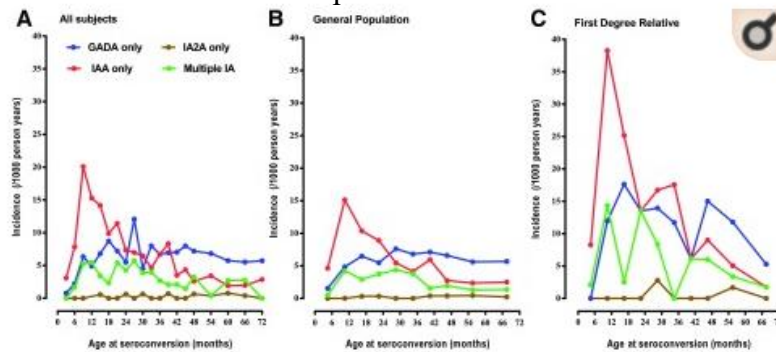
Au 28 février 2018, sur les 8676 enfants, 769 enfants (8,9%) ont développé une auto-immunité persistante (au moins un anticorps dosé sur 2 visites consécutives) dont 447 avec de multiples anticorps et 310 (3,6%) ont développé un diabète de type 1 (73). Les enfants qui ont développé un diabète de type 1 dans l'étude TEDDY étaient souvent asymptomatiques et étaient associés à un risque plus faible de céto-acidose diabétique au diagnostic (74). De plus, le taux d'HbA1c au diagnostic était plus bas dans l'étude TEDDY comparativement aux autres enfants. Dans la cohorte TEDDY, le pic d'incidence de l'auto-immunité β -insulaire survient à l'âge de 2 ans.

Dans les cinq ans après la séroconversion, le diabète de type 1 se développe chez 47 % de ceux qui ont 3 anticorps, chez 36% pour ceux qui en ont deux et 11% chez ceux avec un unique anticorps (75). Comme constaté dans l'étude DAISY, le titre élevé des anticorps anti-insuline et anti-IA2 est prédictif de la progression vers le diabète de type 1 mais pas celui des anti-GAD (61,76). De plus, 24% des enfants avec un seul anticorps perdaient leur anticorps sans en développer d'autres (et particulièrement l'anticorps anti-insuline).

La cohorte TEDDY a permis de confirmer les deux phénotypes d'enfants présentant une auto-immunité, déjà décrit dans les études DIPP (52) et BABYDIAB (67).

Les enfants dont l'anticorps anti-insuline apparaît le premier ont généralement une ou deux allèles HLA DR4-DQ8 et développent cet auto-anticorps à l'âge d'un an. En revanche, les enfants qui développent, comme 1er auto-anticorps, l'anti-GAD sont associés avec un haplotype HLA-DR3-DQ2 et développent l'anticorps anti-GAD plus tardivement avec une incidence qui reste stable dans le temps (Figure F (77)).

Figure F : Taux d'incidence des anticorps au moment de la séroconversion



Incidence of IAA only, GADA only, and IA-2A only as first-appearing IA and multiple IA at seroconversion in all participants (A), the general population (B), and FDR of a proband with type 1 diabetes (C). A: IAA only appeared in 252 of 8,503 children, GADA only in 226 of 8,503, and IA-2A only in 9 of 8,503 and multiple IA in 102 of 8,503. B: IAA only appeared in 196 of 7,577 children, GADA only in 183 of 7,577, and IA-2A only in 7 of 7,577 and multiple IA in 79 of 7,577. C: IAA only appeared in 56 of 926 children, GADA only in 43 of 926, and IA-2A only in 2 of 926 and multiple IA in 23 of 926.

Dans la cohorte TEDDY, ils ont étudié 41 polymorphismes non-HLA associés à un risque accru de diabète de type 1. En analyse de survie, ils ont retrouvé 8 polymorphismes associés de manière significative au développement du premier auto-anticorps, comme par exemple, un polymorphisme dans le gène de PTPN22 ou un polymorphisme dans le gène de l'insuline INS. Ce dernier étant le seul facteur génétique non-HLA qui augmente le risque d'avoir, en tant que premier auto-anticorps, l'anticorps anti-insuline. Malgré que les gènes de la région HLA restent les principaux facteurs génétiques du diabète de type 1, les autres facteurs génétiques non-HLA contribuent à l'apparition du premier auto-anticorps, première étape de la pathogénèse du diabète de type 1 (73). Ces analyses génétiques approfondies ont permis de tester les scores de risque génétique qui stratifient le risque de développer plusieurs auto-anticorps et un diabète de

type 1 (78). Actuellement, ces scores de risque sont utilisés en Allemagne pour le recrutement de nouveau-nés dans une étude de prévention primaire sur l'insuline orale (73).

6) All Babies in Southeast Sweden : l'étude ABIS

a) Design de l'étude :

ABIS est une cohorte prospective d'enfants nés entre 1997 et 1999 dans le sud-est de la Suède. Elle comporte plus de 17000 familles ayant répondu à un questionnaire à la naissance de l'enfant. L'étude s'intéresse à la relation entre événements de vie graves intervenus dans l'enfance et la survenue du diabète. Les événements graves vécus par l'enfant comportent entre autres : décès d'un proche, maladie grave chez l'enfant ou dans la famille, divorce des parents ; auxquelles d'autres facteurs confondant sont recensés : antécédents familiaux de diabète de type 1 ou 2, poids et taille à la naissance, niveau d'éducation des parents. Les questionnaires concernant la famille et l'enfant sont effectués tous les 3 ans (79).

b) Résultats principaux :

Au total, 10495 enfants ont été suivis, dont 52% de garçons. Il y avait 10,5% d'enfants ayant un antécédent familial de diabète de type 1. Entre l'âge de 3 et 14 ans, 58 ont développé un diabète de type 1 (0.5%). L'exposition à un événement de vie grave était significativement associée au diabète de type 1 (30% chez les non diabétiques contre 59% chez les diabétiques de type 1 ; avec un HR à 2,84 après ajustement pour des facteurs confondants). Les événements de vie statistiquement associés à la survenue d'un diabète de type 1 étaient la survenue d'un décès d'une personne proche ou d'une maladie grave chez l'enfant ou dans la famille, alors que le divorce, les conflits parentaux ou le chômage n'apparaissaient associés significativement. Néanmoins, le sur-risque associé à une hérédité familiale de diabète de type 1 est 4 fois plus grand que celui associé à une exposition dans l'enfance à un événement de vie grave (79). Ceci complète les études précédentes sur la cohorte ABIS qui avait mis en évidence un lien entre le stress familial (décès proche dans la famille, divorce, violences subies par la mère ...) et la présence d'anticorps anti-GAD et anti-IA2 au cours des premières années de vie (80,81).

7) L'étude MIDIA (Miljøårsaker til type 1-diabetes)

a) Design de l'étude :

MIDIA (abréviation norvégienne pour Déclencheurs Environnementaux du diabète de type 1) est une étude de cohorte prospective d'enfants norvégiens à haut risque de développer un diabète de type 1. Entre 2001 et 2007, près de 47000 nouveau-nés ont été génotypés, 1047 avaient un génotype à haut risque : HLA DR4-DQ8/DR3-DQ2 (DRB1*04:01-DQA1*03-DQBI*03:02/DRB1*03-DQA1*05-DQB1*02). Des analyses sanguines (anticorps anti-insuline, anti-GAD et anti-IA-2) ont été réalisées chez 908 enfants à l'âge de 3 mois, 6 mois, 9 mois et 1 an puis annuellement. Des questionnaires, notamment sur l'alimentation de l'enfant, ont été réalisés aux mêmes dates. Des échantillons de selles ont été recueillis mensuellement entre l'âge de 3 et 35 mois (82).

b) Résultats principaux :

En 2014, sur les 908 enfants, 32 enfants (3,5%) ont développé un diabète de type 1 et 40 un pré-diabète (au moins 1 anticorps positif sur 2 prélèvements consécutifs). Environ 600 enfants sont encore suivis régulièrement (83).

c) Devenir de l'étude et résultats rattachés :

Grâce aux données alimentaires recueillies dans les questionnaires et aux analyses bactériologiques et virologiques des selles, la cohorte MIDIA va permettre d'étudier les possibles causes environnementales rattachées à la maladie cœliaque (83).

B/Facteurs environnementaux étudiés :

Dans notre environnement, il existe plusieurs facteurs qui favorisent ou au contraire protège le développement du diabète et qui ont pu être étudié grâce à ces études de cohorte.

1) Potentiels facteurs de risque :

a) L'obésité :

L'augmentation du poids de la population peut augmenter le niveau d'insulino-résistance et force la cellule β à produire plus d'insuline. L'hyperinsulinisme fragiliserait la cellule β via un phénomène de stress endoplasmique. Ceci conduirait à une libération d'auto-antigène chez les individus prédisposés et rendrait la cellule β plus visible pour le système immunitaire (84).

b) Facteurs infectieux :

α) Dans la littérature :

Le rôle d'agent déclencheur du diabète de type 1 joué par les entérovirus, et plus particulièrement le virus Coxsackie B (85), pendant la phase périnatale ou même pendant la vie intra-utérine (86) a été très débattu depuis 40 ans. De tels virus sont déjà susceptibles de déclencher un diabète l'animal : virus Coxsackie, virus de Kilham, etc. (87).

Le rôle des entérovirus a été soupçonné en raison de la différence dans l'incidence mensuelle du diabète de type 1, confirmée par l'étude EURODIAB (88) qui a montré l'existence d'un pic hivernal dans tous les pays d'Europe, pour les deux sexes. De même, des données épidémiologiques révèlent une prévalence accrue de sérologie positive dirigées contre le virus Coxsackie B chez les patients diabétiques nouvellement diagnostiqués (89).

Les mécanismes par lesquels l'entérovirus pourraient participer au développement du diabète sont d'une part leur tropisme β -insulaire qui provoque la lyse de cellules β infectées et ainsi une libération d'antigènes qui deviennent visibles pour le système immunitaire. D'autre part, ils provoquent une inflammation locale au niveau pancréatique. Enfin, il existe un mimétisme moléculaire (analogies structurales connues de GAD avec une séquence P2-C des virus

Coxsackie B) qui pourrait détourner la réponse physiologique contre les antigènes entéroviraux vers la cellule β .

Cependant, la présence d'une longue phase infra-clinique du diabète de type 1 suggère que ces associations expriment plutôt le rôle précipitant de la phase clinique de ces infections virales.

En outre, la fréquence des infections à entérovirus a chuté dans les pays développés et paradoxalement l'incidence du diabète s'est accélérée. On peut tenter de l'expliquer par "l'hypothèse de la polio" : Plus un virus est répandu dans une population, moins les formes générées par l'agression de ce virus sont graves (90).

β) Dans les études de cohorte :

Dans l'étude DIPP, le virus Coxsackie B, dans l'étiopathogénie était associé à l'auto-immunité β insulaire (91–93).

Dans la cohorte DAISY, la progression de l'auto-immunité β -insulaire vers le diabète de type 1 était augmentée chez les enfants qui présentaient de l'ARN d'entérovirus dans le sang quelques mois avant le diagnostic de diabète (94).

Pour étudier le rôle des agents infectieux dans la cohorte TEDDY, ils se sont appuyés d'une part sur les données recueillies par les parents et reportés dans le « TEDDY book » (sur la survenue des infections pendant l'enfance, les traitements antibiotiques utilisés et la vaccination reçue) et d'autre part sur l'analyse du microbiome (virome et parasitome inclus) des prélèvements sanguins, des échantillons de selles et des écouvillonnages nasaux recueillis à chaque visite. Ils ont ainsi montré que :

- les infections respiratoires dans la petite enfance étaient associées aux phénotypes d'enfants développant comme 1er auto-anticorps, l'anticorps anti-insuline ou l'anticorps anti-GAD précocement
- les gastroentérites étaient associées au phénotype d'enfants développant des anticorps anti-GAD plus tardivement.

Les analyses du microbiome et du virome intestinal sont encore en cours mais les études préliminaires suggèrent une association entre les infections entéro-virales et l'auto-immunité β -insulaire (73). Ces analyses ont permis de montrer qu'il y avait moins fréquemment d'entérovirus dans les selles des enfants finlandais que dans les autres pays, en cohérence avec d'autres études et corroborant l'hypothèse de la poliomyélite.

De nombreux virus ont été étudiés dans la cohorte MIDIA. Dans cette cohorte, aucune association significative entre le diabète de type 1 et la présence d'entérovirus dans les échantillons de selles n'a pu être retrouvée ni même, contrairement aux cohortes finlandaises ou américaines, avec la présence d'ARN d'entérovirus dans le sang (95,96). De même, aucune association n'a été montrée avec la présence d'autres virus dans les selles comme les parechovirus et le développement d'une auto-immunité β -insulaire (97).

c) Les facteurs alimentaires :

α) Dans la littérature :

Chez des enfants prédisposés génétiquement au diabète de type 1, l'introduction précoce de protéines du lait de vache pourrait constituer un facteur de risque supplémentaire (98). Une méta-analyse retrouve qu'un allaitement maternel inférieur à trois mois multiplie le risque de développer un diabète de type 1 et que l'on pourrait éviter par l'éviction du lait de vache dans les premiers mois de vie (99). Les enfants porteurs d'HLA de susceptibilité au diabète de type 1 ont un risque accru (100). Les résultats sont toutefois très variables d'une étude à l'autre et d'un pays à l'autre. Le sérum albumine bovine (BSA) pourrait être la protéine mise en cause dans le déclenchement du diabète (101).

D'autres facteurs alimentaires ont été invoqués, comme par exemple l'introduction de céréales dans l'alimentation de l'enfant de moins de 4 mois, principalement chez les individus prédisposés génétiquement. Le système intestinal immature de l'enfant, faisant face aux antigènes des céréales, aurait une réponse aberrante et serait à l'origine d'une augmentation

d'anticorps contre les cellules β (102). De même, l'introduction précoce des aliments contenant du gluten pourrait être un facteur de risque supplémentaire (103).

β) Dans les études de cohortes :

L'analyse de la cohorte DIPP a permis de montrer que la consommation de lait de vache ou que l'introduction précoce, avant 4 mois, de légumes-racines comme la carotte ou la pomme de terre étaient associés à un risque augmenté de développer une auto-immunité β -insulaire mais que la consommation de nitrite pendant la grossesse ne l'était pas chez l'enfant à naître (104–106).

Dans la cohorte DAISY, une association était mise en évidence entre augmentation du risque d'auto-immunité et un plus grand apport de lait de vache chez les enfants qui avait un haplotype HLA à risque faible/modéré (107). Le moment le plus propice pour la diversification alimentaire des nourrissons a été étudié. L'introduction précoce (avant l'âge de 4 mois) et tardive (après l'âge de 6 mois) d'aliments solides, augmente le risque de développer une auto-immunité β -insulaire (pour les céréales avec ou sans gluten) (102) surtout s'il s'agit d'introduction précoce de fruits et tardive de riz ou d'avoine. Alors que la poursuite de l'allaitement maternelle au moment de l'introduction de blé ou d'orge joue un rôle protecteur (108).

Pour l'étude BABYDIET, retarder l'introduction du gluten n'a pas modifié le risque de développer une immunité β -insulaire chez les enfants à risque (109).

La cohorte TEDDY couvre 4 pays différents, avec des bases de données sur la composition des aliments et les groupes alimentaires différents d'un pays à l'autre qu'ils ont dû harmoniser. Néanmoins, ceci a permis d'étudier un large éventail de modèles alimentaires. A titre d'exemple, les préparations hydrolysées pour nourrissons ou l'introduction précoce (avant l'âge de 4 mois) et tardive (après l'âge de 9 mois) d'aliments contenant du gluten augmentent le

risque d'auto-immunité β -insulaire (110,111) tandis que l'exposition aux probiotiques dans la petite enfance réduit le risque d'auto-immunité (112).

L'étude MIDIA s'est intéressée à l'allaitement maternel et au moment de la diversification alimentaire. Seul l'allaitement maternel pendant une période de 12 mois ou plus réduisait le risque de progression d'une auto-immunité vers le diabète de type 1 (113).

d) La période périnatale :

α) Dans la littérature :

Certains événements périnataux, comme la pré-éclampsie maternelle, la détresse respiratoire néonatale, sont associés à un risque accru de développer un diabète de type 1 (114).

Le poids et la taille à la naissance (115), l'incompatibilité fœto-maternelle du groupe ABO mais aussi l'âge maternel au moment de la conception (116) sont aussi associés à un risque augmenté de développer un diabète. Toutes ces études soulignent l'importance des expositions précoces in utero ou périnatales sur le développement futur du diabète.

β) Dans les études de cohortes :

La cohorte DiPiS a permis d'étudier l'influence des événements gestationnels qui pourraient augmenter le risque de développer un diabète de type 1 comme les événements de vie graves (un décès d'un proche, une maladie sévère, un accident grave, un divorce, une perte d'emploi, être victime de violences ...) survenant chez les parents pendant la grossesse et pendant les 2 premières années de vie (117).

La cohorte BABYDIAB a permis d'étudier certains facteurs environnementaux (l'allaitement maternel et la vaccination (118) et l'infection au virus Coxsackie (119)) pendant la grossesse et durant les deux premières années de vie, qui pourraient jouer un rôle dans le développement du diabète, sans toutefois réussir à montrer une quelconque association sur les facteurs étudiés et le développement d'une auto-immunité β -insulaire.

Les données de MIDIA ont permis d'évaluer le rôle de l'IMC maternelle avant la grossesse et la prise de poids pendant la grossesse. Un IMC ≥ 30 kg/m² avant la grossesse et une prise de poids de plus de 15 kg pendant la grossesse prédisaient une augmentation du risque d'auto-immunité β -insulaire (120).

e) La iatrogénie :

Certains traitements peuvent déclencher une destruction des cellules β et mimer en partie un diabète de type 1. Les immunothérapies anti-PD1 (Programmed Cell Death-1) et anti-CTLA4, mais aussi la streptozotocine, utilisée initialement comme antibiotique, peuvent entraîner une destruction irréversible des cellules β et être à l'origine d'un diabète. La streptozotocine est d'ailleurs utilisé comme modèle animal de diabète de type 1 (modèle STZ).

2) Potentiels facteurs protecteur :

a) La théorie hygiéniste :

α) Dans la littérature :

Les conditions de vie actuelles, dans les pays développés, ont conduit par l'hygiène, les soins et les vaccinations à une limitation de l'exposition des individus à de nombreux agents pathogènes, virus, bactéries et parasites, modifiant l'éducation du système immunitaire. Les maladies auto-immunes pourraient être des réponses abusives d'un système immunitaire dont l'éducation serait imparfaite. Cette hypothèse est appuyée sur les données animales. Chez la souris NOD, un élevage exposé à un fort risque d'infections fait diminuer la prévalence du diabète alors que les souris NOD élevées dans des conditions sans germe (germ-free) ont plus de risques de développer un diabète.

Chez l'homme, l'existence d'un gradient nord-sud en Europe de l'incidence du diabète de type 1 va dans ce sens. Les pays scandinaves, qui sont les plus investis dans la médecine préventive et l'hygiène, seraient les plus exposés à la maladie. Cependant, l'exception de la Sardaigne dont

la prévalence du diabète de type 1 est forte, est, de premier abord, difficile à harmoniser avec cette théorie.

La relation entre les vaccinations et l'accentuation de l'incidence du diabète de type 1 a fait l'objet de nombreuses études. Celles-ci ne retrouvent pas de lien entre les vaccins recommandés dans la population pédiatrique et le risque de développer un diabète de type 1 (85).

β) Dans les études de cohortes :

L'étude ABIS s'est intéressée à la théorie hygiéniste. Ils ont étudié différents paramètres liés à un haut niveau d'hygiène tel que le faible nombre d'expositions aux infections (respiratoire, ORL, gastro-intestinales), l'utilisation d'antibiotiques, la faible promiscuité dans le lieu de vie, la vie dans une maison plutôt que dans un appartement ou encore la proximité avec un établissement médical. Tous ces paramètres n'étaient associés significativement avec le développement d'un diabète de type 1. L'absence de lien statistique peut être liée au design de l'étude. En effet, le suivi n'était pas fréquent et il existait un important taux de perdu de vue ce qui réduisait considérablement la puissance statistique de l'étude. Néanmoins, ils ont montré une très faible association entre les infections gastro-intestinales dans l'enfance et le diabète de type 1 (121).

b) *Plasmodium falciparum* :

En Sardaigne, l'amélioration du niveau socio-économique et des normes d'hygiène a conduit à l'éradication du paludisme via la lutte contre son vecteur. La disparition du paludisme aurait donc conduit à des changements radicaux après les années 50 en Sardaigne et pourrait expliquer l'exception de celle-ci en Europe. Le *Plasmodium falciparum* semblerait donc jouer un rôle protecteur (122).

c) Vitamine D et gène VDR :

α) Dans la littérature

L'étude EURODIAB a montré que la supplémentation en vitamine D dans le jeune âge était associée à une baisse de l'incidence du DT1 (123).

La vitamine D via son récepteur (VDR) possède d'autres rôles physiologiques que celui de régulateur de l'homéostasie phosphocalcique, tels que des effets immuno-modulateurs ou celui impliqué dans le contrôle de la différenciation de nombreux types cellulaires. Le VDR est retrouvé dans de nombreux tissus différents, dont le pancréas. Certains polymorphismes du gène du VDR est associé avec le risque de développer un diabète de type 1 (124).

Une étude cas-témoin en Norvège avait suggéré le rôle d'une supplémentation en huile de poisson durant l'enfance comme facteur diminuant le risque de diabète de type 1. L'huile de poisson contient à la fois de la vitamine D et des acides gras $\omega 3$ (125).

β) Dans les études de cohortes :

Dans la cohorte DAISY, ils ont mis en évidence le rôle de certains polymorphismes des gènes impliqués dans le métabolisme de la vitamine D (126) et du gène du récepteur de la vitamine D (127) dans le risque de développer une auto-immunité ou un diabète de type 1. Cependant, dans la population DAISY, dont la prévalence de la carence en vitamine D est faible (autour du 10%), ils n'ont pas réussi à montrer une association entre le développement d'une auto-immunité β -insulaire ou la progression vers le diabète et l'apport de vitamine D ou les valeurs de vitamine D tout au long de l'enfance (128). L'effet protecteur des acides gras $\omega 3$ sur le développement d'une auto-immunité a également été rapporté dans la cohorte DAISY (129) et pourrait résulter d'une interaction entre les apports d'acides gras $\omega 3$ et les gènes contrôlant la désaturation des acides gras (gènes FADS) (130).

L'étude des biomarqueurs alimentaires de la cohorte TEDDY a permis de montrer une diminution du risque d'auto-immunité chez les enfants ayant un taux normal de vitamine D,

mais essentiellement chez les enfants porteurs d'un polymorphisme particulier du récepteur de la vitamine D (131) et chez les enfants qui présentaient des taux élevés d'acides gras ω 3 dans leurs érythrocytes (73).

C/Impact psychologique des études de cohorte :

Il existe un réel bénéfice pour les enfants suivis dans ce type de cohorte. Comme nous l'avons déjà vu, l'inclusion dans ce type de cohorte permet de diagnostiquer le diabète à un stade moins avancé et permet un meilleur contrôle métabolique pendant les premières années, réduisant ainsi les complications à long terme du diabète.

Cependant, le bénéfice de ces études est contre balancé par les effets psychologiques que peut avoir la connaissance de son statut auto-immuns et ainsi de se savoir à risque de développer un diabète de type 1 sans qu'une stratégie de prévention efficace ne soit actuellement disponible.

L'annonce d'un dosage retrouvant un auto-anticorps β -insulaire est associée à une anxiété initiale chez les individus eux-mêmes et chez les membres de la famille. Dans la plupart des cas, cette anxiété s'estompe avec le temps. Néanmoins, cette annonce bouleverse les comportements de ces enfants et de leur famille dans le but de prévenir ou de retarder le début du diabète. Les changements de comportement les plus courants impliquent l'alimentation (diminution des calories et des sucreries) et l'exercice physique (augmentation de l'activité physique) (132).

Dans l'étude TEDDY, ils se sont intéressés à l'impact émotionnel, cognitif et comportemental que peut avoir une telle étude sur les enfants et les parents. Ainsi, l'anxiété chez les parents est plus importante lorsqu'ils savent leurs enfants à risque pour le diabète de type 1 mais cette anxiété se dissipe au fur et à mesure de la répétition des résultats biologiques indiquant une absence d'auto-immunité β -insulaire. Par contre, la présence d'une auto-immunité chez les enfants augmentent l'anxiété des parents et ce d'autant plus si l'enfant développe de multiples auto-anticorps (133). Ceci se traduit aussi par des modifications comportementales des parents dans le but de prévenir le diabète de type 1 avec par exemple des changements dans l'alimentation de l'enfant (moins de bonbons/de sucre). Actuellement, ils analysent dans quelle

mesure ces changements sont associés à de réelles différences dans l'alimentation de l'enfant (134).

Enfin, les enfants qui participent à cette étude sont plus âgés et pourront prochainement répondre par eux-mêmes à des questionnaires portant sur l'impact cognitif, comportemental, émotionnel et sur le stress que peut avoir un tel suivi pendant leur enfance. Et ceci permettra d'examiner le rôle du stress, en tant que facteur environnemental, dans l'initiation et la progression vers une auto-immunité β -insulaire.

II/Etudes de prévention :

Ces larges études de cohorte permettent de comprendre un peu mieux les facteurs physiopathologiques liés au diabète de type 1 et laissent entrevoir les applications thérapeutiques possibles sur la prévention de la maladie. Plusieurs essais randomisés ont déjà été effectués ou sont encore en cours chez l'homme.

La prévention pourrait être primaire chez des individus présentant des signes de prédisposition au diabète, notamment génétique, et dont l'intervention doit cibler l'exclusion de facteurs déclenchants ; secondaires, alors que les stigmates de l'auto-immunité sont retrouvés dans le sang et que la tolérance glucidique commence à se dégrader et où l'objectif est d'arrêter la maladie auto-immune ; ou tertiaire, alors que le diabète de type 1 est déclaré et dont le but est de préserver la masse cellulaire β .

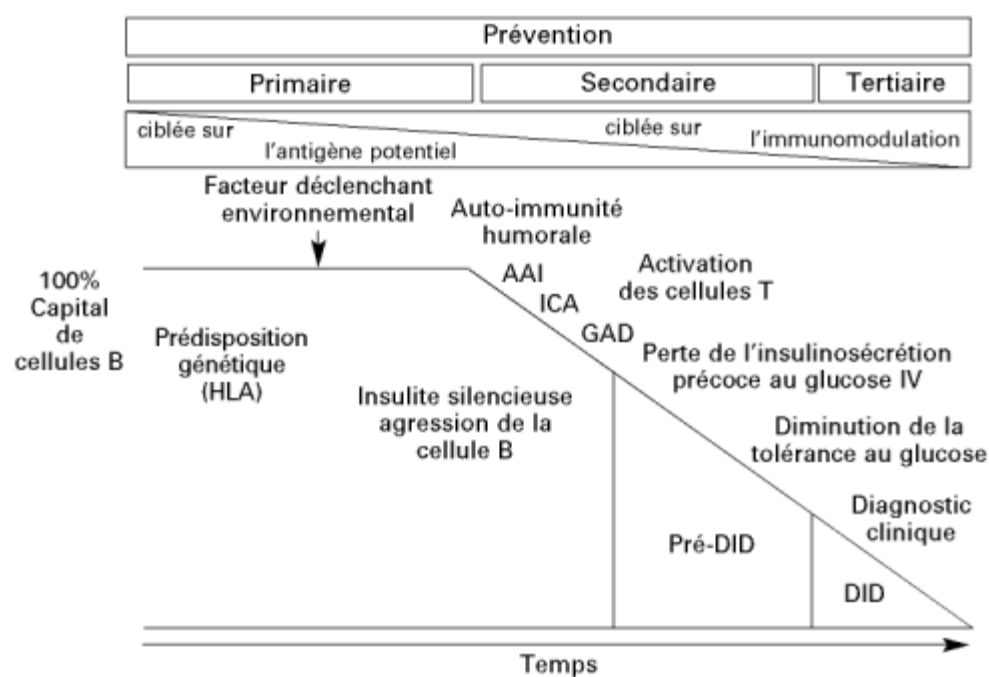


Fig. 1. Stratégies de prévention de type primaire, secondaire ou tertiaire en fonction du moment l'application dans le déroulement de l'histoire naturelle du diabète de type 1.

Figure G : Stratégies de prévention primaire, secondaire ou tertiaire en fonction du moment d'application dans l'histoire naturelle du diabète de type 1 (41).

A/Prévention primaire :

Les stratégies de prévention primaire interviennent avant même l'apparition d'une auto-immunité, chez des sujets à risque. Elles peuvent faire appel à des stratégies d'évitement d'un antigène (dans l'hypothèse que le contact avec celui-ci est un facteur déclenchant de la maladie auto-immune) ou à des méthodes de vaccination dans l'hypothèse d'une origine virale. Néanmoins, très peu d'essais randomisés se sont intéressés à la prévention primaire et seule la première, notamment via des interventions nutritionnelles, a fait l'objet d'essais randomisés.

1) L'étude TRIGR : Protéines de lait de vache

L'étude TRIGR est une étude prospective menée chez 2159 enfants nés entre 2002 et 2007 et issus de 15 pays, présentant une histoire familiale de diabète de type 1 au premier degré et ayant un haplotype HLA à risque. Le but était de retarder l'introduction des protéines de lait de vache par l'utilisation de lait artificiel hydrolysé dans les premiers mois de vie. Malheureusement, ils n'ont pas pu tester l'effet de l'allaitement maternel. L'étude pilote menée en Finlande avait seulement retrouvé une réduction de l'incidence de l'auto-immunité dans le bras non exposé de manière précoce aux protéines de lait de vache.

Dans l'étude TRIGR, il n'y avait pas de différence dans l'incidence du diabète de type 1 chez les enfants des deux groupes, après un suivi médian de 11,5ans (135).

2) L'étude BABYDIET : Régime sans gluten

Le régime sans gluten a été testé chez des enfants allemands en prévention primaire et secondaire dans l'étude BABYDIET. Des enfants ayant un apparenté diabétique de type 1 au premier degré et un haplotype HLA à risque ont été randomisés en deux groupes : exposition tardive au gluten (à partir de l'âge de 12 mois) et exposition standard (à l'âge de 6 mois). Cependant, aucune différence significative n'a été retrouvée entre les deux groupes que ce soit sur le développement de l'auto-immunité ou la survenue d'un diabète de type 1 (109).

3) **L'essai Pre-Point :**

Dans cette étude pilote, les enfants à haut risque pour le diabète de type 1, ayant reçu quotidiennement 67,5mg d'insuline oral, avaient une réponse immunitaire plus importante (avec des doses d'IgG ou d'IgA salivaires dirigées contre l'insuline et une réponse proliférative T vis-à-vis de l'insuline augmentées). Une étude pour déterminer si l'insuline orale en prévention primaire peut prévenir l'auto-immunité ou le diabète devrait être conduite prochainement (136).

B/Prévention secondaire :

La prévention secondaire a pour but de retarder voire d'arrêter le processus auto-immun déjà déclenché. Les stratégies sont mises en place dès qu'apparaît le déclenchement de l'auto-immunité. Plusieurs approches sont possibles : soit favoriser la tolérance aux antigènes par les muqueuses ou par des injections répétées de l'antigène ou soit en renforçant les défenses de la cellule β .

1) Favoriser la tolérance :

a) Par voie muqueuse :

La tolérance aux antigènes administrés par voie muqueuse est connue depuis longtemps et fait intervenir les lymphocytes du système immunitaire muqueux (plaques de Peyer, ...) qui sécrètent des cytokines suppressives (IL4, IL10 ...). De plus, en raison d'un effet suppresseur de proximité (effet « bystander »), cette tolérance se fait non seulement sur les lymphocytes T spécifiques de l'antigène administré mais également sur les lymphocytes localement engagés dans la réponse immunitaire. Ce qui implique qu'il n'y a pas de nécessité de connaître l'auto-antigène initial pour induire une tolérance. On peut citer plusieurs études :

- L'essai Diabetes Prevention Trial-Type 1 (DPT-1) « bras oral », débuté en 1994, a été réalisé chez 372 enfants, âgés entre 7 et 14 ans, à risque modéré de développer un diabète de type 1 (estimé entre 26 et 50% à 5 ans) et présentant des ICA positifs dont 186 ont reçu quotidiennement 7,5mg d'insuline par voie orale et 186 un placebo. L'incidence entre les deux groupes était comparable. Néanmoins, dans le sous-groupe de sujets porteurs d'anticorps anti-insuline à titre élevé il y avait un léger bénéfice de l'administration orale d'insuline (137).
- L'essai TrialNet, groupe « insuline orale », débuté en 2007, a aussi étudié l'insuline orale à la dose de 7,5mg/ jour chez 560 enfants sans toutefois montrer de bénéfice sur la prévention du diabète de type 1 (138).

- L'essai INIT-II, était réalisé chez des sujets ayant une histoire familiale de diabète de type 1 au premier ou deuxième degré et présentant au moins deux auto-anticorps β -insulaire. Cette étude utilise la voie intra-nasale qui a l'avantage de délivrer l'antigène (ici l'insuline) sous forme non dégradée. L'étude est actuellement en cours mais suggère que l'insuline intra-nasale est sûre et induit une réponse immunitaire sans toutefois se traduire par un changement dans le développement du diabète de type 1 (139). L'étude pilote INIT-I réalisée en cross-over sur une durée de 1 an chez 38 sujets, montrait une augmentation sous traitement des taux d'anticorps anti-insuline et une réduction de la réponse proliférative T vis-à-vis de l'insuline, suggérant une tendance vers une immunité médiée par les lymphocytes Th2 aux dépens des Th1 (140).
- La cohorte DIPP a permis d'inclure certains enfants après la détection d'une auto-immunité, dans un essai de prévention d'insuline intranasal. Celui-ci n'a pas démontré d'efficacité de l'insuline dans la prévention du diabète de type 1 (54).

b) Par voie systémique :

La stimulation répétée par de faibles doses d'antigènes s'accompagne d'une réorientation de la réponse immunitaire vers un phénotype Th2. De même l'injection intraveineuse ou sous-cutanée à de fortes doses d'un antigène induit une anergie clonale des lymphocytes spécifiques de l'antigène. L'utilisation de l'insuline comporte un intérêt théorique supplémentaire. Elle pourrait induire une diminution de l'expression des antigènes insulaires par la mise en repos des cellules β , limitant ainsi le processus de destruction cellulaire β . Ces principes sont à l'origine de différents essais cliniques :

- L'essai DTP-1, « bras sous cutanée », a été conduit chez 339 apparentés diabétiques de type 1 au premier degré (âgé entre 3 et 17 ans), à haut risque (plus de 50% à 5 ans). 169 ont été traités par une insuline lente biquotidienne sous cutanée (et

annuellement une injection continue d'insuline IV pendant 4 jours), 170 sous observation. L'incidence annuelle du diabète était respectivement de 15,1% et 14,6%. Cet essai n'a pas démontré d'efficacité de l'insuline dans la prévention du diabète de type 1 (141).

- Une observation similaire dans une population à très fort risque a été faite dans l'essai EPP-SCIT. Le traitement comportait pour 14 sujets de l'insuline par voie sous-cutanée en une injection quotidienne et 15 sujets recevaient un placebo. L'incidence cumulée était identique entre les deux groupes (142).
- L'essai DIAPREV-IT est un essai clinique en double aveugle et contre placebo. Des enfants issus de la cohorte DiPiS et qui présentaient un auto-anticorps anti-GAD et au moins un autre auto-anticorps ont reçu 2 doses, à 30 jours d'intervalle, d'un vaccin utilisant la GAD65 avec des sels d'aluminium comme adjuvant, le Diamyd®. Celui-ci ne retarde ni n'arrête le processus auto-immun (58).

2) Protéger la cellule β :

Pour limiter la destruction de la masse cellulaire β , on peut accroître la résistance des cellules β face à certaines cytokines ou radicaux libres, ou rendre la cellule β « moins visible » au système immunitaire via des agents immuno-modulateurs.

a) Le Nicotinamide :

Le Nicotinamide ou vitamine PP, dérivé de la vitamine B3 a été beaucoup étudié ses dernières années en raison de ses propriétés cyto-protectrices. En effet, le nicotinamide est fortement capté par les îlots de Langerhans et protège les cellules β des effets de la Streptozotocine, ce qui permet de prévenir le diabète (143). Cependant, aucun des deux essais suivants n'a montré d'efficacité en prévention secondaire chez l'homme :

- L'essai ENDIT, réalisé chez 552 apparentés avec un taux d'ICA supérieur à 20 UJDF randomisé en deux groupes : nicotinamide à 1,2g/m²/jour contre placebo. A 5 ans, 82 ont développé un diabète dans le groupe traité contre 79 dans le groupe placebo (144).
- L'essai DENIS, réalisé dans une population plus faible (55 enfants) ayant une histoire familiale de diabète de type 1 au premier degré et un taux d'ICA supérieur à 20 UJDF. La même dose a été utilisée et aucune différence n'a pu être démontrée entre les deux groupes à 3 ans (145).

b) Les immuno-modulateurs :

Dans les années 80, certaines études utilisèrent la Ciclosporine et l'Azathioprine pour ralentir la destruction progressive des cellules β dans les premiers mois suivant le diagnostic du diabète de type 1. Cependant, les effets secondaires de ces traitements (néphrotoxicité, toxicité hépatique ou médullaire et les effets de l'immunosuppression sur le risque d'infection grave ou de néoplasie) sont à juste titre considérés comme inacceptables pour proposer de pareils traitements à long terme chez des sujets nouvellement diabétiques et encore moins, chez les sujets simplement à risque de développer la maladie. D'autant que les quelques études réalisées ne retrouvaient pas de bénéfice dans l'évolution vers l'insulinodépendance. Ainsi, les chercheurs se sont mis à développer des immunothérapies plus efficaces et plus sûres dans le but d'interférer avec la progression vers la maladie.

Les essais thérapeutiques utilisant de telles molécules s'adressent d'abord à des patients diabétiques dans les premières semaines suivant le diagnostic.

Néanmoins, deux essais ont été réalisés, ou sont en cours de réalisation, en prévention secondaire :

- L'un utilise le Teplizumab, un anti-CD3 humanisé dont l'efficacité, en prévention tertiaire, sur la moindre dégradation du peptide C avait été montrée. La théorie

justifiant l'utilisation d'un anticorps monoclonal anti-CD3 repose sur le rôle des lymphocytes T, exprimant donc le CD3 sur leurs membranes, en tant que chef d'orchestre de la destruction de la masse cellulaire β . Le rôle protecteur de ces anticorps monoclonaux avait été mis en évidence chez les souris NOD (16). Il s'agit de l'essai TrialNet-Teplizumab qui a été conduit chez 76 participants à très haut risque de développer la maladie. Ces sujets avaient au moins 2 auto-anticorps β -insulaire et présentaient un début de dégradation de la tolérance glucidique. Chez les 44 individus recevant le Teplizumab, 19 (43%) sont devenus diabétiques contre 23 (72%) parmi 32 sujets dans le groupe placebo. Le taux de diagnostic de diabète dans le groupe traité était de 14,9% par an contre 35,9% par an dans le groupe recevant le placebo. C'est la première étude montrant que le Teplizumab permet de retarder l'apparition du diabète chez ce type de patient. L'analyse de sous-groupe suggère que les individus HLA DR-3 négatif et HLA DR-4 positif ont une meilleure réponse au traitement (146).

- L'autre essai utilise l'Abatacept. Celle-ci bloque l'activation des lymphocytes T, en agissant sélectivement sur les molécules de co-stimulation à la surface des cellules présentatrices d'antigène : les récepteur CD80 ou CD86. L'efficacité sur la production d'insuline résiduelle (taux de peptide C) de l'Abatacept avait déjà été prouvée en prévention tertiaire dans une étude TrialNet plus ancienne (147). Ce bénéfice était maintenu un an après l'arrêt du traitement (148).
- L'essai TrialNet-Abatacept, en prévention secondaire, portant sur des sujets à très haut risque est toujours en cours de recrutement (149).

A noter que le réseau TrialNet teste actuellement l'Hydroxychloroquine, en prévention secondaire, pour prévenir ou retarder l'apparition du diabète (150).

C/Prévention tertiaire :

Les patients concernés sont des diabétiques nouvellement diagnostiqués présentant une sécrétion insulinaire résiduelle. L'objectif de ces essais est de préserver sur le long terme la masse cellulaire β , garante d'un diabète plus stable.

1) La Ciclosporine et l'Azathioprine

Les premiers essais de prévention tertiaire se sont portés sur la Ciclosporine et l'Azathioprine et remontent aux années 1980. Ces essais ont prouvé que ces immunosuppresseurs offraient un bénéfice sur l'insulino-sécrétion résiduelle chez les patients nouvellement diabétiques mais ils présentaient une toxicité trop importante pour être utilisés en pratique clinique (151–153).

2) Immuno-modulateur plus spécifique

a) Les anticorps monoclonaux anti-CD3

S'appuyant sur les données chez la souris NOD dont le traitement par un anticorps anti-CD3 induisait une rémission durable du diabète, les premiers essais utilisant un anticorps monoclonal anti-CD3 ont été faits en prévention tertiaire. Les premiers essais de phase 2 utilisant le Teplizumab ou l'Otelixizumab, un autre anticorps anti-CD3, étaient prometteurs. L'insulinosécrétion résiduelle était préservée plus longtemps chez les patients traités (154–157). Les essais de phase 3 pour l'Otelixizumab (272 patients inclus pour DEFEND-1 (158) et 179 patients pour DEFEND-2 (159)) ou pour le Teplizumab (516 patients dans l'essai Protégé (160)) n'ont pas montré de bénéfice que ce soit sur le niveau de peptide C résiduelle ou sur les besoins en insuline.

b) L'Abatacept et l'Alefacept

L'Abatacept qui bloque les molécules de co-stimulation à la surface des lymphocytes T avait montré son efficacité sur l'insulino-sécrétion résiduelle dans un essai de phase 2 conduit chez 112 sujets après la découverte d'un diabète de type 1 (147). L'Alefacept est une protéine de fusion qui bloque le récepteur de co-stimulation CD28 à la surface du lymphocyte T. Cette

molécule, utilisée dans d'autres maladies auto-immunes comme le psoriasis, empêche la prolifération des lymphocytes et induit l'apoptose des lymphocytes T mémoire. L'essai clinique T1DAL utilisant cette molécule n'a pas montré d'efficacité sur le taux de peptide C résiduel après stimulation à 1 an chez les patients présentant un diabète de type 1 récent (161).

c) Les anticorps anti-CD20

Le Rituximab, un anticorps anti-CD20, entraîne une déplétion sélective des lymphocytes B et donc inhibe l'immunité humorale. L'essai de phase 2, TrialNet-Rituximab, est réalisé chez 87 patients à la découverte du diabète de type 1. A un an, le taux de peptide C après stimulation était plus élevé dans le groupe traité (162), malheureusement, à 2ans, ce taux était semblable à celui du groupe placebo (163).

d) Les cytokines : l'IL-1 et l'IL-2

La cytokine pro-inflammatoire interleukine 1 (IL-1) est cytotoxique pour la cellule β (en induisant l'apoptose) (164) et pourrait potentialiser la réponse immunitaire. L'Anakinra, antagoniste du récepteur de l'IL-1 et le Canakinumab, un anticorps monoclonal anti-IL-1, ont été testés contre placebo mais aucune des deux molécules n'a montré d'efficacité à 1 an (165). L'interleukine 2 (IL-2) est une cytokine jouant un rôle essentiel dans le maintien et dans la fonction des lymphocytes T régulateurs. Ces lymphocytes Treg (CD25+ et exprimant FoxP3) limite l'action des cellules effectrices et prévient les dérives réactionnelles auto-immunes (166). Une étude pilote associant Il-2 et le Sirolimus a dû être arrêtée en raison d'effets secondaires sur la cellule β . Un essai européen est actuellement en cours utilisant des doses très faibles d'IL-2 chez des diabétiques type 1 nouvellement diagnostiqués (167).

D'autres cytokines sont en cours d'études notamment les anticorps anti-Il-6 (Siltuximab) ou des anticorps anti-récepteur de l'IL-6 (le Tocilizumab)(168).

e) Le sérum anti-lymphocytaires (ou anti-thymocyte globulin, ATG)

Le sérum anti-lymphocytaire, généralement utilisé en phase d'induction de transplantation rénale, est constitué d'IgG dirigées contre différentes populations cellulaires et au premier rang les lymphocytes T. Ce traitement constitue une thérapie combinée unique. En effet, ces IgG sont dirigées contre une multitude de cibles antigéniques des lymphocytes T, dont un bon nombre d'antigènes cibles précédemment cités, et pourraient favoriser la tolérance immunitaire. Les études chez les souris NOD ont permis de montrer une rémission du diabète après un traitement par ATG (169). Des études pilotes chez l'homme ont été réalisées et suggèrent que l'ATG peut préserver la fonction cellulaire β (170). Les résultats sont encore discordants. L'essai de phase 2 START (171) n'a pas montré d'efficacité sur le taux de peptide C à un an après 4 jours de traitement alors que dans l'essai clinique évaluant, contre placebo, l'ATG seul ou en association avec un facteur de croissance granulocytaire (G-CSF), montrait un ralentissement de l'épuisement des réserves insuliniqes dans le bras « ATG seul » (172).

3) L'insuline orale

L'étude française DIOR (173) et italienne IMDIAB VII (174) n'ont pas permis de ralentir l'épuisement des réserves insuliniqes après l'administration, en plus de l'insulinothérapie sous-cutanée, d'insuline orale à des doses de 2,5mg à 7,5mg/jour chez des patients présentant un diabète de type 1 récent (< 2 mois).

4) La vaccination

Plusieurs projets de vaccination ont vu le jour depuis les résultats convaincants des stratégies vaccinales chez la souris NOD.

Les résultats des études initiales sur un vaccin utilisant la GAD 65 et des sels d'aluminium comme adjuvant étaient prometteurs tant sur le plan métabolique (taux plus élevé de peptide C) qu'immunologique (déviation de la réponse immunitaire vers un phénotype Th2 au dépens de Th1). Néanmoins, les études plus récentes n'ont pas montré de bénéfice sur le taux de peptide

C, sur la dose quotidienne d'insuline utilisée ou sur les valeurs d'HbA1c à 15 mois de la vaccination chez des patients avec un diabète de type 1 de moins de 3 mois (175).

Un autre antigène a été étudié : la protéine « de choc thermique » hsp60 (Heat shock proteins en anglais) incriminée dans le diabète de type 1. C'est une protéine chaperon (c'est-à-dire une protéine qui aide les autres protéines dans leur maturation) qui est produite par les cellules en réponse à une exposition à des conditions de stress. Chez la souris NOD, l'administration du peptide 277 de hsp60 prévient le diabète et entraîne la rémission lorsqu'il est administré au début de la dégradation glycémique (176). Plusieurs études ont administré de manière itérative un variant du peptide 277 d'Hsp60 (DiaPep277®) (177–179) chez des sujets présentant un diabète de découverte récente. Les résultats sont un peu discordants et l'article de DIA-AID, un essai de phase 3, a été rétracté en raison de fraude dans l'exploitation statistique (180).

5) Thérapie cellulaire - Cellules souches

Les cellules souches présentent un potentiel thérapeutique chez les diabétiques en raison de leurs propriétés immuno-modulatrices pouvant permettre de restaurer une tolérance vis-à-vis de l'auto-antigène et pour leur capacité à régénérer des cellules β fonctionnels. Une méta-analyse récente a étudié 10 essais cliniques (226 patients) ayant réalisé une transplantation autologue de cellules souches (8 études utilisant des cellules souches hématopoïétique de moelle osseuse et 2 études des cellules souches mésenchymateuses) après immuno-ablation chimique chez des patients diabétiques de type 1. Ils ont montré que dans les groupes traités, il y avait une amélioration des taux de peptides C et de l'HbA1c (181). Cependant, malgré ses résultats favorables, les effets indésirables observés n'étaient pas négligeables (infections, endocrinopathies, décès).

6) Autres études

D'autres essais cliniques se sont intéressés à la supplémentation en vitamine D en prévention tertiaire chez des patients nouvellement diagnostiqué. Les résultats ne sont pas encore probants, seule une étude brésilienne a montré une légère efficacité sur la fonction cellulaire β (182).

D'autres molécules ont également été testées ces dernières années :

- L'alpha 1-antitrypsine pour son rôle dans la prolifération et la différenciation des lymphocytes Treg a été évaluée sans montrer d'efficacité (183).
- Les inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase-4, qui permettent d'augmenter les taux de glucagon-like peptide-1 (GLP-1), associés au Lansoprazole, qui permet d'augmenter les taux sanguins de gastrine, ont été testés dans l'étude REPAIR-T suite aux essais thérapeutiques chez la souris NOD dont l'association GLP-1 et gastrine avaient permis d'augmenter la masse cellulaire β et de restaurer un état de normo-glycémie. Cette étude n'a pas montré d'efficacité de cette association de molécules (184). D'autres études sur les DPP-4 sont en cours actuellement.
- L'acide γ -aminobutyrique (GABA) administré par voie orale est actuellement évalué dans un essai clinique. Le GABA pourrait permettre de régénérer les cellules β à partir des cellules α (185,186).

Les facteurs environnementaux sont également étudiés. Ses essais cliniques sont en cours sur l'utilisation de probiotiques chez les enfants nouvellement diagnostiqués (187). Un vaccin contre l'entérovirus va être étudié à Lyon chez des apparentés diabétiques de type 1 présentant des auto-anticorps (188). Un anticorps monoclonal GNbAC1 est en cours d'étude chez des patients présentant un diabète récent. Cet anticorps neutralise une protéine d'enveloppe pathogène souvent détectée en post mortem dans le pancréas de patients diabétique de type 1 (189).

Enfin, en dépit des acquis théoriques, les essais cliniques tentant de prévenir ou de guérir le diabète type 1 sont plutôt décevants. Ces études tendent à relativement invalider les modèles animaux qui servent à évaluer les potentielles démarches préventives. Rappelons que ces modèles sont uniques et que les diabètes de type 1 sont probablement multiples. Certes, les diabètes de type 1 sont réunis par la destruction auto-immune des cellules β mais il est vraisemblable que leurs origines soient multiples et que le développement du diabète qui en découle soit variable d'un individu à l'autre.

L'objectif principal de notre étude est d'évaluer la proportion de patients ayant développé une auto-immunité et ceux devenus diabétiques au cours du suivi longitudinal d'une cohorte d'enfants apparentés au 1^{er} degré de diabétique de type 1.

Les objectifs secondaires pour les enfants ayant développé une auto-immunité sont d'étudier :

- le moment auquel survient la séroconversion
- les types d'anticorps développés au cours du suivi longitudinal
- le devenir de ces anticorps au cours du suivi.

Les objectifs secondaires pour les enfants devenus diabétiques sont :

- d'évaluer le risque de devenir diabétique en fonction des anticorps à la séroconversion
- d'évaluer le risque de devenir diabétique en fonction du développement des anticorps au cours du suivi
- de déterminer si le risque est modifié par le profil HLA.

EPIDEMIOLOGIE DESCRIPTIVE DE LA COHORTE

I/ Matériels et méthodes

A/Patients inclus dans l'étude :

La population de notre étude est issue des familles prises en charge au centre de dépistage du pré-diabète de type 1 depuis son ouverture en 1996 jusqu'en août 2020. Les familles prises en charge au centre de dépistage avaient soit un parent atteint soit un enfant présentant un diabète de type 1. Le dépistage était proposé par le diabétologue adulte, le pédiatre ou le médecin référent (réseau DIAMENORD) ou demandé d'emblée par la famille. Après information lors de la première consultation, un consentement éclairé a été signé avant la réalisation des prélèvements sanguins. Pour chaque individu volontaire, les génotypes HLA DQA1, DQB1, DRB1, DPB1 mais aussi VNTR et CTLA-4 ont été réalisés lors de la 1^{ère} consultation (le profil génotypique HLA DBP1, VNTR et CTLA-4 n'était plus réalisé après 2015). Les marqueurs immunologiques du diabète de type 1 ont été recherchés : anticorps anti-insuline (AAI), anticorps anti IA-2, anticorps anti-GAD et anticorps anti-îlot (ICA).

Au cours du suivi, les enfants non atteints de la famille sont revus annuellement pour le dosage des auto-anticorps. Le suivi était rapproché à 6 mois en cas de positivité d'un des anticorps. Le suivi s'arrêtait soit sur simple demande des parents, soit si l'enfant devenait diabétique, soit en étant perdu de vue ou soit à la majorité de l'enfant (mais le suivi pouvait se poursuivre après la majorité s'il le souhaitait).

Notre étude s'intéresse exclusivement aux enfants des familles prises en charge au CCB et qui sont apparentés au 1^{er} degré au sujet diabétique de la famille. Les familles de notre étude ont ainsi soit un des deux parents atteint, soit un enfant ou soit plusieurs enfants/parents diabétiques de type 1. Ce dernier cas définit une famille multiplex.

Les critères d'exclusion dans notre étude étaient :

- Absence d'apparentés diabétique de type 1 au 1^{er} degré
- Une seule visite au cours du suivi
- Absence du génotypage HLA
- Présence d'un diabète antérieur à la 1^{ère} visite

B/Définitions :

Nous avons pris le parti de prendre comme définition celles qui sont le plus largement utilisées dans la littérature afin de définir nos différents groupes.

Nous avons défini la séroconversion par la présence au cours du suivi au moins un des 4 anticorps positifs dont les seuils étaient définis par la technique utilisée.

Nous avons défini le caractère persistant d'un anticorps si celui-ci était retrouvé positif sur deux visites successives :

- le caractère *transitoire* se définissait pour un anticorps persistant qui se « négativait ».
- le caractère *permanent* se rapportait à un anticorps persistant qui restait positif jusqu'à la fin du suivi.

Les enfants ayant développé ponctuellement des anticorps au cours de visites non successives (=anticorps non persistant) étaient considérés comme n'ayant pas développé une auto-immunité β insulaire.

Nous avons défini également les enfants présentant un caractère éphémère ou durable de la séroconversion :

- la séroconversion était dite « éphémère » lorsqu'il n'y avait aucun anticorps positif à la dernière visite, on parle alors de séroréversion.
- la séroconversion était étiquetée « durable » lorsqu'à la dernière visite au moins un anticorps restait positif.

Le diabète était défini selon les critères de l'OMS.

C/Méthode de dosage des auto-anticorps :

1) Dosage des ICA

Jusqu'en 2011, les ICA étaient détectés sur coupes congelées de pancréas humain de groupe sanguin O, prélevé sur des patients décédés au CHRU de Lille, par immunofluorescence indirect. Après dilution, le sérum à tester est mis à incuber sur lame avec la coupe de pancréas. Une immunoglobuline fluorescente anti-IgG humaine est ensuite utilisée. La positivité repose sur le nombre de dilution maximum du sérum pour lequel la fluorescence est observée. Elle s'exprime en unité JDF et son seuil de positivité est supérieur ou égal à 4 UJDF.

Après 2011, les ICA sont toujours détectés par une technique d'immunofluorescence indirect mais désormais sur des coupes de pancréas de primate modifiant ainsi le seuil de positivité à 8 UJDF.

2) Dosage des anticorps anti-GAD

La recherche d'anticorps anti-GAD s'effectue par une technique de radio-immunologique en phase liquide. Le sérum du patient est mis à incuber avec une solution de GAD65 recombinant humain marqué à l'iode 125. Les complexes « antigène marquée-anticorps » ainsi formés sont précipités par une suspension de protéine A. Après centrifugation et élimination du surnageant, la radioactivité dans le précipité est mesurée. La radioactivité dans le précipité est proportionnelle à la concentration en auto-anticorps anti-GAD dans l'échantillon. Celle-ci est comparée à des groupes contrôle réalisés dans le même temps d'analyse et permettant de donner une courbe d'étalonnage.

Jusqu'au 5 février 2018, le kit utilisé était le kit GAD-AB fabriqué par une entreprise galloise RSR Limited Cardiff et distribué par Cisbio Bioassays. Le seuil de positivité était à 1 U/ml.

Depuis cette date, le fabricant du kit a changé, et c'est désormais le kit de chez DIA Source qui est utilisé. Ainsi, la méthode est similaire mais le seuil de positivité est modifié et est à 2 U/ml. De plus, avec ce nouveau kit, il existe une zone d'ombre pour les concentrations comprises entre 1 et 2 U/ml où la positivité (ou la négativité) ne peut être affirmée. Dans notre étude, les dosages réalisés avec ce nouveau kit et dont les concentrations sont comprises entre 1 et 2 U/ml, sont considérés comme négatifs.

3) Dosage des anticorps anti-IA2

Initialement, la recherche des anticorps anti-IA-2 était aussi réalisée par une méthode radio-immunologique en phase liquide. Les sérums des patients étaient incubés avec de la tyrosine phosphatase recombinante marquée à l'iode 125. Les complexes formés étaient ensuite précipités par une suspension de protéine A et après une étape de centrifugation la radioactivité dans le culot était mesurée. Comme pour le dosage de l'anti-GAD, la quantité de radioactivité est proportionnelle à la quantité d'anticorps anti-IA2 et des courbes d'étalonnage réalisées dans le même temps permettent de définir une concentration.

Jusqu'au 29/01/2018, le seuil de positivité avec le kit IA2-AB, fabriqué par RSR Limited Cardiff, est de 1 U/ml.

A partir de cette date, la méthode a changé. Il s'agit d'une méthode en phase hétérogène, une technique ELISA. Le sérum du patient est mis dans des puits revêtus à l'intérieur d'IA-2 sur une plaque ELISA. Après une incubation, les échantillons sont éliminés laissant les anticorps anti-IA2 liés aux puits revêtus d'IA-2. De l'IA-2-biotine est ensuite ajoutée pendant une deuxième étape d'incubation au cours de laquelle l'anticorps immobilisé sur la plaque fixe l'IA2-biotine. La quantité d'IA-2 biotine est alors déterminée au cours d'une troisième étape d'incubation comportant l'addition de Streptavidine peroxydase (SA-POD), qui se lie de manière spécifique à la biotine. L'excès non lié de SA-POD est éliminé par lavage. L'addition

de 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB) révèle la peroxydase et entraîne la formation d'une couleur bleue. Une solution d'arrêt stoppe la réaction et provoque le changement de la couleur du contenu du puits du bleu au jaune. L'absorbance du mélange réactif jaune est ensuite lue par un lecteur de plaque ELISA. Une absorbance plus élevée indique la présence d'une concentration plus importante d'anticorps anti-IA2. Les concentrations sont ensuite déduites à partir d'une courbe d'étalonnage. Le seuil de positivité réalisé avec le Kit ELISA fabriqué par RSR Limited est à 7,5 U/ml.

4) Dosage des anticorps anti-insuline

Il s'agit également d'une méthode radio-immunologique en phase liquide. Tout d'abord, une phase d'extraction de l'insuline endogène est réalisée sur le sérum du patient. Cette méthode consiste à extraire l'insuline en milieu acide suivie de son absorption sur du charbon. Le sérum sans insuline ainsi obtenu est ensuite mélangé avec une quantité constante d'insuline humaine marquée à l'iode 125. Après une incubation de 48h, la fraction liée à l'insuline marquée est précipitée par l'addition de PEG. La radioactivité du culot est ensuite mesurée par un compteur Gamma. On obtient ainsi la liaison totale (LT) représentant le pourcentage d'insuline marquée qui est liée à un anticorps. Sur un deuxième tube, on détermine également la liaison non spécifique de l'échantillon en mesurant la liaison après l'addition d'un excès d'insuline humaine (Actrapid®). La liaison spécifique (LS) est obtenue par soustraction de la liaison totale et la liaison non spécifique. Les résultats de la LT et LS sont exprimés en pourcentage de liaison par rapport à l'activité totale introduite. Les normes ont été établies sur une population-témoin de 178 enfants indemnes de tout antécédent personnel ou familial de diabète, n'ayant jamais reçu d'insuline et dont la glycémie à jeun est normale. La positivité est définie par un taux supérieur ou égal à 2,9% pour la LT et 1,13% pour la LS.

Dans notre étude, cette méthode a été utilisée depuis le début de l'ouverture du CCB. La positivité de l'anticorps anti-insuline est définie dans notre étude quand la liaison spécifique est supérieure à 1,13%.

Ainsi tout au long du suivi longitudinal des enfants, les techniques de dosage des AAI et les ICA n'ont pas été modifiées.

D/Réalisation de l'analyse génétique :

Les premières études des allèles des gènes HLA de classe II DQB1, DQA1 et DRB1 étaient réalisées par la technique de PCR-RFLP (restriction fragment length polymorphism). Après extraction de l'ADN et réalisation de cycles de PCR permettant d'obtenir un grand nombre de copies d'une séquence d'ADN à étudier, la détermination des allèles repose sur l'étude moléculaire des fragments obtenus après digestion enzymatique grâce à des endonucléases. Au sein d'un locus, il existe des variations génotypiques appelées polymorphisme. Chaque version détermine un allèle. Des enzymes de restrictions reconnaissent des séquences d'ADN spécifiques et coupent de manière reproductible l'ADN à ce niveau, formant des fragments déterminés. En utilisant une ou plusieurs enzymes de restriction, on peut déterminer en fonction de la taille des fragments obtenus et en les comparant à un témoin étudié en parallèle, l'allèle ou le groupe d'allèle porté par les séquences d'ADN étudiées.

A partir de 2015, la détermination des allèles des gènes HLA a changé. Il s'agit de la technique PCR- Sequence Specific Oligonucleotides (SSO). Après amplification spécifique des loci HLA cibles par des amorces biotinylées, les produits amplifiés marqués à la biotine sont transférés avec le tampon hybridation dans les cupules contenant des sondes SSO immobilisées au fond. Les amplicons marqués à la biotine se fixent aux sondes SSO qui contiennent une séquence cible complémentaire. Après un lavage pour éliminer tout amplicon non fixé, de la Streptavidine marquée à la phosphatase alcaline est ajouté aux cupules et se fixe à la biotine

des amplicons ayant été hybridés avec la sonde SSO complémentaire. Un substrat de BCIP/NBT est ajouté et produit une coloration bleue-violette quand il est converti par la phosphatase alcaline. Les points colorés au fond de chaque cupule réactionnelle sont photographiés et un programme analyse l'intensité de chaque point présente sur la biopuce. Les réactions positives et négatives sont déterminées en les comparant à un seuil commun. Le logiciel calcule à partir de ces valeurs, qui reflètent l'hybridation observée, leur correspondance allélique.

Dans notre étude, en regard de la littérature (190), les haplotypes suivants étaient classés à très haut risque (A): l'haplotype DR3-DQ2 (HLA DRB1*03:01-DQA1*05:01-DQB1*02:01) et les haplotypes DR4-DQ8 :

- HLA DRB1*04:01-DQA1*03:01-DQB1*03:02
- HLA DRB1*04:02-DQA1*03:01-DQB1*03:02
- HLA DRB1*04:04-DQA1*03:01-DQB1*03:02
- HLA DRB1*04:05-DQA1*03:01-DQB1*03:02

Les haplotypes considérés à risque légèrement augmenté sont dans notre étude (a):

- HLA DRB1*08:01-DQA1*04 :01-DQB1*04:02
- HLA DRB1*01:01-DQA1*01:01-DQB1*05:01
- HLA DRB1*13:02-DQA1*01:02-DQB1*06:02

Les haplotypes suivants étaient considérés comme protecteur (P):

- HLA DRB1*07:01-DQA1*02:01-DQB1*03:03
- HLA DRB1*14:01-DQA1*01:01-DQB1*05:03
- HLA DRB1*15:01-DQA1*01:02-DQB1*06:02
- HLA DRB1*13:03-DQA1*05:01-DQB1*03:01

Les haplotypes DR4 avec le variant 03:01 du locus DQB1 (DRB1*04:01-DQA1*03:01-DQB1*03:01 ou DRB1*04:07-DQA1*03:01-DQB1*03:01) et un allèle particulier du génotype DR4 (DRB1*04:03) étaient considérés comme faiblement protecteurs (p). Les haplotypes DR-DQ (DR11, -12 et -13) contenant l'allèle DQA1*0503-DQB1*0301 étaient classés faiblement protecteurs. D'autres haplotypes étaient également classés comme faiblement protecteurs (par exemple HLA DRB1*07:01-DQA1*02:01-DQB1*02:01 ou HLA DRB1*13:01-DQA1*01:03-DQB1*06:03).

Une grande majorité d'haplotypes était classé neutre (N) si le hazard ratio calculé dans l'étude d'Erlich et al. n'était pas significatif. Les haplotypes qui n'étaient pas retrouvés dans cette étude étaient considérés comme neutre.

Pour l'analyse de risque HLA, 3 catégories ont été déduites pour les patients.

La première catégorie (risque protecteur ou neutre) regroupait :

- risque HLA fortement protecteur si le génotype associait : P/P, P/p, p/p ou P/N
- risque faiblement protecteur pour : p/N ou a/P
- risque neutre : N/N, A/P ou a/p

La seconde catégorie de risques (risque augmenté) :

- risque faiblement augmenté associant : a/N ou A/p
- risque fortement augmenté : A/a, a/a ou A/N

La dernière catégorie de risques (risque très augmenté) associait le génotype : A/A

E/Analyse statistique :

Les paramètres qualitatifs ont été décrits en termes de fréquence et de pourcentage. Les paramètres numériques gaussiens ont été décrits en termes de moyenne et de déviation standard et les paramètres numériques non gaussiens en termes de médiane et d'intervalles interquartiles. La normalité des paramètres numériques a été vérifiée graphiquement et testée à l'aide du test de Shapiro-Wilk.

Les caractéristiques de baseline ont été comparées entre les patients séroconvertis (AI) et non séroconvertis (AI négative) à l'aide d'un test du Chi-deux (ou de Fisher Exact) pour les paramètres qualitatifs, d'une analyse de la de Student pour les paramètres quantitatifs gaussiens ou à l'aide d'un test de Mann-Whitney pour les paramètres quantitatifs non gaussiens.

Les courbes de survie représentent le pourcentage de diabète par rapport au délai étudié. Le taux de diabète en différents temps a été déterminé grâce à la méthode du Kaplan-Meier. Le test au log-rank a été utilisé pour comparer les courbes de survie. La comparaison du taux de diabète en différents temps entre les groupes a été analysée grâce à un modèle de Cox (à risques proportionnels) après avoir vérifié les hypothèses de proportionnalité des risques au cours du temps.

Les statistiques ont été réalisées par l'unité de méthodologie biostatistique du CHRU de Lille. Le niveau de significativité a été fixé à 5%. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SAS (SAS Institute version 9.4).

II/Résultats

Nous avons décidé d'être exhaustifs dans les résultats afin de décrire au mieux notre population à risque.

A/Première partie : Population générale

1) Enfants inclus dans l'étude :

Au total 731 enfants, apparentés de diabétiques de type 1, ont été suivis au centre de dépistage. Après exclusion des enfants ne remplissant pas tous les critères, 587 enfants ont été inclus dans notre étude (Figure 1).

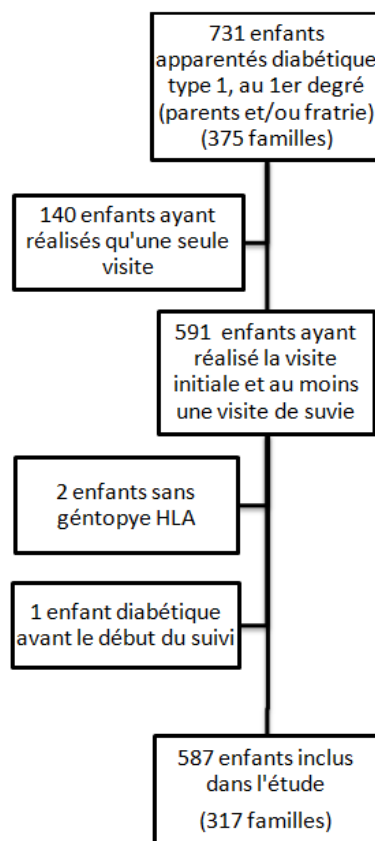


Figure 1 : Flowchart

La population de notre étude porte sur 317 familles, on distingue :

- 82 familles avec un père diabétique représentant 165 enfants (28,1%),
- 100 familles avec mère diabétique représentant 178 enfants (30,3%),
- 115 familles avec un enfant diabétique représentant 205 enfants (34,9%) dont :
 - o 57 familles avec un garçon diabétique représentant 98 enfants
 - o 55 familles avec une fille diabétique représentant 102 enfants
 - o 3 familles avec un(e) demi-frère/sœur atteint représentant 5 enfants
- 20 familles multiplex représentant 39 enfants (6,7%) dont :
 - o 8 familles avaient un parent et un enfant atteints, représentant 21 enfants
 - o 2 familles avaient les deux parents atteints, représentant 3 enfants
 - o 6 familles avaient plusieurs enfants atteints, représentant 8 enfants
 - o 4 familles avec au moins 3 cas diabétiques, représentant 7 enfants

L'âge moyen au moment de la première visite était de 7,6 ans (médiane à 6,3 ans [2,6;11,4]).

La durée moyenne du suivi était de 6,4 ans (médiane 5 ans [2,2;9,1]).

Au total, 587 enfants ont été suivis au moins à deux reprises. 16,4% des enfants (96 enfants sur 587) ont eu au moins un anticorps persistant au cours du suivi. 2,7% des enfants (16 sur 587) sont devenus diabétiques de type 1.

2) Comparaison des caractéristiques de la population ayant développé ou non une auto-immunité

Les 96 enfants ayant développé un moins un anticorps persistant, transitoire ou permanent, étaient considérés comme ayant développé une auto-immunité β -insulaire (AI) alors que les 433 enfants n'ayant jamais développé d'anticorps et les 58 enfants ayant développé des anticorps non persistants étaient considérés comme n'ayant pas développé d'auto-immunité contre la cellule β (AI négative).

Les caractéristiques de la population entre le groupe ayant développé une auto-immunité (AI) et ceux n'ayant pas développé d'anticorps persistant (AI négative) sont détaillées dans le tableau I.

La population séroconvertie était suivie plus longtemps que ceux n'ayant jamais développé d'auto-immunité et avait un génotype HLA à risque plus élevé.

Tableau I - Tableau descriptif de la population :

Caractéristique		AI négative (N=491)	AI (N=96)	p value
Sexe	Masculin	243 (49,5)	52 (54,2)	0,40
	Féminin	248 (50,5)	44 (45,8)	
Propositus	Père	148 (30,1)	17 (17,7)	0,059
	Mère	147 (29,9)	31 (32,3)	
	Frère+ demi-frère	87 (17,7) + 0 (0)	15 (15,6) + 1 (1)	
	Sœur + demi-sœur	77 (15,7) + 3 (0,6)	21 (21,9) + 1 (1)	
	2 cas ou plus	29 (5,9)	10 (10,4)	
Risque HLA	Protecteur ou neutre	158 (32,2)	28 (29,2)	0,006
	Augmenté	256 (52,1)	40 (41,7)	
	Très augmenté	77 (15,7)	28 (29,2)	
Génotype HLA ¹	DR3/4	35 (7,1)	19 (19,8)	0,003
	DR 4/4	19 (3,9)	4 (4,2)	
	DR 3/3	25 (5,1)	5 (5,2)	
	DR 7/x ou 14/x ou 15/x	75 (15,3)	11 (11,5)	
	Autres	337 (68,6)	57 (59,4)	
Gène DQB1*06:02	Absence	443 (90,2)	89 (92,7)	0,44
	Présence	48 (9,8)	7 (7,3)	
Durée du suivi (en année)	Médiane [Q1;Q3]	4,8 [2,1;8,8]	6,8 [2,4;11,6]	0,017
Age 1 ^{er} visite (en année)	Médiane [Q1;Q3]	6,3 [2,7;11,3]	5,9 [2,5;12,3]	0,69

¹Le génotype était considéré : DR 3 pour les haplotypes HLA DRB1*03:01-DQA1*05:01-DQB1*02:01 ; DR 4 pour HLA DRB1*04:01-DQA1*03:01-DQB1*03:02 ou DRB1*04:02-DQA1*03:01-DQB1*03:02 ou DRB1*04:04-DQA1*03:01-DQB1*03:02 ou DRB1*04:05-DQA1*03:01-DQB1*03:02 ; DR 7 pour HLA DRB1*07:01-DQA1*02:01-DQB1*03:03 ; DR 14 pour HLA DRB1*14:01-DQA1*01:01-DQB1*05:03 ; DR 15 pour HLA DRB1*15:01-DQA1*01:02-DQB1*06:02 ; (x pour n'importe quel haplotype).

B/Deuxième partie : Patients ayant eu une séroconversion

1) Descriptions des enfants séroconvertis

Notre étude s'intéresse tout particulièrement aux 96 enfants ayant fait une séroconversion transitoire ou permanente, unique ou multiple. Nous nous sommes intéressés aux anticorps développés au moment de la séroconversion, aux anticorps que ces enfants ont développés tout au long du suivi longitudinal et au statut auto-immun lors de la dernière visite.

a) Comparaison des enfants séroconvertis en fonction de leur devenir diabétique :

L'âge moyen au moment de la première visite était de 7,6 ans (médiane à 5,9 [2,5-12,3]). La durée moyenne de suivi est de 7,6 ans (médiane 6,8 [2,4-11,5]). Le tableau II détaille les caractéristiques des patients séroconvertis devenus ou non diabétiques.

Une plus grande proportion d'enfants devenus diabétiques avait un génotype HLA à risque augmenté ou très augmenté. Ces enfants développaient au moment de la séroconversion plus souvent de multiples anticorps.

Tableau II – Descriptif des patients séroconvertis

Caractéristiques		Anticorps persistant (AI) (N=96)	AI sans diabète (N=80)	Diabète type 1 (N=16)	p value (DT1 vs sans diabète)
Sexe	Masculin	52 (54,2)	44 (55)	8 (50)	0,71
	Féminin	44 (45,8)	36 (45)	8 (50)	
Propositus	Père	17 (17,7)	15 (18,8)	2 (12,3)	
	Mère	31 (32,3)	27 (33,8)	4 (25)	
	Frère	15 (15,6)	12 (15)	3 (18,8)	
	Sœur	21 (21,9)	15 (18,8)	6 (37,5)	
	2 cas ou plus	10 (10,4)	9 (11,3)	1 (6,3)	
	Demi-frère/sœur	2 (2,1)	2 (2,5)	0 (0)	
Risque HLA	Protecteur/neutre	28 (29,2)	27 (33,8)	1 (6,3)	0,03
	Augmenté	40 (41,7)	33 (41,3)	7 (43,8)	
	Très augmenté	28 (29,2)	20 (25)	8 (50)	
Génotype HLA ¹	DR3/4	19 (19,8)	12 (15)	7 (43,8)	
	DR 4/4	4 (4,2)	3 (3,8)	1 (6,3)	
	DR 3/3	5 (5,2)	5 (6,3)	0 (0)	
	DR 7/x ou 14/x ou 15/x	11 (11,5)	11 (13,8)	0 (0)	
	Autres	57 (59,4)	49 (61,3)	8 (50)	
Gène DQB1*06:02	Absence	89 (92,7)	73 (91,3)	16 (100)	
	Présence	7 (7,3)	7 (8,8)	0 (0)	
Durée du suivi (en année)	Médiane [Q1;Q3]	6,8 [2,4;11,6]	7,3 [3,1;12,7]	2,6 [1,9;5,8]	0,011
Age séroconversion (en année)	Médiane [Q1;Q3]	9,2 [5,7;14,2]	9,6 [5,8;14,9]	7,7 [4,3;10,6]	0,169
Type de 1er anticorps	Anti-GAD	65 (67,7)	51 (63,8)	14 (87,5)	0,03
	AAI	13 (13,5)	9 (11,3)	4 (25)	
	Anti-IA-2	17 (17,7)	11 (13,8)	6 (37,5)	
	ICA	30 (31,3)	20 (25)	10 (62,5)	
	Anticorps multiples	18 (18,8)	7 (8,8)	11 (68,8)	

1 cf tableau I

b) Enfants au moment de la séroconversion :

Nous nous sommes intéressés plus particulièrement aux anticorps que les enfants développent au moment de la séroconversion et l'âge auquel les enfants développent leur auto-immunité.

α) Nombre et type d'anticorps à la séroconversion :

Lors de la séroconversion, différentes associations d'anticorps sont exprimés par les enfants. Le tableau III reprend les combinaisons d'anticorps à la séroconversion et le nombre de patients ayant développé un diabète en fonction de ces associations.

Tableau III : Combinaison des anticorps à la séroconversion :

Anticorps à la séroconversion	Nombre d'enfants	Progression vers DT1 n (%)
Un seul anticorps	78	5 (6,4)
Anti-GAD	48	4 (8,3)
AAI	8	1 (12,5)
Anti-IA2	6	0 (0)
ICA	16	0 (0)
Deux anticorps	9	5 (55,6)
Anti-GAD et AAI	1	0 (0)
Anti-GAD et anti-IA-2	3	1 (33,3)
Anti-GAD et ICA	5	4 (80)
Trois anticorps	7	5 (71,4)
Anti-GAD, AAI et ICA	1	1 (100)
Anti-GAD, anti-IA-2 et ICA	5	3 (60)
AAI, anti-IA-2 et ICA	1	1 (100)
Quatre Anticorps	2	1 (50)

Au moment de la séroconversion, on remarque qu'aucun des enfants ayant développé uniquement l'anticorps ICA ou l'anticorps anti-IA2 n'ont progressé vers un diabète.

Les caractéristiques des enfants en fonction du type d'anticorps à la séroconversion sont détaillées dans l'annexe 1.

β) Age des enfants à la séroconversion en fonction du type d'anticorps et influence du génotype HLA

Les génotypes HLA à risque (DR3/4 et DR4/4) ou le risque HLA « très augmenté », n'influence pas l'âge auquel l'enfant développe un anticorps (tableau IV).

Tableau IV : Age médian [Q1;Q3] à la séroconversion par type d'anticorps en fonction du risque ou de la présence du génotype HLA DR3/4 (ou DR4/4).

		Type d'anticorps à la séroconversion de :				
		Anti-GAD (N=65)	AAI (N=13)	Anti-IA-2 (N=17)	ICA (N=30)	Tout Ac (N=96)
Risque HLA	Protecteur/Neutre	9,3 [6,3;13,1]	5 [4,0;6,3]	7,5 [6,3;10,2]	9,2 [7,7;14,0]	8,8 [6,1;13,4]
	Augmenté	10 [7,9;13,4]	5,9 [4,1;6,7]	5,7 [2,9;5,8]	5,8 [3,2;8,0]	8,2 [5,4;13,3]
	Très Augmenté	13 [6,9;15,7]	9,5 [5,8;13,1]	15,8 [4,4;17]	10,1 [4,2;14,0]	11 [5,8;15,6]
p value		0,32	0,97	0,15	0,24	0,32
Génotype HLA	DR4/4 ou DR3/4	10,9 [4,9;15,2]	9,5 [5,8;13,1]	10,1 [4,3;16,8]	7,8 [5,6;14]	9,9 [4,2;15,2]
	Autres	10,2 [7,4;13,6]	5,8 [3,7;6,8]	5,8 [4,6;10,2]	6,2 [3,7;10,1]	9,1 [5,8;13,6]
p value		0,74	0,92	0,69	0,47	0,74

γ) Comparaison des caractéristiques des enfants séroconvertis en fonction de l'âge à la séroconversion

Nous nous sommes intéressés aux patients développant leur auto-immunité précocement (avant 8 ans) et ceux qui la développent plus tardivement. Le tableau V détaille les caractéristiques des patients séroconvertis en fonction qu'ils développent leur auto-immunité précocement (avant 8 ans) ou tardivement (après 8 ans).

Les enfants qui ont eu une séroconversion après 8 ans développent plus souvent un anticorps anti-GAD comme 1^{er} anticorps et ils développent moins souvent de multiples anticorps au cours du suivi. Cependant, il n'y a pas de différence en termes de progression vers le diabète entre les deux groupes.

Tableau V : Description des patients en fonction de l'âge à la séroconversion

		Age à la séroconversion		
		Avant 8 ans (N=39)	Après 8 ans (N=57)	p value
Sexe	Féminin	12 (30,8)	25 (43,8)	0,19
Propositus	Père	8 (20,5)	9 (15,8)	
	Mère	18 (46,2)	13 (22,8)	
	Fratrerie	13 (33,3)	25 (43,9)	
	2 cas ou plus	0	10 (17,5)	
Risque HLA	Protecteur ou neutre	12 (30,8)	16 (28,1)	0,28
	Augmenté	19 (48,7)	21 (36,8)	
	Très augmenté	8 (20,5)	20 (35,1)	
Génotype HLA ¹	DR3/4	6 (15,4)	13 (22,8)	0,37
	Autres	33 (84,6)	44 (77,2)	
Haplotypes HLA	DR3-DQ2 présence	15 (38,5)	38 (66,7)	0,006
	DR4-DQ8 présence	20 (51,3)	27 (47,4)	0,70
Gène DQB1*06:02	Présence	2 (5,1)	5 (8,8)	0,70
Durée du suivi (en année)	Médiane [Q1;Q3]	6,5 [2,6;11,1]	7 [2,3;12,6]	0,72
Age séroconversion (en année)	Médiane [Q1;Q3]	4,6 [3,1;6,3]	13,5 [10,1;15,5]	<10 ⁻¹⁶
Type de 1er anticorps	Anti-GAD	21 (53,8)	44 (77,2)	0,002
	AAI	11 (28,2)	2 (3,5)	
	Anti-IA-2	11 (28,2)	6 (10,5)	
	ICA	15 (38,5)	15 (26,3)	
	Anticorps multiples	11 (28,2)	7 (12,3)	
Nombre d'anticorps développé au cours du suivie	1 anticorps	15 (38,5)	41 (71,9)	0,01
	2 anticorps	11 (28,2)	8 (14)	
	3 anticorps	6 (15,4)	5 (8,8)	
	4 anticorps	7 (17,9)	3 (5,3)	
Nombre anticorps au cours suivi	Multiples	24 (61,5)	16 (28,1)	0,001
Séroconversion durable	Non	15 (38,5)	16 (28,1)	0,28
Diabète	Présence	8 (20,5)	8 (14)	0,40

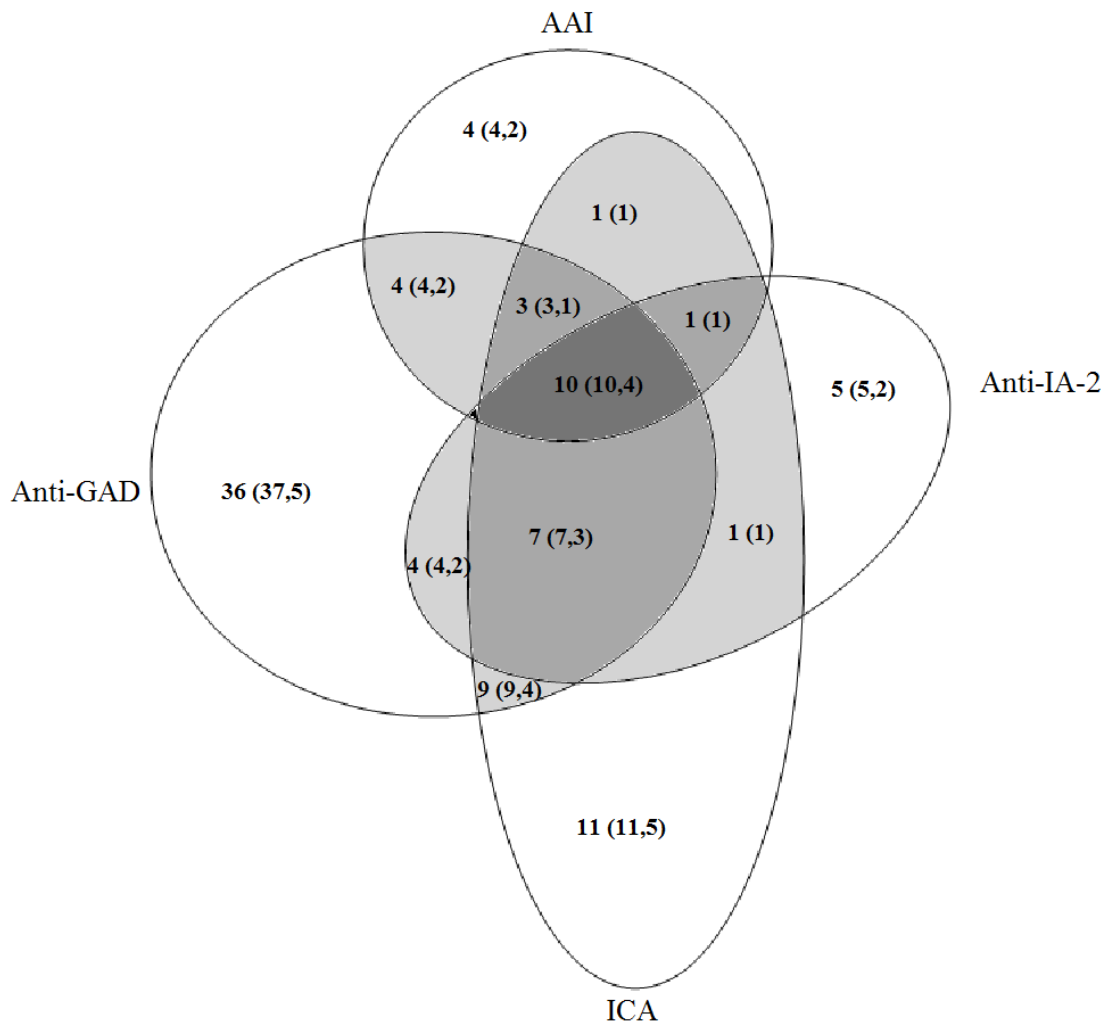
c) Suivi des enfants de la séroconversion à la dernière visite :

Nous nous sommes intéressés aux anticorps que les enfants développent au cours du suivi longitudinal.

α) Nombre et type d'anticorps au cours du suivi

Au total, 56 enfants (58,3%) ont présenté un seul anticorps. Sur les 96 enfants, 19 enfants (19,8%) ont présenté deux anticorps, 11 ont présenté 3 anticorps (11,5%) et 10 enfants (10,4%) ont présenté les 4 anticorps. La figure 2 donne la répartition des associations.

Figure 2 : Profil des anticorps au cours du suivi longitudinal des enfants séroconvertis N (%) :



β) Apparition d'un type d'anticorps au cours du suivi en fonction du génotype HLA

Dans la population séroconvertie (N=96), il y a 43 sujets présentant un haplotype HLA DR4-DQ8 et 48 enfants un haplotype HLA DR3-DQ2. Il y a 24 patients qui ne présentent aucun de ces haplotypes. Le tableau VI détaille l'association d'un type d'anticorps au cours du suivi en fonction de la présence d'haplotypes particulier.

Les enfants qui ont développé en tant que 1^{er} anticorps, l'anti-GAD (N=65), 29 (44,6%) étaient porteurs de l'haplotype HLA DR4-DQ8 tandis que 34 enfants (52,3%) avaient un haplotype HLA DR3-DQ2. Parmi les 13 enfants qui ont développé l'AAI en tant que 1^{er} anticorps, 7 enfants (53,8%) étaient DR4-DQ8 et 3 (23,1%) étaient porteurs de l'haplotype HLA DR3-DQ2 (p=0,19).

Tableau VI : Développement d'un type d'anticorps en fonction de la présence de l'haplotype HLA DR3 ou DR4.

	Anti-GAD (N=73)	AAI (N=23)	IA2 (N=28)	ICA (N=43)	P value
Haplotype HLA DR3	38 (52,1)	8 (34,8)	13 (46,4)	24 (54,5)	P=0,6
Haplotype HLA DR4	34 (46,6)	12 (52,2)	15 (53,6)	19 (44,2)	

γ) Age à la séroconversion en fonction du nombre d'anticorps développés au cours du suivi

L'âge médian de la séroconversion des enfants qui n'ont présenté qu'un seul anticorps est de 12,2 ans [7,5;15,2] alors qu'il est de 6,6 ans [4,3;10,3] pour les enfants ayant présenté de multiples anticorps (p=0,003).

δ) Comparaison des enfants en fonction de la négativation au cours du suivi

Au cours du suivi, certains enfants ont vu une partie ou la totalité des anticorps se négativer. La négativation d'un anticorps définit le statut transitoire de celui-ci.

Nous avons comparé les enfants présentant, au cours du suivi, au moins un anticorps transitoire avec ceux présentant uniquement des anticorps permanents.

Au total, 48 enfants (50%) ont présenté au moins une fois un anticorps de manière transitoire.

Le tableau VII détaille les caractéristiques des enfants présentant ou non des anticorps transitoire.

La plupart des enfants devenus diabétiques n'avaient pas d'anticorps transitoire au cours du suivi (N=10). Seuls 5 enfants devenus diabétiques ont présenté transitoirement des anticorps au cours du suivi. L'anticorps qui s'est négativé au cours du suivi, était dans 4 cas (80%) l'AAI et dans un cas l'ICA (20%). L'anti-IA-2 était transitoire une fois chez un enfant présentant également transitoirement un AAI. L'anticorps anti-GAD n'était jamais transitoire chez ses patients devenus diabétiques. Ces enfants, au diagnostic du diabète de type 1, présentaient pour 3 d'entre eux l'association anti-GAD+anti-IA-2+ICA, pour 1 l'anti-IA-2+ICA et pour le dernier anti-GAD+ICA.

Tableau VII : Description des enfants présentant des anticorps transitoire ou non

		Anticorps Transitoire (N=48)	Pas d'Ac Transitoire (N=48)	p value
Sexe	Masculin	30 (62,5)	22 (45,8)	0,10
	Féminin	18 (37,5)	26 (54,2)	
Risque HLA	Protecteur/neutre	16 (33,3)	12 (25)	0,026
	Augmenté	24 (50)	16 (33,3)	
	Très augmenté	8 (16,7)	20 (41,7)	
Présence génotype HLA DR 3/4	Absence	44 (91,7)	33 (68,8)	0,004
	Présence	4 (8,3)	15 (31,3)	
Gène DQB1*06:02	Absence	42 (87,5)	47 (97,9)	0,11
	Présence	6 (12,5)	1 (2,1)	
Age à la séroconversion	Médiane [Q1;Q3]	7,5 [4,9;10,4]	13,1 [7,3;15,6]	0,002
Diabète	Présence	5 (10,4)	11 (22,9)	0,10

d) Statut des enfants à la dernière visite :

On s'est intéressé au statut des enfants à la dernière visite. Certains enfants ont vu la totalité de leurs anticorps se négativer à la dernière visite.

Dans notre étude, 31 patients (32,3%) ont eu une séroréversion (c'est-à-dire qu'ils n'ont plus d'anticorps à la dernière visite). Et 65 enfants ont gardé leur séroconversion au cours du suivi (ils sont encore positifs pour au moins 1 anticorps à la dernière visite).

α) Types d'anticorps transitoire :

Aucun des 31 patients ayant une séroréversion n'a développé un diabète. Chez ces 31 enfants, 17 enfants ont exprimé des anti-GAD au cours du suivi et 16 enfants des ICA. Le développement d'anti-IA-2 (N=6) ou d'AAI (N=3) de manière transitoire était moins fréquent chez ces 31 enfants.

Parmi les 65 enfants avec une séroconversion durable (au moins un anticorps positif à la dernière visite), 17 enfants ont eu des négativations pour d'autres anticorps positifs. Ainsi, 7 de ces enfants ont négativé leurs AAI tandis que 6 enfants négativaient les ICA avant la fin du suivi. Les anticorps anti-GAD et anti-IA2 se positivaient de manière transitoire chez 3 de ces enfants.

β) Comparaison des enfants en fonction du statut à la dernière visite :

Le tableau VIII détaille les caractéristiques des enfants en fonction de leur statut d'anticorps à la dernière visite.

Tableau VIII : Description des enfants en fonction de la présence d'anticorps à la fin de l'étude :

		Séroconversion éphémère (N=31)	Séroconversion durable (N=65)	p value
Sexe	Masculin	19 (61,3)	33 (50,8)	0,38
	Féminin	12 (28,7)	32 (49,2)	
Risque HLA	Protecteur/neutre	13 (41,9)	15 (23,1)	0,033
	Augmenté	14 (45,2)	26 (40)	
	Très augmenté	4 (12,9)	24 (36,9)	
Présence génotype HLA DR 3/4	Absence	29 (93,5)	48 (73,8)	0,028
	Présence	2 (6,5)	17 (26,2)	
Gène DQB1*06:02	Absence	25 (80,6)	64 (98,5)	0,004
	Présence	6 (19,4)	1 (1,5)	

Les enfants gardant des anticorps positifs à la fin du suivi étaient plus souvent du génotype HLA DR3/4 et par conséquent une plus faible proportion d'entre eux portait le gène HLA DQB1*0602.

2) Analyse des anticorps au cours du suivi

Nous nous sommes intéressés aux anticorps développés tout au long du suivi. Nous avons étudié la cinétique d'apparition de chaque anticorps et leur devenir au cours du suivi.

a) Cinétique d'apparition des anticorps :

α) Age au développement de chaque anticorps

L'âge médian auquel les enfants développent un anti-GAD est de 9,7 ans [6,40;14,10] et est de 6,8 ans [4,40;12,10] pour l'AAI. L'âge médian pour l'anti-IA2 est de 7,15 ans [4,60;12,30] et de 8,4 ans [5,30;12,50] pour les ICA (p=0,23). Cet âge auquel l'enfant exprime un anti-GAD (Tableau IX) n'est pas significativement modifié par le risque HLA (p=0,28). Il en est de même pour les AAI (p=0,92), les anti-IA2 (p=0,62) et les ICA (p=0,41).

Tableau IX : Age médian [Q1;Q2] au développement d'un type d'anticorps en fonction du risque HLA.

		Age médian au développement de :			
		Anti-GAD	AAI	Anti-IA-2	ICA
Risque HLA	Protecteur/Neutre	8,7 [6,3;13,1]	6,8 [5;7,5]	6,3 [5;7,5]	9,2 [6;14,4]
	Augmenté	9,1 [7,4;13,1]	6,8 [5,5;10]	6,8 [5,7;10,3]	9,1 [6,6;13,1]
	Très Augmenté	13 [5,8;16]	8,5 [3,8;15,6]	12,2 [4,4;16,4]	11,3 [5,3;14]

β) Taux d'incidence de chaque anticorps :

Nous avons analysé les taux d'incidence de chaque anticorps. La figure 3 développe le taux d'incidence de chaque anticorps par tranche d'âge jusqu'à 18 ans.

Figure 3 : Taux d'incidence en fonction de l'âge de la positivité du type d'anticorps

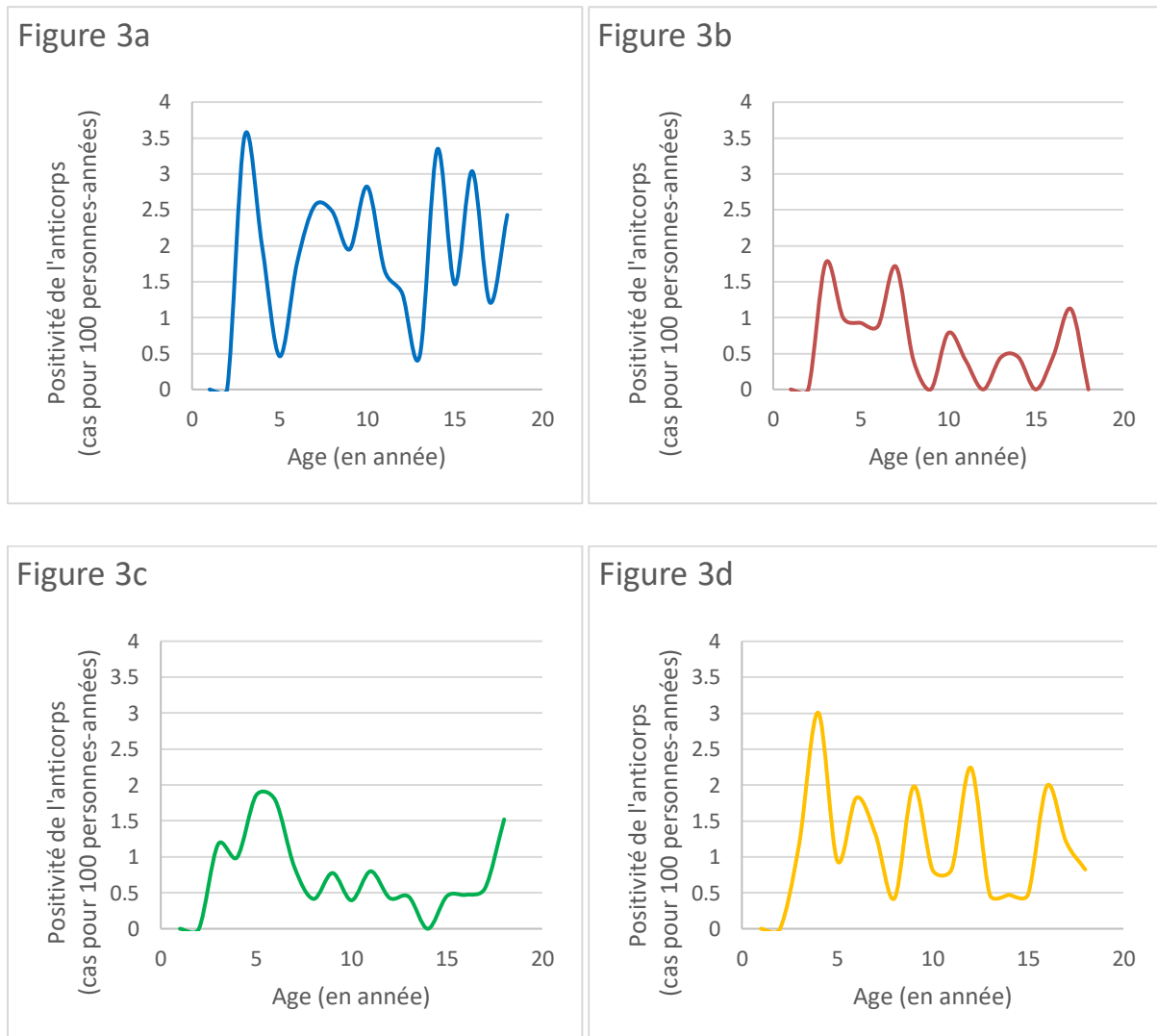


Figure 3a: anticorps anti-GAD; 3b: AAI; 3c: anticorps anti-IA2; 3d: ICA

Le taux d'incidence de l'anticorps anti-GAD est élevé à tout âge, avec un pic à deux ans à plus de 3,4 cas pour 100 personnes-années. L'AAI a surtout un taux d'incidence élevé avant 9 ans avec un taux d'incidence maximum à 1,7 cas pour 100 personnes-années à 2 et 4 ans. Finalement, le taux d'incidence de chaque anticorps est élevé entre 2 et 8 ans.

b) Analyse des anticorps en fonction du caractère transitoire ou permanent

Nous avons étudié chez les patients la cinétique des anticorps. Certains patients « perdaient » leurs anticorps au cours du suivi.

α) Evolution des anticorps chez les patients présentant un unique anticorps à la séroconversion :

Au moment de la séroconversion, 78 enfants ont présenté un seul anticorps, 9 deux anticorps, 7 trois anticorps et 2 quatre anticorps (Tableau III). Parmi les enfants avec un seul anticorps à la séroconversion, 32 (41%) ont eu une négativation de leurs anticorps :

- 25% un anti-GAD transitoire (12 sur les 48 anti-GAD seul)
- 12,5% un AAI transitoire (1 sur les 8 AAI seul)
- 50% un anti-IA-2 transitoire (4 sur les 8 anti-IA-2 seul)
- 93,8% pour l'ICA (15 sur les 16 ICA seul)

Chez ces 32 patients, 7 enfants ont développé un autre anticorps au cours du suivi. Parmi les 25 enfants n'ayant développé qu'un type d'anticorps au cours du suivi et l'ayant négativé, 6 (24%) ont vu leurs anticorps se repositiver, une ou deux fois, au cours du suivi dont 2 encore présents à la dernière visite. L'anticorps anti-GAD s'est repositivé chez 3 enfants dont 2 ont encore des anti-GAD à la dernière visite. L'ICA est redevenu positif chez 3 enfants également.

La durée médiane de positivité de l'anticorps était de 1,5 ans [1;2,3] (mini : 0,2-maxi : 5,4) avec une durée médiane de 2 ans [1,4;4,0] pour les anticorps anti-GAD, de 1,3 ans [0,9;2] pour les ICA et de 1 an [0,9;1,1] pour l'anti-IA-2. La durée de positivité de l'AAI était de 6 mois.

β) Evolution des anticorps chez les patients présentant de multiples anticorps au cours du suivi

Parmi les enfants avec de multiples anticorps positifs à la séroconversion (N=18) ou qui ont développé de multiples anticorps après la séroconversion d'un unique anticorps (N=22), 23 enfants (57,5%) ont eu au moins un anticorps qui s'est négativé. 7 enfants ont négativé leurs anticorps avant d'en développer un autre (5 avaient développé des ICA initialement, 1 l'anti-IA2 et 1 l'AAI). Parmi ces 7 enfants, 5 n'avaient plus d'anticorps à la dernière visite et ont développé transitoirement des anti-GAD pour 3 enfants, une association anti-IA-2+anti-GAD pour 1 enfant et un AAI chez 1 enfant.

Les 16 autres enfants ont négativé un ou des anticorps au cours du suivi mais gardaient au moins un anticorps positif :

- 10,8% ont négativé l'anticorps anti-GAD (4 sur 37 enfants avec un anti-GAD et présentant de multiples anticorps)
- 42,1% l'AAI (8 sur 19 enfants avec AAI et ayant développé de multiples anticorps)
- 21,7% l'anti-IA-2 (5 sur 23 enfants avec un anti-IA2-2 et de multiples anticorps)
- 21,9% l'ICA (7 sur 32 enfants ayant développé l'ICA et de multiples anticorps)

A noté que 3 de ces 16 enfants n'avaient plus d'anticorps à la dernière visite.

γ) Evolution par type d'anticorps au cours du suivi :

Finaleme nt l'anti-GAD s'est négativé chez 20 enfants (27,4%), l'AAI chez 10 enfants (43,5%), l'anti-IA-2 chez 10 enfants (35,7%) et l'ICA chez 22 enfants (51,2%) (Tableau X).L'anticorps ICA est plus souvent transitoire lorsqu'il est le seul à se développer au cours du suivi.

Tableau X : Devenir des anticorps en fonction de leur type et de la présence ou non de multiples anticorps au cours du suivi.

	Transitoire n(%)	Permanent n (%)	p ₁ value ¹	p ₂ value ²
Anti-GAD (N=73)	20 (27,4)	53 (72,6)		0,07
Anticorps unique (N=36)	12 (33,3)	24 (66,7)	0,30	
Multiples anticorps (N=37)	8 (21,6)	29 (78,4)		
AAI (N=23)	10 (43,5)	13 (56,5)		
Anticorps unique (N=4)	0 (0)	4 (100)	0,10	
Multiples anticorps (N=19)	10 (52,6)	9 (47,4)		
Anti-IA-2 (N=28)	10 (35,7)	18 (64,3)		
Anticorps unique (N=5)	3 (60)	2 (40)	0,31	
Multiples anticorps (N=23)	7 (30,4)	16 (69,6)		
ICA (N=43)	22 (51,2)	21 (48,8)		
Anticorps unique (N=11)	10 (90,9)	1 (9,1)	0,004	
Multiples anticorps (N=32)	12 (37,5)	20 (62,5)		

¹ différence entre anticorps unique vs multiples

²différence entre chaque anticorps

La figure 4 détaille la cinétique des anticorps entre ceux qui restent positifs et ceux qui se négativent et combien d'enfants développent un diabète de type 1.

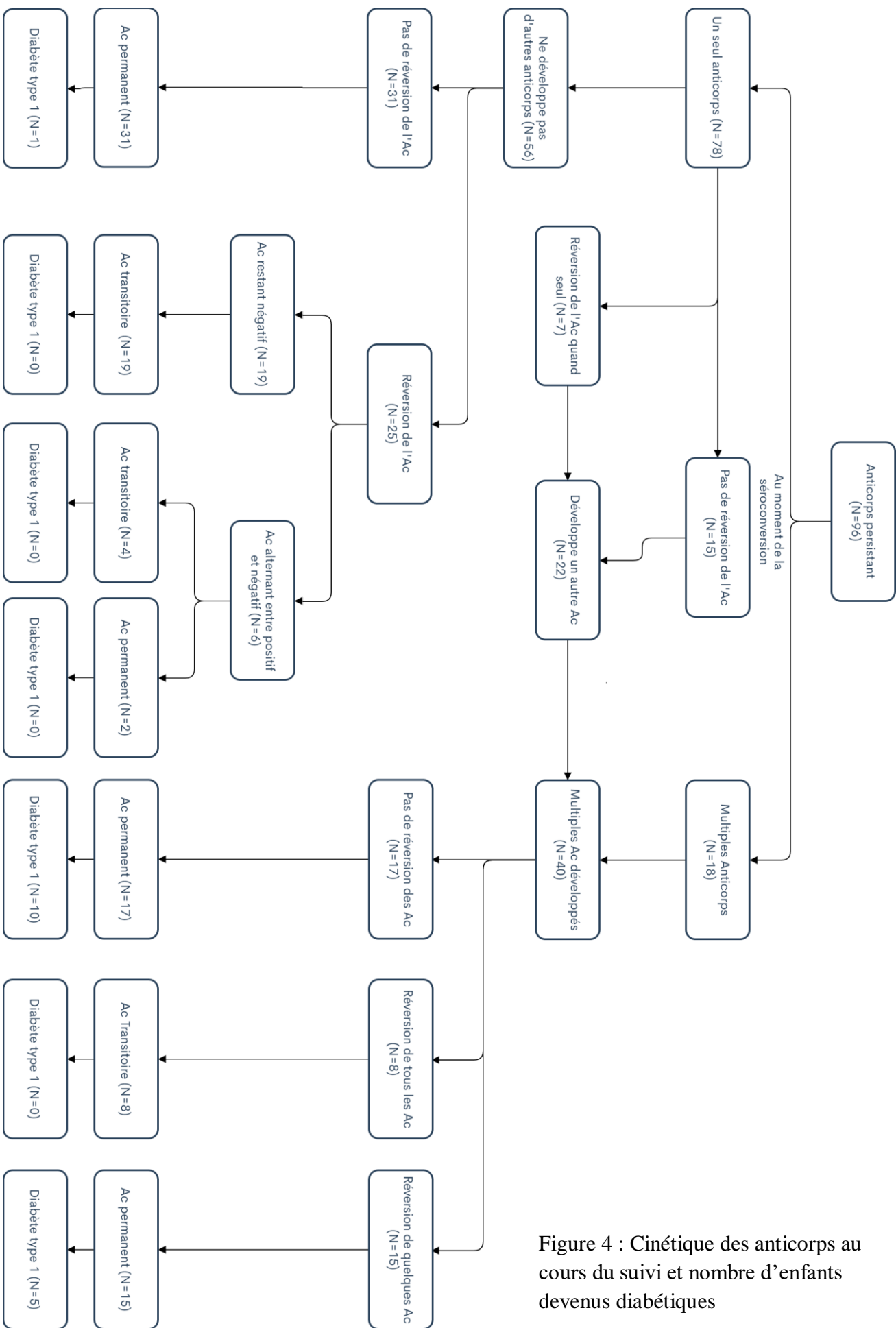


Figure 4 : Cinétique des anticorps au cours du suivi et nombre d'enfants devenus diabétiques

C/Troisième Partie : Risque de devenir diabétique

1) Description des patients devenus diabétiques

Pour rappel, 2,7% des enfants (16 sur 587) de la population générale sont devenus diabétiques de type 1. Ils représentent 16,7% des patients ayant fait une séroconversion.

L'âge médian de découverte de diabète était de 10,4 ans [6,6;13,7].

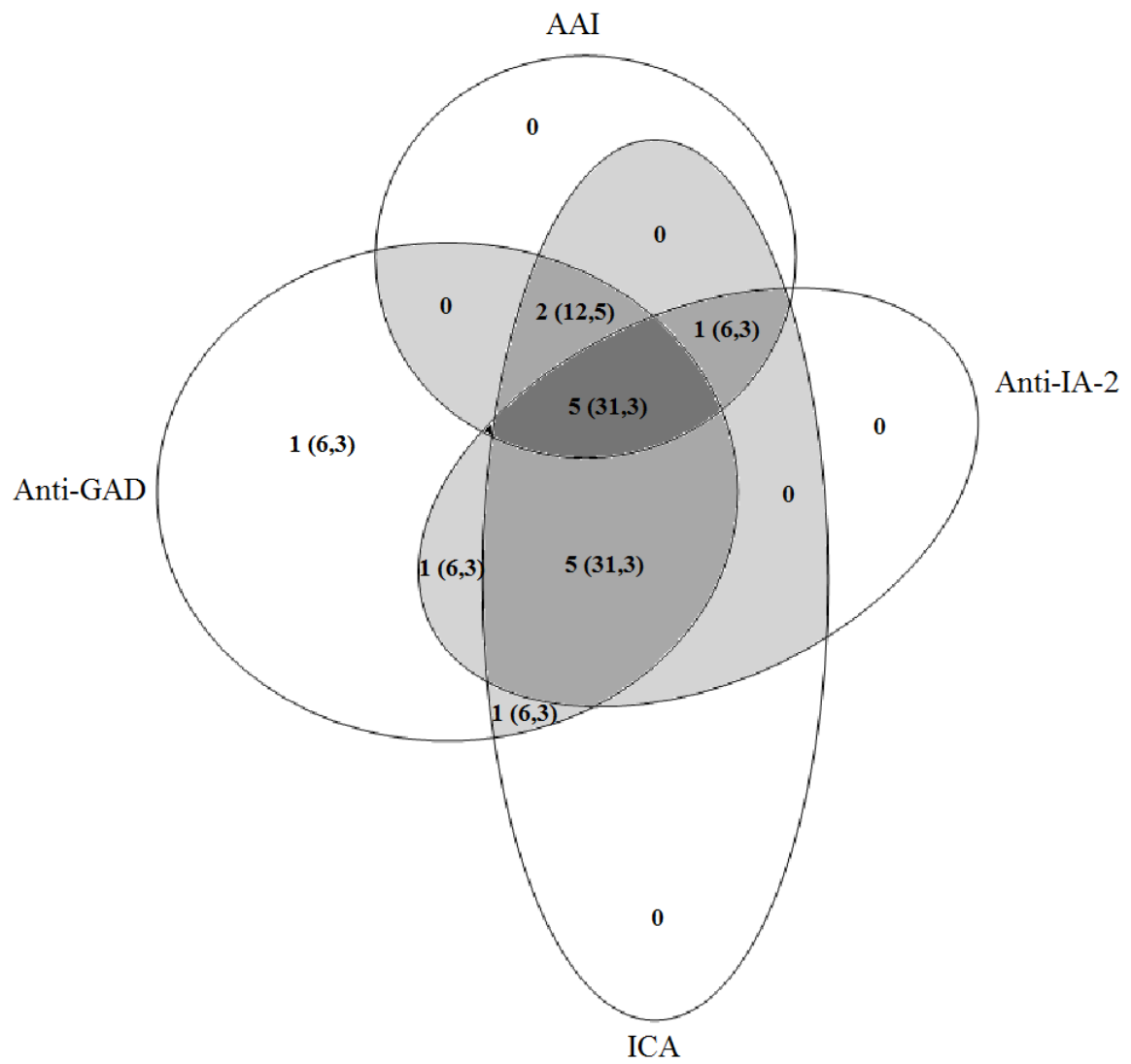
L'âge médian de la séroconversion était de 7,7 ans [4,3;10,6] avec une durée médiane de suivi avant la découverte de diabète pour ces 16 enfants de 2,6 années [1,9;5,8] (Tableau II).

Comme nous l'avons déjà vu, L'âge médian au développement de multiples anticorps chez les 40 enfants ayant développé au moins 2 anticorps est de 8,2 ans [5,6;11,9]. Il est de 8,5 ans [6,1;11,9] pour ceux n'ayant pas progressé vers un diabète et est de 7,5 ans [4,2;11,1] pour ceux devenus diabétiques ($p=0,38$). Le délai médian entre la séroconversion et la présence de multiples anticorps est de 0,4 an [0;1,2]. Il est de 1 an [0;1,8] (minimum : 0 - maximum : 6,5) pour ceux n'étant pas devenus diabétiques et est de 0 an [0;0,2] (minimum : 0 - maximum : 1,5) pour les diabétiques ($p=0,002$).

Parmi les patients qui sont devenus diabétiques ($N=16$), la grande majorité, 15 enfants (93,8%), ont développé de multiples anticorps dont 5 enfants (31,3%) ont présenté les 4 anticorps au cours du suivi et 8 enfants (50%) ont présenté 3 anticorps (Figure 5). Ces 15 enfants devenus diabétiques avec de multiples anticorps représentent 37,5% des enfants ayant développé de multiples anticorps au cours du suivi.

Figure 5 : Profil des anticorps au cours du suivi longitudinal des enfants devenus diabétiques N

(%) :



Le profil des enfants devenus diabétiques est détaillé dans le tableau XI.

Parmi les propositus, dans 4 cas il s'agissait de la mère (soit 2,1% des familles de la population de départ ayant la mère comme propositus), dans 3 cas au moins le père (soit 1,8% des familles dont le propositus est le père) et dans 10 cas au moins un frère ou une sœur était le propositus (4,1% des familles de la population de départ ayant un membre de la fratrie comme propositus).

Il y avait dans la population qui ont développé un diabète de type 1 significativement plus l'haplotype HLA DR3/4 que tout autre haplotype comparativement aux enfants ayant développé une auto-immunité sans diabète (43,8% vs 15% ; $p=0,008$).

Tableau XI : Profil des enfants devenus diabétique au cours du suivi

	Sexe	Propositus	HLA DR	Risque HLA	Age ¹ T0 ²	Age ¹ séro- conversion	Age ¹ DT1	Type 1 ^{er} Ac	Nb Ac ³
Cas 1	F	Frère	3/4	Très augmenté	11,9	11,9	13,5	GAD+ICA	3
Cas 2*	F	Sœur	3/7 ⁴	Augmenté	6,8	6,8	8,6	GAD+AAI+ICA	3
Cas 3*	M	Sœur	3/7 ⁴	Augmenté	2,9	9,1	14,2	GAD	4
Cas 4	M	Mère	3/6	Augmenté	7,1	13,2	22,6	GAD	2
Cas 5	F	Sœur	3/4	Très augmenté	15,2	15,2	23,5	GAD	3
Cas 6	M	Sœur	4/7 ⁵	Augmenté	6,0	6,0	8,4	AAI	4
Cas 7	F	Multiplex ⁸	3/4	Très augmenté	15,8	15,8	17,7	GAD+IA2+ICA	3
Cas 8	M	Sœur	3/4	Très augmenté	4,4	4,4	5,5	GAD+IA2+ICA	3
Cas 9	M	Mère	3/4	Très augmenté	1,7	3,8	4,5	GAD+IA2	2
Cas 10	F	Frère	4/7 ⁶	Augmenté	1,1	2,1	2,1	GAD+AAI+IA2 + ICA	4
Cas 11	M	Père	4/6	Augmenté	3,8	9,7	11,7	GAD+ICA	4
Cas 12	F	Père	3/4	Très augmenté	1,9	2,9	5,9	GAD+ICA	4
Cas 13	M	Frère	4/1	Augmenté	4,8	5,8	6,8	AAI+IA2+ICA	3
Cas 14	F	Mère	4/4	Très augmenté	3,9	3,9	9,0	GAD+ICA	3
Cas 15	M	Mère	3/4	Très augmenté	8,6	8,6	13,3	GAD	1
Cas 16	F	Sœur	4/1 ⁷	Neutre	10,2	10,2	12,1	GAD+IA2+ICA	3

¹Age en année ; ²T0= visite initiale ; ³Nombre d'anticorps développés au cours du suivi

⁴HLA DRB1*03:01-DQA1*05:01-DQB1*02:01/DRB1*07:01-DQA1*02:01-DQB1*02:01

⁵HLA DRB1*04:05-DQA1*03:01-DQB1*03:02/DRB1*07:01-DQA1*02:01-DQB1*02:01

⁶HLA DRB1*04:04-DQA1*03:01-DQB1*03:02/DRB1*07:01-DQA1*02:01-DQB1*02:01

⁷HLA DRB1*04:01-DQA1*03:01-DQB1*03:01/DRB1*01:01-DQA1*01:01-DQB1*05:01

⁸Le père, 2 frères et 1 sœur sont atteints de diabète de type 1

*issus de la même famille

2) Analyse du risque de la population séroconvertis

Le risque global, pour la population séroconvertis, de développer un diabète 5 ans après la séroconversion est de 16,4%.

A noter que le risque 5 ans après la visite initiale dans notre population d'étude (N=587) est de 2,4%, 3,9% à 10 ans et 4,8% à 15 ans.

3) Analyse du risque en fonction des anticorps au moment de la séroconversion

Nous avons étudié le risque de progresser vers un diabète en fonction du nombre et du type d'anticorps à la séroconversion.

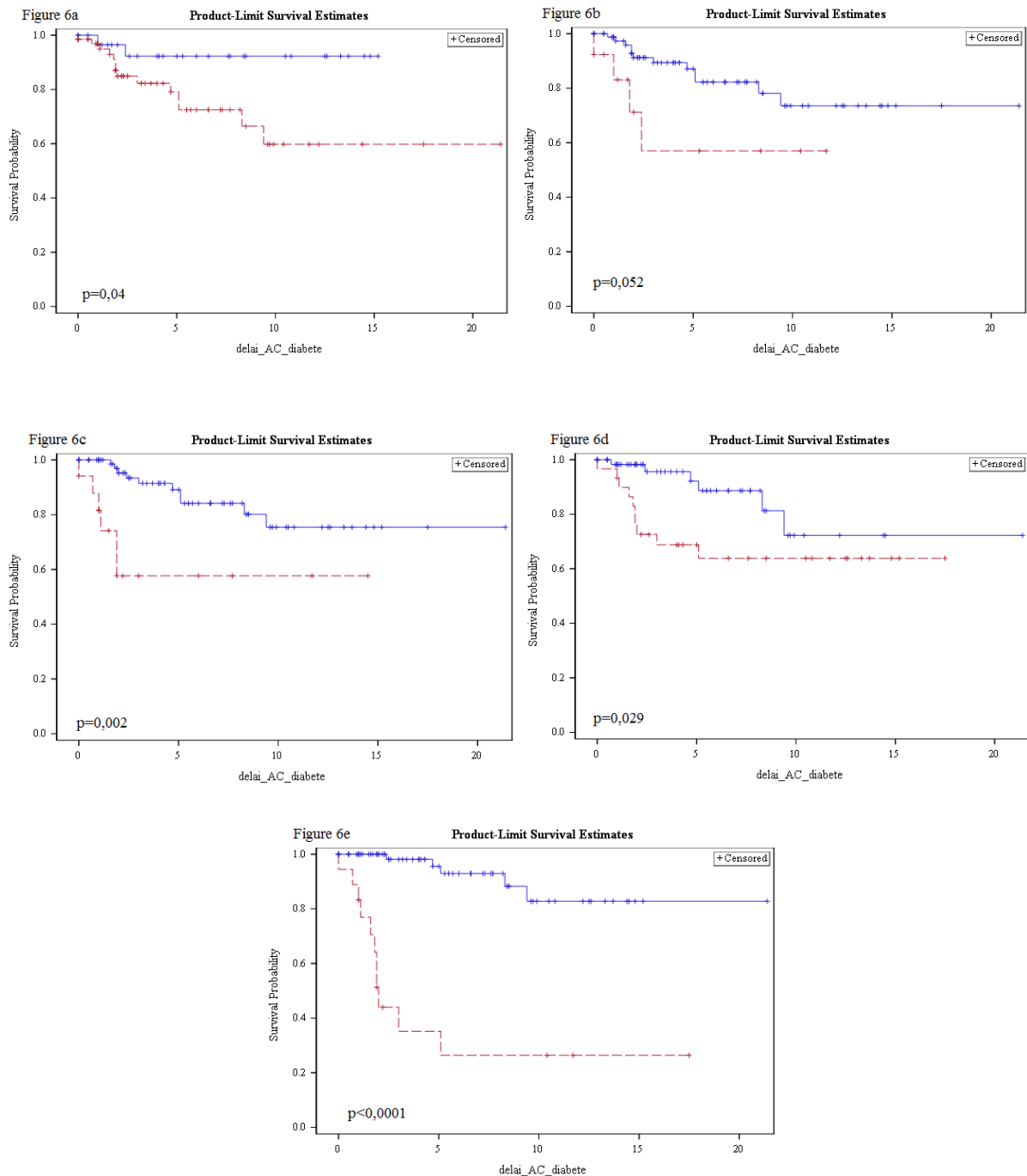
a) Analyse du risque en fonction du type d'anticorps à la séroconversion :

Lorsque l'anticorps anti-GAD est positif au moment de la séroconversion, le risque de progresser à 5 ans vers un diabète est de 20,9% (vs. 7,8% lorsque l'anti-GAD est négatif; $p=0,04$) et est de 43,0% quand l'AAI est positif (vs. 12,9% ; $p=0,052$). Ce risque à 5 ans est de 42,3% quand l'anticorps anti-IA2 est présent en tant que 1^{er} anticorps (vs. 10,9% ; $p=0,002$) et est de 31,2% quand il y a des ICA au moment de la séroconversion (vs. 7,8% ; $p=0,03$).

La figure 6 détaille les courbes de survie en fonction du type d'anticorps au moment de la séroconversion.

L'analyse de survie par le modèle à risque proportionnel de Cox montre que la présence d'anticorps anti-IA2 au moment de la séroconversion augmente le risque de progresser vers un diabète de type 1 d'environ 4,5 fois (hazard ratio [HR] 4,49 [IC 95% 1,61-12,45], $p=0,004$) tandis que les ICA augmentent le risque de presque 3 fois (HR 2,95 [IC 95% 1,07-8,16], $p=0,037$) (Tableau XII).

Figure 6 : Courbes de survie en fonction de la présence de chaque type d'anticorps (anti-GAD, AAI, anti-IA2 et ICA) au moment de la séroconversion

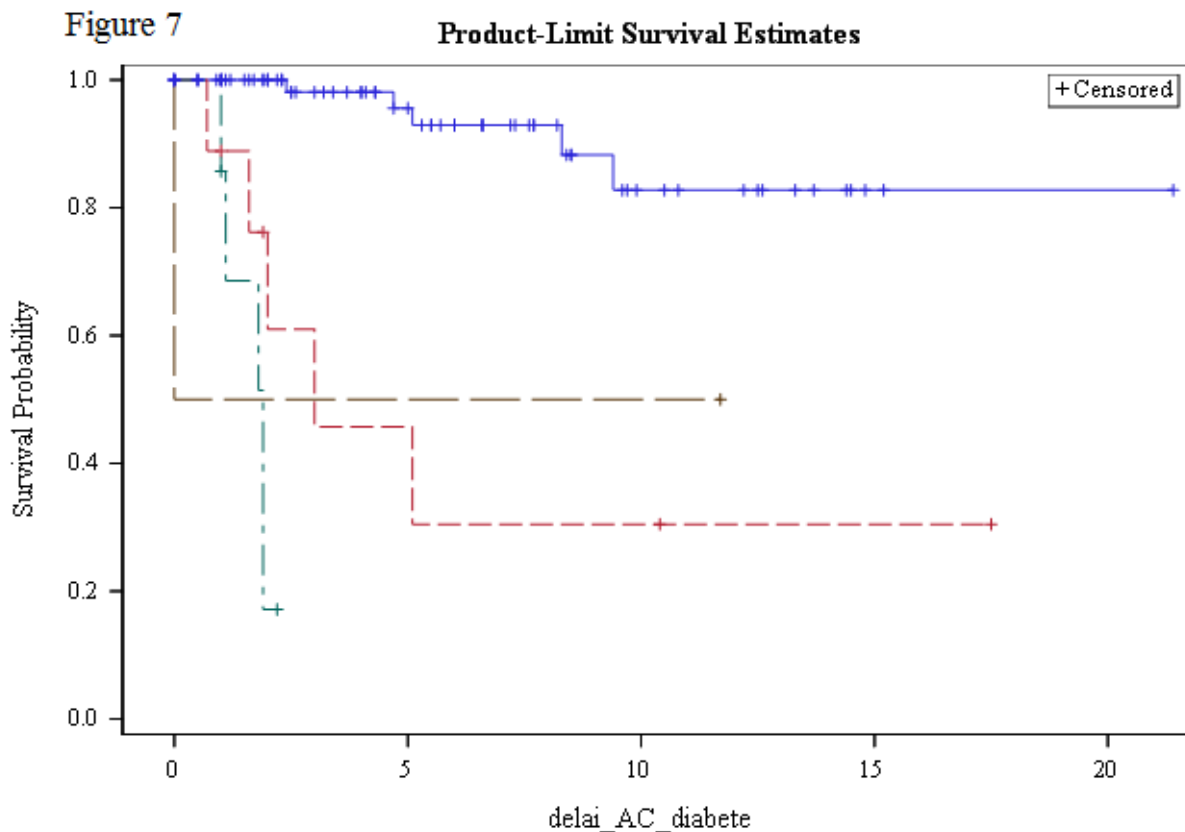


6a : en rouge = présence d'anticorps anti-GAD, en bleu= absence de l'anti-GAD ; 6b : en rouge= présence d'AAI, en bleu=absence d'AAI ; 6c : en rouge=présence de l'anticorps anti-IA2, en bleu=absence d'anti-IA2 ; 6d : en rouge=présence d'ICA, en bleu=absence d'ICA. ; 6e : en rouge= présence de multiples Anticorps, en bleu=un seul anticorps

b) Analyse du risque en fonction du nombre d'anticorps à la séroconversion :

Les analyses des courbes de Kaplan-Meier révèlent que le risque de développer un diabète de type 1 à 5 ans augmente avec le nombre d'anticorps initial. Il est de 4,4%, 54,3%, 82,9% et 50,0 % respectivement pour 1 anticorps, 2 anticorps, 3 anticorps et 4 anticorps au moment de la séroconversion (Figure 7). Le risque à 5 ans de progresser vers un diabète de type 1 est de 64,8% quand on exprime de multiples anticorps au moment de la séroconversion (vs. 4,4% quand on en exprime un seul, $p < 0,0001$) (Figure 6e).

Figure 7 : Courbes de survie en fonction du nombre d'anticorps à la séroconversion :



en bleu : 1 anticorps; en rouge : 2 anticorps; en vert : 3 anticorps; en marron : 4 anticorps

La présence de multiples anticorps au moment de la séroconversion augmente de presque 14,5 fois le risque de développer un diabète de type 1 (Tableau XII).

Tableau XII : Analyse de survie en fonction du nombre ou du type d'anticorps à la séroconversion selon le modèle Cox :

		HR	IC 95%	p value
Type d'anticorps à la séroconversion	Anti-GAD	4,24	0,96-18,74	0,057
	AAI	2,92	0,94-9,09	0,064
	Anti-IA2	4,49	1,62-12,45	0,004
	ICA	2,95	1,07-8,16	0,037
Nombre d'anticorps à la séroconversion	1 Ac vs. \geq 2 Ac	14,46	4,97-42,07	<0,0001

4) Analyse du risque en fonction de la présence d'anticorps au cours du suivi

Nous avons étudié le risque de développer un diabète en fonction du nombre et du type d'anticorps développés au cours du suivi longitudinal.

a) Analyse du risque en fonction du nombre d'anticorps au cours du suivi

L'analyse des courbes de Kaplan-Meier révèle que le risque de progresser vers un diabète à 5 ans augmente avec le nombre d'anticorps et est de 4,2%, 5,3%, 59,6% et 45,1 % respectivement pour 1 anticorps, 2 anticorps, 3 anticorps et 4 anticorps ($p < 0,02$). Le risque à 10 ans est de 4,2%, 17,1%, 84,8%, 58,9% respectivement pour 1 anticorps, 2 anticorps, 3 anticorps et 4 anticorps. Il n'y a pas de différence significative entre les enfants exprimant 1 ou 2 anticorps ($p = 0,27$) ni entre les enfants ayant développé 3 ou 4 anticorps ($p = 0,20$). (Tableau XIII).

Le risque à 5 ans de progresser vers un diabète de type 1 est de 30,3% quand on développe de multiples anticorps (vs 4,2% pour un seul anticorps au cours du suivi ; $p < 10^{-3}$) (Figure 8).

Tableau XIII Combinaison d'anticorps au cours du suivi et risque de développer un diabète à 5 et 10 ans :

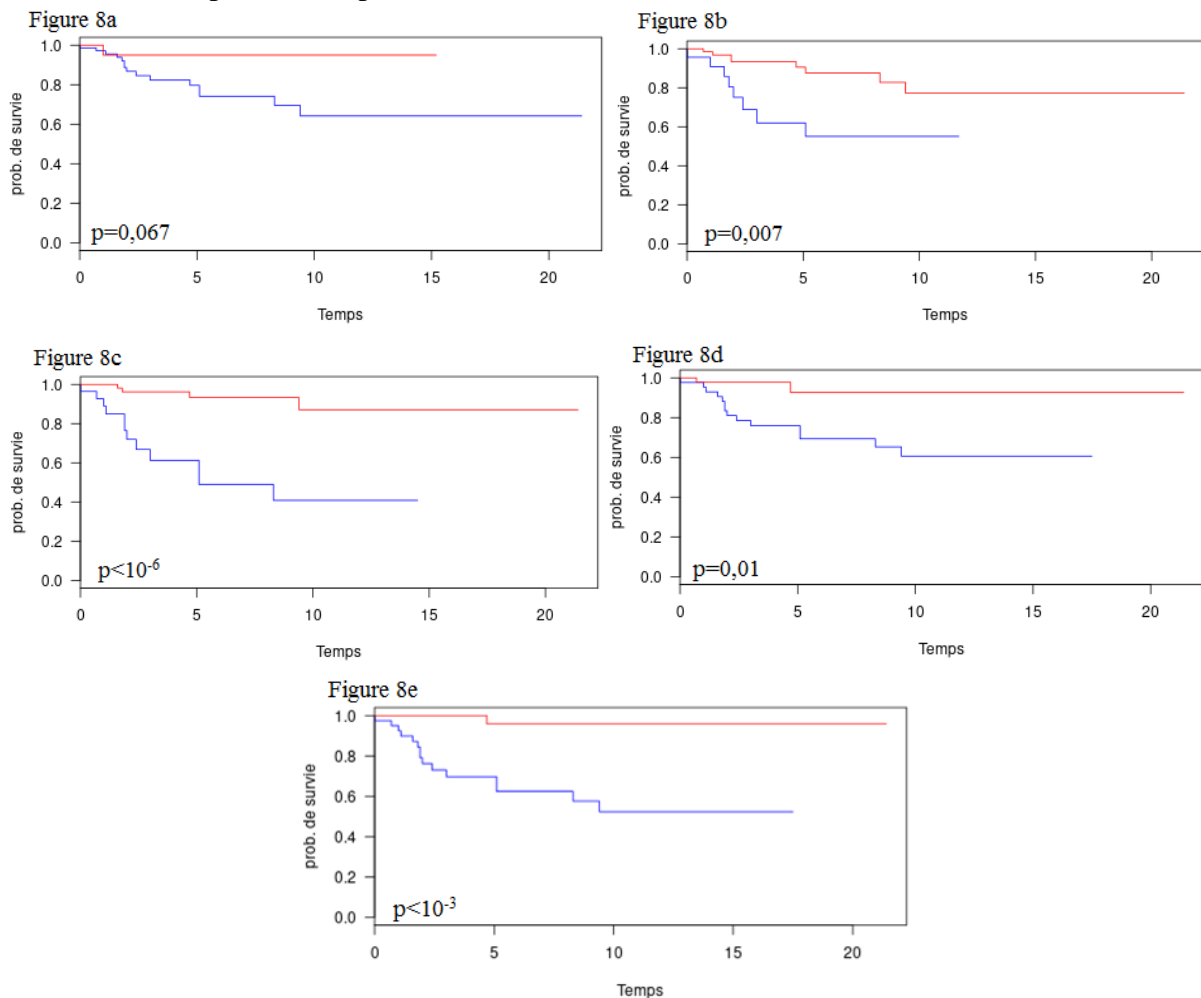
Anticorps au cours du suivi	Nombre	Progression vers diabète n (%)	Risque à 5 ans (%)	Risque à 10 ans (%)
Un seul anticorps	56	1 (1,8)	4,2	4,2
Anti-GAD	36	1 (2,8)		
AAI	4	0 (0)		
Anti-IA2	5	0 (0)		
ICA	11	0 (0)		
Deux anticorps	19	2 (10,5)	5,3	17,1
Anti-GAD et AAI	4	0 (0)		
Anti-GAD et anti-IA-2	4	1 (25)		
Anti-GAD et ICA	9	1 (11,1)		
AAI et ICA	1	0 (0)		
Anti-IA-2 et ICA	1	0 (0)		
Trois anticorps	11	8 (72,7)	59,6	84,8
Anti-GAD, AAI et ICA	3	2 (66,7)		
Anti-GAD, anti-IA-2 et ICA	7	5 (71,4)		
AAI, anti-IA-2 et ICA	1	1 (100)		
Quatre Anticorps	10	5 (50)	45,1	58,9

En retirant de l'analyse la positivité des ICA dans le nombre d'anticorps, le risque de progresser vers un diabète de type 1 à 5 ans est de 3,8%, 41,8% et 45,1% respectivement chez les enfants avec 1 anticorps, 2 anticorps et 3 anticorps ($p < 10^{-6}$, mais pas de différence significative entre 2 et 3 anticorps). Le risque de progresser vers un diabète de type 1 à 5 ans chez les enfants qui présentent deux anticorps ou plus est de 44,4% (vs. 3,8% quand on développe un seul anticorps ; $p < 10^{-6}$), et il passe à 62,9% à 10 ans.

b) Analyse du risque en fonction du type d'anticorps au cours du suivi

La figure 8 détaille les courbes de survie établies avec le modèle de Kaplan-Meier en fonction de la présence d'un type d'anticorps. Le risque de progression à 5 ans quand on développe, au cours du suivi, un anticorps anti-GAD est de 20,3% (vs 5% si on ne le développe pas ; $p=0,07$) et est de 38,0% lorsqu'on développe l'AAI (vs 9,4% quand il n'y a pas d'AAI au cours du suivi ; $p=0,007$). Ce risque de progression à 5 ans est de 38,7% quand on exprime les anticorps anti-IA2 (vs 6,7% quand on en exprime pas ; $p<10^{-6}$) et est de 24,0% pour l'ICA (vs 7,4% pour ceux qui n'ont pas développé d'ICA ; $p=0,01$).

Figure 8 : Courbes de survie en fonction de la présence d'anticorps anti-GAD, AAI, anti-IA2, ICA ou de multiples anticorps



8a : en bleu = présence d'anticorps anti-GAD ; en rouge = absence d'anticorps anti-GAD ; 8b : en bleu = présence d'AAI ; en rouge = absence d'AAI ; 8c : en bleu = présence d'anti-IA2 ; en rouge = absence d'anti-IA2 ; 8d : en bleu = présence d'ICA ; en rouge = absence d'ICA ; 8e : en bleu = présence de multiples anticorps ; en rouge = 1 seul anticorps

c) Analyse du risque en fonction du génotype HLA

Nous avons analysé le risque de progresser vers un diabète en fonction du génotype HLA.

α) En fonction de l'haplotype HLA DR3/4

Il n'y a pas de différence significative dans le risque de progression vers le diabète en fonction du génotype HLA DR3-DQ2/DR4-DQ8 chez les enfants qui présentent 2 anticorps (16,7% vs 0% ; $p=0,14$) ou plus de 3 anticorps (80% vs. 40,2% ; $p=0,09$). Autrement dit, le risque de progression vers un diabète quand on développe au cours du suivi, 2 ou plus, n'est pas significativement modifié par le risque HLA.

L'analyse n'a pas pu être faite avec un seul anticorps. Cependant, le seul enfant devenu diabétique parmi les 56 enfants ayant développé un unique anticorps était du génotype HLA DR3/4. Pour les enfants ayant développé les 4 anticorps au cours du suivi, 1 seul enfant était de génotype HLA DR3/4 et il est devenu diabétique.

β) En fonction du score de risque augmenté et très augmenté

De la même manière, la catégorie de risque HLA « augmenté » ou « très augmenté » ne modifie pas significativement le risque de progresser vers un diabète comparativement à la catégorie « protecteur/neutre » lorsqu'on développe au cours du suivi 1 (6% quand augmenté ou très augmenté vs. 0% quand protecteur/neutre ; $p=0,52$), 2 (6,3% vs. 0% ; $p=0,57$) ou 3 anticorps (61,9% vs. 50% ; $p=0,44$).

Néanmoins, aucun enfant avec un haplotype protecteur ou neutre ayant développé au cours du suivi 1 ou 2 anticorps au cours du suivi n'est devenu diabétique. Le seul enfant devenu diabétique avec un risque neutre et ayant développé 3 anticorps au cours du suivi était le cas 16 et son génotype est HLA DRB1*01:01-DQA1*01:01-DQB1*05:01/DRB1*04:01-DQA1*03:01-DQB1*03:01.

Pour les enfants ayant développé au cours du suivi 4 anticorps (N=10), aucun des 3 enfants appartenant à la catégorie « protection/neutre » n'a développé un diabète alors que 5 enfants

sur les 7 appartenant aux catégories de risque HLA « augmenté » ou « très augmenté » ont développé un diabète de type 1. Le risque à 5 ans de progresser vers un diabète de type 1 est de 73,2% pour le risque HLA « augmenté » et « très augmenté » (vs 0% pour la catégorie protection/neutre, $p = 0,022$).

III/Discussion

La première partie de notre discussion concerne les enfants qui ont eu, au cours du suivi, une séroconversion.

1) Proportion d'enfants ayant développé une auto-immunité :

Sur l'ensemble de notre cohorte de 587 enfants, 16,4% des enfants ont présenté une séroconversion au cours du suivi alors que dans les études de cohorte internationale, la proportion d'enfants développant des anticorps est plus faible. En effet, dans les études BABYDIAB (N=1650) et BABYDIET (N=150) (67), qui s'intéressent exclusivement aux enfants de parents diabétiques de type 1, on ne retrouve qu'environ 9% des enfants ayant développé au moins un anticorps. Dans la cohorte DAISY (N=2547), 11,4% des enfants ayant un apparenté diabétique de type 1 ont développé au moins un anticorps (59). Dans la cohorte TEDDY, 8,9% des enfants ont développé au moins un anticorps persistant. Ceci est expliqué par le recrutement des enfants qui diffèrent entre nos deux études. Dans la cohorte TEDDY (N=8676), 89,6% des enfants sont issus d'une population à haut risque (sur leur génotype HLA) mais sans antécédent familial au premier degré de diabète. Lorsque l'on s'intéresse aux enfants avec un antécédent de diabète de type 1 au 1^{er} degré, 15,5% de ces enfants ont développé une auto-immunité (73). De plus, les enfants exclus dans notre étude (ayant fait qu'une seule visite) ont peut être surestimé cette proportion de patients séroconvertis. En effet, ces enfants exclus n'avaient, pour une grande majorité, pas de marqueur d'auto-immunité et les parents de ces enfants décidaient de ne pas poursuivre les analyses. Néanmoins, dans notre population d'étude, les enfants n'ayant pas développé d'anticorps étaient suivis significativement moins longtemps et il n'est pas exclu que ces enfants soient sortis de l'étude avant d'exprimer un marqueur d'auto-immunité (à noter qu'il n'y avait pas de différence en terme d'âge au moment de la 1^{ère} visite).

2) Génotype HLA et séroconversion :

Dans notre population d'étude, une plus grande proportion d'enfants ayant eu une séroconversion avait un risque « très augmenté ». Ainsi, ces enfants étaient plus fréquemment porteurs des génotypes DR 3/4, DR 4/4 ou DR3/3. Le génotype DR3/DR4 se retrouvait chez 19,8 % des patients ayant développé au moins un anticorps persistant, ce qui confirme les données dans la littérature. Le génotype HLA DR 3/4 est la combinaison HLA de classe II la plus à risque de diabète de type 1. De plus, le génotype DR3/4 et DR4/4 augmente de 5 % le risque d'auto-immunité chez les individus sans histoire familiale de diabète de type 1. Ce risque passe à 20% pour les apparentés de diabétiques de type 1 au 1er degré (191). Ces résultats sont concordants avec la cohorte TEDDY, où une plus grande proportion (51%) d'enfants ayant développé une auto-immunité étaient du génotype HLA DR3/4 comparativement à ceux n'ayant pas eu d'anticorps persistants. La présence du HLA DR3/4 augmente de presque 1,5 fois le risque d'auto-immunité comparé au génotype DR 4/4 dans la cohorte TEDDY (77).

La proportion d'enfants avec des haplotypes protecteurs (porteur de l'haplotypes HLA DRB1*07:01-DQA1*02:01-DQB1*03:03 ou HLA DRB1*14:01-DQA1*01:01-DQB1*05:03 ou HLA DRB1*15:01-DQA1*01:02-DQB1*06:02) était plus importante chez les enfants n'ayant pas développé d'auto-immunité. Néanmoins, il n'y avait pas de différence significative entre nos deux groupes pour l'allèle DQB1*0602.

Dans la littérature (77,192), la présence d'haplotypes HLA DR4 ou DR 3 influence le développement des anticorps. Le développement d'anti-insuline est associé à l'haplotype DR4-DQ8 alors que l'expression d'anti-GAD est souvent associée à l'haplotype HLA DR3-DQ2. Dans notre étude, les enfants qui développent l'anticorps anti-insuline (en tant que 1^{er} anticorps ou non) ont tendance à avoir un haplotype DR4-DQ8 alors que ceux développant un anti-GAD (en tant que 1^{er} anticorps ou non) semblent être plutôt porteurs d'un haplotype DR3-DQ2. L'absence de différence significative dans ces 2 groupes peut être lié au fait que généralement

l'anticorps anti-insuline apparaît vers l'âge d'un an alors que dans notre étude les enfants étaient inclus plus tardivement. Ainsi, dans notre étude, seulement 5,2% ont présenté des AAI seuls (+/-ICA), 46,9% des anti-GAD seuls (+/-ICA) et 7,2% enfants ont présenté l'association AAI et anti-GAD (+/-ICA) alors que l'analyse des enfants jusqu'à l'âge de 6 ans de la cohorte TEDDY retrouvait 43,7% des enfants présentant des AAI seuls, 37,7% des anti-GAD seuls et 13,8% l'association AAI et anti-GAD.

3) Cinétique de la séroconversion:

Dans la plupart des études, l'âge médian à la séroconversion varie entre 2 et 7 ans en fonction de la présence d'un ou plusieurs anticorps au cours du suivi. Les enfants développant de multiples anticorps expriment leur 1^{er} anticorps plus précocement, vers l'âge de 2 ans (2,1 ans [1,1;5,0] pour BABYDIAB, 3,1 ans [1,6;5,4] pour DAISY et 2,0 ans [1,3;4,0] pour DIPP). Pour les enfants ne développant qu'un seul anticorps, l'âge médian à la séroconversion se situe vers 5 ans (7,3 ans [3,3;9,8] pour BABYDIAB, 5,4 ans [2,6;9,2] pour DAISY et 3,9 ans [2,0;6,5] pour DIPP)(43).

Dans notre étude, l'âge médian au 1^{er} anticorps positif est de 9,2 ans. Cette différence peut être expliquée par l'âge plus tardif à la première visite (médiane à 5,9 ans) dans notre étude. Néanmoins, il existe une différence significative en termes d'âge à la séroconversion en fonction du nombre d'anticorps qu'ils développent au cours du suivi. Les enfants qui développent de multiples anticorps sont plus jeunes (âge médian 6,6 ans à la séroconversion) que ceux ne développant qu'un unique anticorps (âge médian 12,2 ans).

Pour les enfants développant précocement des auto-anticorps, les études précédentes décrivent 2 profils de séroconversion qu'il est difficile de retrouver dans notre étude. Le premier profil décrit les enfants qui développent l'AAI en tant que premier anticorps avec pic d'incidence autour de l'âge de 1 an puis l'incidence diminue drastiquement par la suite. Ces enfants sont

généralement porteurs d'une ou de deux copies d'haplotypes HLA DR4-DQ8. Ce profil est sans doute sous-estimé dans notre étude. Le deuxième profil se rapporte aux enfants qui développent des anticorps anti-GAD en tant que 1^{er} anticorps dont l'incidence augmente vers l'âge de 2 ans puis reste stable jusqu'à l'âge de 6 ans. Ces enfants sont généralement associés à un haplotype HLA DR3-DQ2. Ce deuxième profil pourrait correspondre aux enfants qui développent entre 2 et 8 ans des anticorps anti-GAD et dont le taux d'incidence de ces anticorps est relativement élevé sur cette période.

Dans l'étude DAISY (59), un autre profil d'enfant est décrit. Il s'agit d'enfants développant leur auto-immunité après l'âge de 8 ans. Chez les apparentés de diabétiques de type 1, ils rapportent deux pics d'incidence de la séroconversion, entre 2 et 6 ans et un plus tardivement vers 11 ans. Dans cette étude, les enfants exprimant les marqueurs d'auto-immunité après l'âge de 8 ans avaient plus souvent un de leurs parents atteint de diabète de type 1 plutôt qu'un membre de la fratrie. Ils développaient plus souvent au moment de la séroconversion un anticorps anti-GAD plutôt que l'AAI. Leurs anticorps étaient plus souvent transitoires et ils progressaient moins souvent vers de multiples anticorps comparativement aux enfants présentant un début d'auto-immunité avant 8 ans. Cependant, aucune différence en termes de génotype HLA n'a été rapporté. Dans notre étude, on retrouve sensiblement les mêmes données, il ne semble pas y avoir de différence entre les deux groupes en terme de génotype même si on retrouve significativement plus d'enfants porteurs de l'haplotype HLA DR3-DQ2 dans le groupe qui développe tardivement une auto-immunité. En terme d'anticorps, les enfants développant leur auto-immunité tardivement expriment significativement plus volontiers l'anti-GAD que l'AAI et ils progressent significativement moins vers de multiples anticorps au cours du suivi. En revanche, on ne note pas de différence significative entre les deux groupes pour les séroconversions durables ou éphémères.

Dans l'étude TEDDY (193) ou BABYDIAB (67) les enfants porteurs de l'haplotype à risque HLA DR3/4(-DQ8) ou DR4-DQ8/DR4-DQ8 développent plus précocement, entre l'âge de 6 mois et 9 mois, leur auto-immunité. Dans notre étude, où aucune séroconversion n'a eu lieu avant l'âge de deux ans, ni le risque HLA ni le génotype HLA DR3/4 ou DR4/4 ne modifie l'âge à la séroconversion quelque soit l'anticorps. De même l'âge d'apparition de chaque anticorps n'est pas modifié par le risque HLA.

Sur les 96 enfants ayant présenté de manière transitoire ou permanente des anticorps, 56 ont présenté un seul anticorps. Un total de 40 enfants a donc développé de multiples anticorps au cours du suivi. L'âge médian au développement de multiples anticorps est de 8,2 ans, moins de 2 ans après la séroconversion. Dans les études précédentes, le délai entre la séroconversion et l'extension de multiples anticorps est inférieure à 2 ans et est moins fréquente 4 ans après la séroconversion. L'âge au développement de multiples anticorps se situe préférentiellement avant l'âge de 5 ans (67). Dans notre étude, malgré un âge plus tardif à la séroconversion, les enfants développent rapidement de multiples anticorps après la séroconversion. Ce délai est court et est probablement surestimé par les 12 patients qui, dès la visite initiale, présentaient de multiples anticorps. Ceci pourrait contrebalancer les délais un peu plus long obtenus dans l'étude TEDDY lorsque les enfants développaient comme 1^{er} anticorps l'anti-GAD (principal anticorps développé au moment de la séroconversion dans notre étude) comparés à ceux ayant l'AAI au moment de la séroconversion. Les enfants devenus diabétiques développent bien plus rapidement de multiples anticorps que les autres.

Deux profils peuvent être séparés. Le premier dont les enfants développent un unique anticorps et dont l'auto-immunité se propage ensuite vers d'autres antigènes. Le deuxième dont les enfants ont déjà de multiples anticorps dès la première analyse suggérant soit une propagation rapide de la réponse immunitaire d'un antigène à l'autre, soit une activation simultanée de la réponse auto-immune à de multiples antigènes. Ceci tend à montrer le processus dynamique de

la réponse auto-immune qui se propage et augmente rapidement chez les uns, plus lentement chez d'autres voire décline pour certains.

4) Impact des anticorps transitoire :

Pour rappel, nous avons défini le caractère transitoire d'un anticorps lorsque celui-ci se négativait au cours du suivi.

Dans notre étude, 50% des patients séroconvertis ont présenté au moins une fois des anticorps transitoires. Les enfants qui ne présentaient pas d'anticorps transitoire étaient significativement plus souvent du génotype HLA DR3/4 et avaient un âge à la séroconversion plus tardif. L'anti-GAD est transitoire chez 27,4% des enfants et chez 35,7% pour l'anti-IA-2. L'AAI est transitoire chez 43,5% des enfants qui l'expriment. Il semble être exclusivement transitoire chez les enfants développant de multiples anticorps au cours du suivi. Pour l'ICA, il est transitoire chez de nombreux enfants (51,2%) et il se négative significativement plus fréquemment chez les enfants ne développant pas d'autres anticorps. Dans l'étude TEDDY (194), l'analyse des enfants jusqu'à l'âge d'au moins 10 ans rapporte que 34,6% des enfants ont développé transitoirement des anticorps au cours du suivi. L'anti-GAD est transitoire chez environ 19% des enfants. L'AAI est transitoire chez plus de 47% des enfants et l'anti-IA-2 autour de 3,2%. La différence entre nos deux études peut être expliquée en partie par l'âge des enfants dans l'étude. Dans la cohorte TEDDY, tous les enfants ont moins de 10 ans et n'ont peut-être pas eu le temps de négativer encore leurs anticorps.

Dans notre étude, à la dernière visite, 32,3% des enfants séroconvertis ont négativé tous leurs anticorps. Dans l'étude DIPP ou DAISY, presque la moitié des enfants (46% pour DIPP (49) et 44,6% pour DAISY (195) parmi lesquels, 44% ont présenté des anticorps à de multiples occasions) n'avaient plus d'anticorps à la dernière visite. Cette perte d'anticorps survient préférentiellement chez les enfants n'exprimant qu'un seul anticorps. Dans l'étude TEDDY, 24% des enfants n'exprimant qu'un anticorps ont négativé leur anticorps et généralement dans

l'année suivant la séroconversion. Dans notre étude, 41% des enfants présentant un seul anticorps à la séroconversion le négative. Cette plus grande proportion peut être liée au dosage de l'ICA dans notre étude. Si on fait abstraction d'ICA, la proportion d'enfants négativant leur anticorps diminue à 27,4% (17 enfants sur 62 présentant un seul anticorps à la séroconversion). Dans les études DIPP et DAISY, la proportion d'enfants perdant leur unique anticorps est respectivement de 16% et 20%. Dans notre étude, la durée médiane de positivité de cet anticorps transitoire est un peu plus longue et est de 1,5 an. Dans l'étude TEDDY, les enfants présentant de multiples anticorps perdent moins souvent la totalité de leurs anticorps. Seul 1,2% des enfants présentant 2 anticorps au cours du suivi deviennent complètement négatifs et cette proportion atteint les 0,5% quand 3 anticorps sont présents. Dans notre étude, en écartant les ICA, la proportion d'enfants n'exprimant plus d'anticorps, alors qu'ils en ont présenté 2, est de 15,8% (3 sur 19 enfants) et est de 11,1% (1 sur 9 enfants) pour ceux qui ont présenté 3 anticorps.

Nous avons montré que les enfants présentant une séroconversion éphémère étaient plus souvent porteur du génotype HLA offrant une protection (ou un génotype HLA neutre). Il y avait également significativement plus l'allèle DQB1*06:02 chez ces sujets (19,4 % vs. 1,5%, $p=0,004$). En revanche, les enfants porteurs du génotype HLA DR3/4 ont plus souvent des anticorps permanents. *Yu et al.* (196) ont étudié les anticorps transitoires chez 1277 enfants dont 478 apparentés de diabétiques de type 1. Dans la population d'enfants apparentés, 36 (7,5%) enfants ont eu une séroconversion. Parmi ces enfants, 8 enfants (22,2%) ont développé des anticorps transitoires. Aucun de ces enfants n'était porteur du génotype HLA DR3/4. De même, dans la cohorte DAISY, le développement d'anticorps permanent est lié de façon significative au génotype HLA DR3-DQ2/DR4-DQ8 que ce soit pour les apparentés ou dans la population générale.

En conclusion, il existe dans la littérature peu de données sur les anticorps transitoires. L'expression transitoire d'auto-anticorps dans l'enfance peut être associée à un retour d'anticorps

positifs à l'âge adulte, ou au développement du diabète à l'âge adulte en raison principalement de défauts cellulaires. Approfondir les connaissances sur les anticorps transitoires permettrait ainsi d'identifier les facteurs qui inversent le processus auto-immun. Les études ont suggéré que ces anticorps transitoires pourraient être liés à des erreurs de dosage, à une anomalie transitoire de la cellule β mais aussi à l'exposition in utéro des anticorps maternels. Dans notre étude, l'avantage d'avoir une population d'enfants plus âgée à la visite initiale permet de s'affranchir du risque de doser les anticorps maternels chez les nouveau-nés. La présence des anticorps maternels est détecté jusque l'âge de 6 mois chez le nouveau-né (197,198). La présence de ces anticorps peut influencer les résultats des études qui ont débuté un suivi dès la naissance.

La seconde partie de notre discussion est centrée sur le risque de devenir diabétique au cours du suivi longitudinal.

1) Proportions d'enfants devenus diabétiques :

Dans notre étude, 2,7% des enfants sont devenus diabétiques. Dans l'étude de Yamamoto prenant en compte une cohorte française de 234 enfants frères ou sœurs de diabétiques de type 1, 5,1% sont devenus diabétiques (199). Cette différence peut être expliquée par le fait que dans cette étude, les *propositus* étaient exclusivement des membres de la fratrie. La proportion de sujets diabétiques de notre étude semble être un peu plus faible que les études de cohorte internationale qui s'intéressent aux apparentés diabétiques de type 1. Dans l'étude BABYDIAB et BABYDIET(67), 3,4% des enfants ont développé un diabète de type 1. Dans le sous-groupe (enfants ayant une histoire familiale de diabète de type 1 au 1^{er} degré) de la cohorte DAISY (59), il y a 4,2% de ces enfants qui sont devenus diabétiques. Cette proportion atteint les 9,3% dans la cohorte TEDDY(73). Les principales différences sont, au-delà de la situation géographique des patients inclus, d'ordre méthodologique. En effet, ces études incluent des enfants dès la naissance alors que dans notre étude, l'âge médian de la première visite était de 6,3 ans et 75% des enfants avaient plus de 2,6 ans. Ceci privant notre étude d'enfants devenus précocement diabétiques. D'autre part, notre étude n'inclut que les patients ayant fait au moins deux visites et excluant ainsi 3 enfants ayant été diagnostiqués diabétique dans les 6 premiers mois suivant la première visite. Enfin, pour TEDDY, les enfants apparentés de diabétiques de type 1 avaient un génotype à risque ce qui peut expliquer le nombre élevé d'enfants devenus diabétiques dans cette population.

De manière surprenante, dans notre étude, alors que le nombre de famille avec comme *propositus* uniquement la mère, uniquement le père ou un uniquement membre de la fratrie était similaire, le nombre d'enfants devenus diabétiques dont le *propositus* était la mère (4 enfants soit 25%) était proche du nombre d'enfants devenus diabétiques avec le père comme *propositus*

(2 enfants soit 12,5%). Le nombre d'enfants avec comme propositus un membre de la fratrie était supérieur (9 enfants soit 56,3%). Seul un enfant devenu diabétique était issu d'une famille multiplex (6,3%). Dans la littérature (200,201), les enfants avec une histoire familiale de diabète de type 1 ont plus souvent un père comme propositus (48,7%) qu'une mère (27,1%) ou qu'un membre de la fratrie (18,3%). Seuls 5,8% des enfants nouvellement diagnostiqués sont issus de familles mutlipex. Cette différence peut être expliquée par l'âge médian à la découverte du diabète. Dans cette étude finlandaise, l'âge médian chez les enfants avec un père ou une mère diabétiques est respectivement de 7,59 ans et 6,74 ans alors qu'il est de 10,73 ans pour les enfants avec une sœur ou un frère atteint ($p < 0,001$). Dans notre étude, notre population est plus âgée à la visite initiale, sous-estimant probablement la proportion d'enfants avec une mère ou un père diabétique.

2) Risque de devenir diabétique en fonction des anticorps à la séroconversion :

Dans notre étude, le risque de devenir diabétique dépend du type mais surtout du nombre d'anticorps présents au moment de la séroconversion. Les anticorps anti-IA2, ICA et anti-GAD, lorsqu'ils sont présents au moment de la séroconversion, confèrent un risque significativement augmenté de progression vers un diabète de type 1. Ils sont respectivement de 42,3%, 31,2% et 20,9% à 5 ans. Pour l'AAI, sa présence au moment de la séroconversion semble augmenter le risque de 43%. Nous n'avons pas atteint la significativité en raison de l'âge tardif à la première visite pour notre cohorte. En effet, l'AAI a un pic d'incidence vers l'âge de 9 mois-1 an et il existe donc probablement des enfants dont la séroconversion à l'AAI a dû être sous-estimée.

La présence au moment de la séroconversion de l'anticorps anti-IA2 ou de l'ICA augmente respectivement de presque 4,5 fois (HR 4,49 [1,62-12,45]) et de presque 3 fois (HR 2,95 [1,07-8,16]) le risque de devenir diabétique. Néanmoins, lorsque ces deux anticorps sont les seuls présents à la séroconversion, aucun enfant ne progresse vers un diabète. C'est donc l'association avec d'autres anticorps qui augmente leurs risques. En effet, le risque de développer un diabète

augmente avec le nombre d'anticorps à la séroconversion et le fait d'avoir de multiples anticorps au moment de la séroconversion augmente le risque de devenir diabétique de 14,5 fois (HR 14,46 [4,97-42,07]).

Nous pouvons émettre le postulat que le type d'anticorps au moment de la séroconversion importe peu dans notre étude et c'est principalement le nombre d'anticorps qui augmente le plus le risque, au moins dans notre étude.

3) Risque de devenir diabétique en fonction du nombre d'anticorps au cours du suivi :

Dans notre étude, le risque de progresser vers un diabète dépend du nombre d'anticorps développé au cours du suivi. Ce risque de développer un diabète à 5 ans atteint les 84,9% lorsqu'on développe 3 anticorps.

Dans les autres études, le dosage des ICA n'est généralement pas effectué et le risque à 5 ans de développer un diabète augmente avec le nombre d'anticorps. Quand un seul anticorps est positif au cours du suivi, le risque à 5 ans est de 11% dans l'étude TEDDY (75). Ce risque à 5 ans passe à 36% quand on développe 2 anticorps et à 47% quand il y a 3 anticorps au cours du suivi (sans qu'il n'y ait de différence significative entre 2 et 3 anticorps). Nous obtenons des résultats similaires dans notre cohorte avec un risque à 5 ans à 3,8%, 41,% et 45,1% pour, respectivement, 1, 2 et 3 anticorps (sans prendre en compte l'ICA). Le risque de développer un diabète est significativement augmenté quand les enfants développent de multiples anticorps (44,4% vs. 3,8% à 5 ans et 62,9% vs. 12,6% à 10 ans). Ces résultats sont concordants avec la méta-analyse regroupant les données de DIPP, DAISY et BABYDIAB (43) qui retrouve un risque à 10 ans de développer un diabète à 69,7% (43,5% à 5 ans) quand il y a de multiples anticorps, contre 14,5% à 10 ans quand un unique anticorps est développé dans le suivi. Le risque dans notre étude s'approche d'ailleurs plus du risque de l'étude BABYDIAB qui ne s'intéresse exclusivement qu'à des apparentés de diabétiques de type 1 alors que l'étude DAISY

et DIPP inclus des patients de la population générale présentant un risque HLA augmenté. Ainsi le risque à 10 ans de développer un diabète dans l'étude BABYDIAB est à 61,7% quand plusieurs anticorps sont présents au cours du suivi (vs. 14,7% pour un seul anticorps au cours du suivi). Ce risque à 10 ans est à 70,8% pour la cohorte DAISY (vs.17,7% pour un seul anticorps) et à 71% pour l'étude DIPP (vs. 13,3% pour un seul anticorps). Nos résultats sont similaires avec les études antérieures réalisées chez les enfants ayant un HLA prédisposant au diabète. Pour rappel, le risque de progression vers le diabète, lorsque de multiples anticorps étaient présents, est estimé à 44% à 5 ans (44,4% dans notre étude) et 70% à 10 ans (62,9% dans notre étude). Le risque à vie approcherait 100% (44). La progression vers le diabète semblerait être inéluctable dès lors que l'on développe de multiples anticorps. Néanmoins, le temps entre la séroconversion et le diagnostic de diabète de type 1 varie énormément d'un individu à l'autre et les facteurs influençant la progression vers le diabète de type 1 ne sont pas encore entièrement élucidés. Le taux de progression vers le diagnostic clinique du diabète de type 1 ne dépendrait pas uniquement du nombre d'anticorps développés au cours du suivi.

4) Risque de développer un diabète de type 1 en fonction de l'âge à la séroconversion, du génotype HLA, du type d'anticorps, de leurs taux et affinités.

Dans notre étude, il semblerait que les enfants ayant progressé vers un diabète ont eu une séroconversion un peu plus jeune, entre 7 et 8 ans. Ce qui n'est pas le cas dans les autres cohortes existantes. Dans la cohorte TEDDY, les enfants développent très précocement leurs auto-anticorps, l'âge médian est à 1,3 an. Des progressions rapides vers un diabète sont généralement retrouvées chez des enfants ayant fait une séroconversion précoce (avant 3 ans). De plus, dans l'étude TEDDY, les enfants devenus diabétiques développaient plus précocement de multiples anticorps que ceux ne devenant pas diabétiques. Dans notre étude, aucune différence en termes d'âge au développement de multiples anticorps n'est retrouvée entre diabétique et non-diabétique (202).

Alors que de nombreuses études montraient l'impact du génotype HLA DR3-DQ2/DR4-DQ8 sur le développement du diabète de type 1 chez les enfants exprimant de multiples anticorps. (43,61,203), dans notre étude, tout comme dans l'étude TEDDY, l'haplotype HLA DR3/4 ne modifie pas le risque de progresser vers un diabète dès lors que les anticorps sont déjà exprimés. Cependant, dans notre étude, les enfants ayant un génotype HLA DR3/4 semblent développer leur auto-anticorps plus tardivement que ce que les autres études suggèrent. Dans les autres études, des séroconversions très précoces sont couramment observées chez les enfants présentant un génotype HLA DR3/4 (67,193,204). Ainsi, probablement que dans notre étude, où les enfants sont plutôt déjà âgés à la visite initiale, il existe deux éléments qui peuvent modifier l'âge à la séroconversion chez ces enfants les plus à risque. La première hypothèse est qu'il existe probablement de nombreux enfants dans notre étude qui ont développé des anticorps avant leur visite initiale, notamment les AAI qui apparaissent précocement mais ne perdurent pas dans le temps, reculant ainsi artificiellement l'âge à la séroconversion des enfants. La seconde hypothèse serait que les enfants présentant un HLA DR3/4 développent non seulement des anticorps précocement mais progressent également rapidement vers le stade clinique de la maladie, augmentant le nombre d'enfants avec un génotype HLA DR3/4 ayant déclenché un diabète avant la visite initiale. Ceci tendrait à diminuer la proportion d'enfants avec ce génotype à risque dans notre étude, impactant probablement le rôle du HLA dans le risque de survenu du diabète.

En revanche, aucun enfant présentant l'allèle DQB1*06:02 n'a présenté de diabète dans notre étude, confirmant le rôle protecteur de cette allèle, comme cela a été démontré dans la littérature (190,205).

La présence d'AAI ou d'anticorps anti-IA2 augmente d'environ 38% le risque à 5 ans de développer un diabète de type 1. Pour les anticorps anti-GAD et les ICA, ce risque est plus faible et est respectivement d'environ 20% et 24% (pas de différence significative). Dans les

autres études, c'est surtout les taux élevés d'anticorps anti-IA-2 et d'AAI qui augmentent le plus le risque. Malheureusement, dans notre étude, nous n'avons pas pu analyser les taux des différents anticorps en partie en raison du changement des techniques de dosage au cours du suivi. D'autres études se sont également intéressées au degré d'affinité des anticorps. Les anticorps ayant une grande affinité pour leur antigène seraient des marqueurs associés à la progression vers le diabète. De nouvelles méthodes sont actuellement en cours d'étude pour détecter ces anticorps de grande affinité (44).

Cette étude longitudinale met en évidence des résultats intéressants en complément des données déjà existantes de la littérature. Néanmoins elle comporte des forces et des faiblesses.

Une des forces de notre étude est le suivi longitudinal offert à chaque enfant. En effet, les enfants sont suivis pendant de nombreuses années. Ceci permet en outre, de suivre au mieux la cinétique des anticorps et de diagnostiquer un diabète longtemps après la séroconversion.

Notre étude porte sur une cohorte dont la population présente un profil très hétérogène, tant par l'âge à la 1^{ère} visite et à la séroconversion que par la durée de suivi et l'âge à la découverte du diabète. Certains enfants avaient déjà des anticorps à la visite initiale. L'âge d'apparition de ces anticorps était donc inconnu.

Notre étude s'intéresse à la fois à la fratrie mais aussi aux enfants des diabétiques de type 1. Ceci offrant ainsi une grande diversité dans notre population. Néanmoins, 90% des sujets diabétiques nouvellement diagnostiqués n'ont pas d'antécédents dans la famille et notre étude s'intéresse donc qu'à une faible proportion d'individus potentiellement à risque. De plus, les marqueurs étudiés dans notre étude ont-ils le même impact dans la population générale ?

En France, il n'existe plus de centre qui assure un dépistage et un suivi aussi régulier de ces enfants. Il est important de suivre ce genre de cohorte à risque, non seulement pour améliorer les outils de dépistage en vue de protocole de prévention mais aussi pour les individus eux-mêmes et leurs familles, dans le but de les rassurer et, pour certains, leur permettre un diagnostic à un stade très précoce du diabète de type 1.

Pendant les premières années après l'ouverture du centre de dépistage, une évaluation métabolique (HPO et HPIV) était réalisée chez les enfants présentant des anticorps. En raison d'un trop faible nombre de tests réalisés (N=22), nous n'avons pas analysé les résultats dans ce travail.

Nous avons pu montrer que peu d'enfants sont devenus diabétiques. Ceci permet de rassurer les parents sur le risque de survenu d'un diabète chez leurs enfants. Cependant, plus de 50% des enfants avaient plus de 5 ans à la visite initiale alors que l'incidence du diabète est très élevée avant 5 ans. Ce qui explique que peut être ces résultats sont sous-estimés. De plus, les études s'intéressant à ces enfants présentant des auto-anticorps positifs ont démontré que le dépistage et le suivi réduisaient les épisodes de céto-acidose diabétique (74), dont on sait que la fréquence est plus élevée au diagnostic chez les sujets très jeunes, et donc de sa morbi-mortalité (206–208). Ils amélioreraient également le contrôle glycémique initial. Le diagnostic à un stade précoce de la maladie peut permettre de préserver plus longtemps les cellules β réduisant les complications à long terme comme le suggère l'étude TEDDY (74) où les enfants devenus diabétiques, inclus dans l'étude avaient des niveaux de peptide C plus élevés que les autres enfants diabétiques non inclus. La cohorte DiPiS (55) avait révélé que les enfants inclus dans le suivi longitudinal avait un meilleur contrôle métabolique au diagnostic et que cet effet positif sur l'HbA1c persistait pendant au moins 5 ans. Néanmoins, dans la cohorte DAISY, bien que le dépistage réduise la durée d'hospitalisation et le risque de céto-acidose diabétique, le diagnostic et le traitement précoces n'interrompent pas la progression de la maladie et le déclin de la masse cellulaire β . Les résultats métaboliques favorables (taux d'HbA1c et dose d'insuline plus faible, taux de peptide C postprandial plus élevée) dans la cohorte DAISY par rapport à la population générale ne sont plus aussi évidents 1 an après le diagnostic (62,209). Des données récentes de l'étude TEDDY ont montré que les familles suivis dans cette étude avaient une meilleure qualité de vie liée au diabète et un stress parental plus faible après le diagnostic par rapport aux enfants de la population générale (210).

Malgré cet effet bénéfique pour les participants devenus diabétiques, on peut se poser la question de l'impact d'un tel suivi chez les autres enfants. Les enfants ne sont pas légalement en mesure de donner leur consentement éclairé et la connaissance d'un facteur de risque peut

avoir un impact à long terme. De plus, s'il n'y a pas de traitement efficace, l'intérêt d'un dépistage est discutable. Dans le diabète de type 1, les facteurs de risque génétiques sont connus et sont associés à un risque accru de développer la maladie mais le risque n'est en aucun cas absolu. Par conséquent, il existe des équipes qui ne sont pas favorable au dépistage du pré-diabète de type 1. Certains avancent que tant qu'il n'y a pas de stratégie de prévention efficace pour le diabète de type 1, informer les parents sur les génotypes à haut risque les soumet à un stress excessif. L'étude DAISY avait montré que les mères de nourrissons avec des génotypes HLA à haut risque avaient une réduction du stress maternel au fil du temps similaire à celles dont le nourrisson avait un génotype HLA à faible risque (211). Des études antérieures ont abordé les problèmes psychologiques liés au dépistage précoce des nourrissons et des enfants, sans toutefois trouver d'effets indésirables graves (212,213).

Certains individus persistent avec des auto-anticorps positifs pendant de longues années avant de développer un diabète et peuvent ne jamais le développer, tandis que d'autres progressent rapidement. La connaissance d'auto-anticorps positif a un impact psychologique qui varie dans le temps et selon les individus (214) et a été associée à des changements de comportement dans le but de prévenir ou de retarder l'apparition de la maladie (132).

Ainsi, l'avantage du dépistage sur le potentiel bénéfice métabolique et sur la diminution des durées d'hospitalisations doit être confronté à l'impact psychologique d'un test positif chez des individus qui pourraient ne jamais développer la maladie.

Certains, notamment parmi les professionnels de santé, se sont soulevés contre les projets de dépistage de maladie grave, comme le diabète de type 1, qui ont été considérés comme comportant un risque d'être contraires à l'éthique, principalement lorsqu'aucune prévention efficace n'est disponible. Mais finalement, les parents veulent savoir si leur enfant a un risque accru de développer un diabète même en l'absence de mesure préventive disponible (215). Le

résultat de l'étude ABIS, confirme que ce type d'étude peut être justifié sur le plan éthique tant que le consentement éclairé peut être donné et qu'il reste sur la base du volontariat.

Maintenant que les enfants dans notre étude sont plus âgés pour répondre par eux-mêmes, il serait intéressant d'avoir leur retour sur l'impact cognitif, émotionnel et comportemental à long terme qu'a pu avoir ce projet et pourrait justifier d'un travail complémentaire à ces résultats.

IV/Conclusion :

Dans notre étude, 2,8% des enfants suivis sont devenus diabétiques et le risque à 15 ans dans cette population après la visite initiale approche les 5%. Notre étude a permis de confirmer les profils auto-immuns les plus à risques chez les enfants apparentés au 1^{er} degré à des diabétiques de type 1. La présence d'un seul anticorps à la séroconversion mais aussi au cours du suivi longitudinal ou d'un anticorps transitoire permet de délivrer aux familles suivies un message rassurant sur le risque de développer un diabète. La détection de multiples anticorps dès la séroconversion mais aussi la propagation de l'auto-immunité d'un unique anticorps à plusieurs anticorps, chez ces enfants augmente le risque de diabète de type 1. Ceci est d'autant plus vrai en cas de présence d'anticorps anti-IA-2 ou d'AAI parmi les multiples anticorps. Il semblerait que la progression vers le diabète dès lors que de multiples anticorps sont développés est inévitable. Néanmoins, le temps entre la séroconversion et le diagnostic clinique du diabète est très hétérogène d'un individu à l'autre. La poursuite du suivi chez ces enfants présentant de multiples anticorps est donc nécessaire pour détecter le plus précocement possible les premiers signes de diabète et éviter l'entrée dans la maladie à un stade de céto-acidose potentiellement dangereux.

Dans notre étude, le rôle protecteur de l'allèle DQB1*06:02 a pu être confirmé. Nous avons également étudié le génotype HLA DR3-DQ2/DR4-DQ8 dans notre population d'enfants dont l'âge était plutôt avancé. Ce génotype augmente le risque de développer une auto-immunité. Pourtant dès lors que l'auto-immunité est déclenchée, le risque de développer un diabète ne semble plus être modifié.

Enfin, le diabète de type 1 n'est actuellement pas évitable chez les enfants qui développent de multiples anticorps. Nos résultats insistent sur l'intérêt de poursuivre la réflexion sur l'existence de ces centres de dépistage. En effet, ces centres permettent d'évaluer de nouveaux outils de

dépistages et sont aussi utiles pour l'inclusion d'enfants à risque pour des protocoles de préventions dans le but d'arrêter voire de retarder la progression vers le diabète de type 1. En outre, les enfants avec de multiples auto-anticorps et qui ne développent pas de diabète 15 ans après la séroconversion et ceux qui négativent la totalité de leurs anticorps doivent également être étudiés afin de comprendre au mieux les mécanismes de protection naturels et peut-être l'apparition d'un diabète ultérieurement.

Annexe 1 – Descriptif des patients séroconvertis en fonction du type d'anticorps (anti-GAD, AAI, anti-IA2, ICA et multiples anticorps) au moment de la séroconversion

		Type d'anticorps au moment de la séroconversion				
		Anti-GAD (N=65)	AAI (N=13)	Anti-IA2 (N=17)	ICA (N=30)	Multiples Ac (N=18)
Sexe	Masculin	33 (50,8)	6 (46,2)	9 (52,9)	16 (53,3)	7 (38,9)
	Féminin	32 (49,2)	7 (53,8)	8 (47,1)	14 (46,7)	11 (61,1)
Propositus	Père	7 (10,8)	3 (23,1)	2 (11,8)	7 (23,3)	2 (11,1)
	Mère	20 (30,8)	3 (23,1)	3 (17,6)	9 (30)	4 (22,2)
	Frère	13 (20)	2 (15,4)	5 (29,4)	6 (20)	6 (33,3)
	Sœur	14 (21,5)	5 (38,5)	6 (35,3)	5 (16,7)	4 (22,2)
	2 cas ou plus	9 (13,8)	0 (0)	1 (5,9)	3 (10)	2 (11,1)
	Demi-frère/sœur	2 (3,1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Risque HLA	Protecteur ou neutre	21 (32,3)	3 (23,1)	5 (29,4)	6 (20)	4 (22,2)
	Augmenté	22 (33,8)	8 (65,5)	7 (41,2)	13 (43,3)	5 (27,8)
	Très augmenté	22 (33,8)	2 (15,4)	5 (29,4)	11 (36,7)	9 (50)
Génotype HLA ¹	DR3/4	16 (24,6)	1 (7,7)	4 (23,5)	6 (20)	6 (33,3)
	DR 4/4	2 (3,1)	1 (7,7)	0 (0)	2 (6,7)	1 (5,6)
	DR 3/3	4 (6,2)	0 (0)	1 (5,9)	3 (10)	2 (11,1)
	DR 7/x ou 14/x ou 15/x	6 (9,2)	1 (7,7)	2 (11,8)	2 (6,7)	0 (0)
	Autres	37 (56,9)	10 (76,9)	10 (58,8)	17 (56,7)	9 (50)
Gène DQB1*06:0 2	Absence	61 (93,8)	12 (92,3)	16 (94,1)	29 (96,7)	18 (100)
	Présence	4 (6,2)	1 (7,7)	1 (5,9)	1 (3,3)	0 (0)
Age séro- conversion (en année)	Médiane [Q1;Q3]	10,2 [6,8;14,1]	5,8 [3;6,8]	5,8 [4,4;14,9]	7,8 [4,5;12,4]	6,6 [4,0;11,5]
Diabète	Absence	51(78,5)	9 (69,2)	11 (64,7)	20 (66,7)	7 (38,9)
	Présence	14 (21,5)	4 (30,8)	6 (35,3)	10 (33,3)	11 (61,1)

BIBLIOGRAPHIE

1. American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: *Standards of Medical Care in Diabetes—2018*. Diabetes Care. janv 2018;41(Supplement 1):S13-27.
2. Lévy-Marchal C, Patterson CC, Green A, EURODIAB ACE Study Group. Europe and Diabetes. Geographical variation of presentation at diagnosis of type I diabetes in children: the EURODIAB study. European and Diabetes. Diabetologia. oct 2001;44 Suppl 3:B75-80.
3. SEARCH for Diabetes in Youth Study Group, Liese AD, D'Agostino RB, Hamman RF, Kilgo PD, Lawrence JM, et al. The burden of diabetes mellitus among US youth: prevalence estimates from the SEARCH for Diabetes in Youth Study. Pediatrics. oct 2006;118(4):1510-8.
4. Patterson CC, Dahlquist GG, Gyürüs E, Green A, Soltész G, EURODIAB Study Group. Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989-2003 and predicted new cases 2005-20: a multicentre prospective registration study. Lancet Lond Engl. 13 juin 2009;373(9680):2027-33.
5. Bodansky HJ, Staines A, Stephenson C, Haigh D, Cartwright R. Evidence for an environmental effect in the aetiology of insulin dependent diabetes in a transmigratory population. BMJ. 18 avr 1992;304(6833):1020-2.
6. Diabète de l'enfant et de l'adolescent [Internet]. [cité 21 nov 2020]. Disponible sur: /maladies-et-traumatismes/diabete/diabete-de-l-enfant-et-de-l-adolescent
7. Lecompte PM. Insulitis in early juvenile diabetes. AMA Arch Pathol. oct 1958;66(4):450-7.
8. Bottazzo GF, Florin-Christensen A, Doniach D. Islet-cell antibodies in diabetes mellitus with autoimmune polyendocrine deficiencies. Lancet Lond Engl. 30 nov 1974;2(7892):1279-83.
9. Christy M, Nerup J, Bottazzo GF, Doniach D, Platz P, Svejgaard A, et al. ASSOCIATION BETWEEN HLA-B8 AND AUTOIMMUNITY IN JUVENILE DIABETES MELLITUS. The Lancet. juill 1976;308(7977):142-3.
10. Makino S, Kunimoto K, Muraoka Y, Mizushima Y, Katagiri K, Tochino Y. Breeding of a non-obese, diabetic strain of mice. Jikken Dobutsu. janv 1980;29(1):1-13.
11. Like AA, Butler L, Williams RM, Appel MC, Weringer EJ, Rossini AA. Spontaneous autoimmune diabetes mellitus in the BB rat. Diabetes. 1982;31(Suppl 1 Pt 2):7-13.
12. Miller BJ, Appel MC, O'Neil JJ, Wicker LS. Both the Lyt-2+ and L3T4+ T cell subsets are required for the transfer of diabetes in nonobese diabetic mice. J Immunol Baltim Md 1950. 1 janv 1988;140(1):52-8.
13. Atkinson MA, Winter WE, Skordis N, Beppu H, Riley WM, Maclaren NK. Dietary protein restriction reduces the frequency and delays the onset of insulin dependent diabetes in BB rats. Autoimmunity. 1988;2(1):11-9.

14. Abbas AK, Lichtman AH. Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique. Issy-Les-Moulineaux (Hauts-de-Seine): Elsevier Masson; 2009.
15. Laupacis A, Gardell C, Dupre J, Stiller CR, Keown P, Wallace AC, et al. CYCLOSPORIN PREVENTS DIABETES IN BB WISTAR RATS. *The Lancet*. 8 janv 1983;321(8314):10-2.
16. Chatenoud L, Thervet E, Primo J, Bach JF. Anti-CD3 antibody induces long-term remission of overt autoimmunity in nonobese diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 4 janv 1994;91(1):123-7.
17. Vialettes B, Maraninchi D, San Marco MP, Birg F, Stoppa AM, Mattei-Zevaco C, et al. Autoimmune polyendocrine failure — Type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus and hypothyroidism — after allogeneic bone marrow transplantation in a patient with lymphoblastic leukaemia. *Diabetologia*. 1 juin 1993;36(6):541-6.
18. Feutren G, Papoz L, Assan R, Vialettes B, Karsenty G, Vexiau P, et al. Cyclosporin increases the rate and length of remissions in insulin-dependent diabetes of recent onset. Results of a multicentre double-blind trial. *Lancet Lond Engl*. 19 juill 1986;2(8499):119-24.
19. Kishimoto H, Sprent J. A defect in central tolerance in NOD mice. *Nat Immunol*. nov 2001;2(11):1025-31.
20. Lew A, Rutter WJ, Kennedy GC. 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 U S A*. 7 nov 2000;97(23):12508-12.
21. Kim J, Namchuk M, Bugawan T, Fu Q, Jaffe M, Shi Y, et al. Higher autoantibody levels and recognition of a linear NH₂-terminal epitope in the autoantigen GAD65, distinguish stiff-man syndrome from insulin-dependent diabetes mellitus. *J Exp Med*. 1 août 1994;180(2):595-606.
22. Vreugdenhil GR, Geluk A, Ottenhoff TH, Melchers WJ, Roep BO, Galama JM. Molecular mimicry in diabetes mellitus: the homologous domain in coxsackie B virus protein 2C and islet autoantigen GAD65 is highly conserved in the coxsackie B-like enteroviruses and binds to the diabetes associated HLA-DR3 molecule. *Diabetologia*. janv 1998;41(1):40-6.
23. Bonifacio E, Lampasona V, Genovese S, Ferrari M, Bosi E. Identification of protein tyrosine phosphatase-like IA2 (islet cell antigen 512) as the insulin-dependent diabetes-related 37/40K autoantigen and a target of islet-cell antibodies. *J Immunol Baltim Md* 1950. 1 déc 1995;155(11):5419-26.
24. Genovese S, Bonfanti R, Bazzigaluppi E, Lampasona V, Benazzi E, Bosi E, et al. Association of IA-2 autoantibodies with HLA DR4 phenotypes in IDDM. *Diabetologia*. oct 1996;39(10):1223-6.
25. Kuglin B, Gries FA, Kolb H. Evidence of IgG autoantibodies against human proinsulin in patients with IDDM before insulin treatment. *Diabetes*. janv 1988;37(1):130-2.
26. Ziegler AG, Hummel M, Schenker M, Bonifacio E. Autoantibody appearance and risk for development of childhood diabetes in offspring of parents with type 1 diabetes: the 2-year analysis of the German BABYDIAB Study. *Diabetes*. mars 1999;48(3):460-8.

27. Potter KN, Wilkin TJ. The molecular specificity of insulin autoantibodies. *Diabetes Metab Res Rev.* oct 2000;16(5):338-53.
28. Bingley PJ, Bonifacio E, Williams AJK, Genovese S, Bottazzo GF, Gale EAM. Prediction of IDDM in the General Population: Strategies Based on Combinations of Autoantibody Markers. *Diabetes.* 1 nov 1997;46(11):1701-10.
29. Wenzlau JM, Juhl K, Yu L, Moua O, Sarkar SA, Gottlieb P, et al. The cation efflux transporter ZnT8 (Slc30A8) is a major autoantigen in human type 1 diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 23 oct 2007;104(43):17040-5.
30. Gorus FK, Balti EV, Vermeulen I, Demeester S, Van Dalem A, Costa O, et al. Screening for insulinoma antigen 2 and zinc transporter 8 autoantibodies: a cost-effective and age-independent strategy to identify rapid progressors to clinical onset among relatives of type 1 diabetic patients: Screening for IA-2A and ZnT8A in relatives. *Clin Exp Immunol.* janv 2013;171(1):82-90.
31. Thébaud-Baumont K, Dubois-Laforgue D, Krief P, Briand J-P, Halbout P, Vallon-Geoffroy K, et al. Acceleration of type 1 diabetes mellitus in proinsulin 2-deficient NOD mice. *J Clin Invest.* 15 mars 2003;111(6):851-7.
32. Morran MP, Omenn GS, Pietropaolo M. Immunology and genetics of type 1 diabetes. *Mt Sinai J Med J Transl Pers Med.* août 2008;75(4):314-27.
33. Verge CF, Stenger D, Bonifacio E, Colman PG, Pilcher C, Bingley PJ, et al. Combined use of autoantibodies (IA-2 autoantibody, GAD autoantibody, insulin autoantibody, cytoplasmic islet cell antibodies) in type 1 diabetes: Combinatorial Islet Autoantibody Workshop. *Diabetes.* déc 1998;47(12):1857-66.
34. Morel PA, Dorman JS, Todd JA, McDevitt HO, Trucco M. Aspartic acid at position 57 of the HLA-DQ beta chain protects against type I diabetes: a family study. *Proc Natl Acad Sci U S A.* nov 1988;85(21):8111-5.
35. Noble JA, Valdes AM, Bugawan TL, Apple RJ, Thomson G, Erlich HA. The HLA class I A locus affects susceptibility to type 1 diabetes. *Hum Immunol.* août 2002;63(8):657-64.
36. Bergholdt R, Brorsson C, Palleja A, Berchtold LA, Fløyel T, Bang-Berthelsen CH, et al. Identification of novel type 1 diabetes candidate genes by integrating genome-wide association data, protein-protein interactions, and human pancreatic islet gene expression. *Diabetes.* avr 2012;61(4):954-62.
37. Çelmeli F, Türkkahraman D, Özel D, Akçurin S, Yegin O. CTLA-4 (+49A/G) polymorphism and type-1 diabetes in Turkish children. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2013;5(1):40-3.
38. Bottini N, Musumeci L, Alonso A, Rahmouni S, Nika K, Rostamkhani M, et al. A functional variant of lymphoid tyrosine phosphatase is associated with type I diabetes. *Nat Genet.* avr 2004;36(4):337-8.
39. Moore F, Colli ML, Cnop M, Esteve MI, Cardozo AK, Cunha DA, et al. PTPN2, a candidate gene for type 1 diabetes, modulates interferon-gamma-induced pancreatic beta-cell apoptosis. *Diabetes.* juin 2009;58(6):1283-91.

40. Pugliese A, Skyler JS, George S, Eisenbarth GS. Insulin and type 1 diabetes. *Diabetes Care*. juin 2013;36(6):1437-42.
41. Atkinson MA, Eisenbarth GS, Michels AW. Type 1 diabetes. *Lancet Lond Engl*. 4 janv 2014;383(9911):69-82.
42. Netgen. Essais de prévention du diabète de type 1 : déceptions et espoirs [Internet]. *Revue Médicale Suisse*. [cité 21 nov 2020]. Disponible sur: <https://www.revmed.ch/RMS/2003/RMS-2447/23193>
43. Ziegler AG, Rewers M, Simell O, Simell T, Lempainen J, Steck A, et al. Seroconversion to multiple islet autoantibodies and risk of progression to diabetes in children. *JAMA*. 19 juin 2013;309(23):2473-9.
44. Insel RA, Dunne JL, Atkinson MA, Chiang JL, Dabelea D, Gottlieb PA, et al. Staging presymptomatic type 1 diabetes: a scientific statement of JDRF, the Endocrine Society, and the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. oct 2015;38(10):1964-74.
45. Krischer JP, Type 1 Diabetes TrialNet Study Group. The use of intermediate endpoints in the design of type 1 diabetes prevention trials. *Diabetologia*. sept 2013;56(9):1919-24.
46. Sutherland DE, Sibley R, Xu XZ, Michael A, Srikanta AM, Taub F, et al. Twin-to-twin pancreas transplantation: reversal and reenactment of the pathogenesis of type I diabetes. *Trans Assoc Am Physicians*. 1984;97:80-7.
47. Duca LM, Wang B, Rewers M, Rewers A. Diabetic Ketoacidosis at Diagnosis of Type 1 Diabetes Predicts Poor Long-term Glycemic Control. *Diabetes Care*. 2017;40(9):1249-55.
48. Kimpimäki T, Kupila A, Hämäläinen A-M, Kukko M, Kulmala P, Savola K, et al. The First Signs of β -Cell Autoimmunity Appear in Infancy in Genetically Susceptible Children from the General Population: The Finnish Type 1 Diabetes Prediction and Prevention Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 1 oct 2001;86(10):4782-8.
49. Kimpimäki T, Kulmala P, Savola K, Kupila A, Korhonen S, Simell T, et al. Natural history of beta-cell autoimmunity in young children with increased genetic susceptibility to type 1 diabetes recruited from the general population. *J Clin Endocrinol Metab*. oct 2002;87(10):4572-9.
50. Haller MJ, Schatz DA. The DIPP project: 20 years of discovery in type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes*. 2016;17 Suppl 22:5-7.
51. Type 1 Diabetes Prediction and Prevention (DIPP) Study - Full Text View - ClinicalTrials.gov [Internet]. [cité 21 nov 2020]. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03269084>
52. Ilonen J, Hammäs A, Laine A-P, Lempainen J, Vaarala O, Veijola R, et al. Patterns of β -Cell Autoantibody Appearance and Genetic Associations During the First Years of Life. *Diabetes*. 1 oct 2013;62(10):3636-40.
53. Ilonen J, Kiviniemi M, Lempainen J, Simell O, Toppari J, Veijola R, et al. Genetic susceptibility to type 1 diabetes in childhood - estimation of HLA class II associated disease

- risk and class II effect in various phases of islet autoimmunity. *Pediatr Diabetes*. 2016;17 Suppl 22:8-16.
54. Näntö-Salonen K, Kupila A, Simell S, Siljander H, Salonsaari T, Hekkala A, et al. Nasal insulin to prevent type 1 diabetes in children with HLA genotypes and autoantibodies conferring increased risk of disease: a double-blind, randomised controlled trial. *Lancet Lond Engl*. 15 nov 2008;372(9651):1746-55.
 55. Lundgren M, Jonsdottir B, Elding Larsson H, DiPiS study group. Effect of screening for type 1 diabetes on early metabolic control: the DiPiS study. *Diabetologia*. 2019;62(1):53-7.
 56. Elding Larsson H. A Swedish approach to the prevention of type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes*. 2016;17 Suppl 22:73-7.
 57. Hinke SA. Diamyd, an alum-formulated recombinant human GAD65 for the prevention of autoimmune diabetes. *Curr Opin Mol Ther*. oct 2008;10(5):516-25.
 58. Elding Larsson H, Lundgren M, Jonsdottir B, Cuthbertson D, Krischer J, DiAPREV-IT Study Group. Safety and efficacy of autoantigen-specific therapy with 2 doses of alum-formulated glutamate decarboxylase in children with multiple islet autoantibodies and risk for type 1 diabetes: A randomized clinical trial. *Pediatr Diabetes*. 2018;19(3):410-9.
 59. Frohnert BI, Ide L, Dong F, Barón AE, Steck AK, Norris JM, et al. Late-onset islet autoimmunity in childhood: the Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY). *Diabetologia*. juin 2017;60(6):998-1006.
 60. Rewers M, Bugawan TL, Norris JM, Blair A, Beaty B, Hoffman M, et al. Newborn screening for HLA markers associated with IDDM: Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY). *Diabetologia*. juill 1996;39(7):807-12.
 61. Steck AK, Johnson K, Barriga KJ, Miao D, Yu L, Hutton JC, et al. Age of Islet Autoantibody Appearance and Mean Levels of Insulin, but Not GAD or IA-2 Autoantibodies, Predict Age of Diagnosis of Type 1 Diabetes: Diabetes Autoimmunity Study in the Young. *Diabetes Care*. 1 juin 2011;34(6):1397-9.
 62. Barker JM, Goehrig SH, Barriga K, Hoffman M, Slover R, Eisenbarth GS, et al. Clinical Characteristics of Children Diagnosed With Type 1 Diabetes Through Intensive Screening and Follow-Up. *Diabetes Care*. 1 juin 2004;27(6):1399-404.
 63. Steck AK, Dong F, Wong R, Fouts A, Liu E, Romanos J, et al. Improving prediction of type 1 diabetes by testing non-HLA genetic variants in addition to HLA markers: Non-HLA variants in T1D prediction. *Pediatr Diabetes*. août 2014;15(5):355-62.
 64. Winkler C, Krumsiek J, Buettner F, Angermüller C, Giannopoulou EZ, Theis FJ, et al. Feature ranking of type 1 diabetes susceptibility genes improves prediction of type 1 diabetes. *Diabetologia*. déc 2014;57(12):2521-9.
 65. Frohnert BI, Laimighofer M, Krumsiek J, Theis FJ, Winkler C, Norris JM, et al. Prediction of type 1 diabetes using a genetic risk model in the Diabetes Autoimmunity Study in the Young. *Pediatr Diabetes*. mars 2018;19(2):277-83.

66. Schmid S, Buuck D, Knopff A, Bonifacio E, Ziegler AG. BABYDIET, a feasibility study to prevent the appearance of islet autoantibodies in relatives of patients with Type 1 diabetes by delaying exposure to gluten. *Diabetologia* [Internet]. juin 2004 [cité 21 nov 2020];47(6). Disponible sur: <http://link.springer.com/10.1007/s00125-004-1420-9>
67. Ziegler A-G, Bonifacio E, BABYDIAB-BABYDIET Study Group. Age-related islet autoantibody incidence in offspring of patients with type 1 diabetes. *Diabetologia*. juill 2012;55(7):1937-43.
68. Giannopoulou EZ, Winkler C, Chmiel R, Matzke C, Scholz M, Beyerlein A, et al. Islet autoantibody phenotypes and incidence in children at increased risk for type 1 diabetes. *Diabetologia*. oct 2015;58(10):2317-23.
69. Achenbach P, Hummel M, Thümer L, Boerschmann H, Höfelmann D, Ziegler AG. Characteristics of rapid vs slow progression to type 1 diabetes in multiple islet autoantibody-positive children. *Diabetologia*. juill 2013;56(7):1615-22.
70. Hagopian WA, Erlich H, Lernmark A, Rewers M, Ziegler AG, Simell O, et al. The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY): genetic criteria and international diabetes risk screening of 421 000 infants. *Pediatr Diabetes*. déc 2011;12(8):733-43.
71. Vehik K, Fiske SW, Logan CA, Agardh D, Cilio CM, Hagopian W, et al. Methods, quality control and specimen management in an international multicentre investigation of type 1 diabetes: TEDDY. *Diabetes Metab Res Rev*. oct 2013;29(7):557-67.
72. TEDDY Study Group. The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY) study: study design. *Pediatr Diabetes*. oct 2007;8(5):286-98.
73. Rewers M, Hyöty H, Lernmark Å, Hagopian W, She J-X, Schatz D, et al. The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY) Study: 2018 Update. *Curr Diab Rep*. 23 2018;18(12):136.
74. Elding Larsson H, Vehik K, Bell R, Dabelea D, Dolan L, Pihoker C, et al. Reduced prevalence of diabetic ketoacidosis at diagnosis of type 1 diabetes in young children participating in longitudinal follow-up. *Diabetes Care*. nov 2011;34(11):2347-52.
75. Steck AK, Vehik K, Bonifacio E, Lernmark A, Ziegler A-G, Hagopian WA, et al. Predictors of Progression From the Appearance of Islet Autoantibodies to Early Childhood Diabetes: The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY). *Diabetes Care*. mai 2015;38(5):808-13.
76. TEDDY study group, Köhler M, Beyerlein A, Vehik K, Greven S, Umlauf N, et al. Joint modeling of longitudinal autoantibody patterns and progression to type 1 diabetes: results from the TEDDY study. *Acta Diabetol*. nov 2017;54(11):1009-17.
77. Krischer JP, Lynch KF, Lernmark Å, Hagopian WA, Rewers MJ, She J-X, et al. Genetic and Environmental Interactions Modify the Risk of Diabetes-Related Autoimmunity by 6 Years of Age: The TEDDY Study. *Diabetes Care*. sept 2017;40(9):1194-202.

78. Bonifacio E, Beyerlein A, Hippich M, Winkler C, Vehik K, Weedon MN, et al. Genetic scores to stratify risk of developing multiple islet autoantibodies and type 1 diabetes: A prospective study in children. *PLoS Med.* 2018;15(4):e1002548.
79. Nygren M, Carstensen J, Koch F, Ludvigsson J, Frostell A. Experience of a serious life event increases the risk for childhood type 1 diabetes: the ABIS population-based prospective cohort study. *Diabetologia.* juin 2015;58(6):1188-97.
80. Sepa A, Wahlberg J, Vaarala O, Frodi A, Ludvigsson J. Psychological stress may induce diabetes-related autoimmunity in infancy. *Diabetes Care.* févr 2005;28(2):290-5.
81. Sepa A, Frodi A, Ludvigsson J. Mothers' experiences of serious life events increase the risk of diabetes-related autoimmunity in their children. *Diabetes Care.* oct 2005;28(10):2394-9.
82. Stene LC, Witsø E, Torjesen PA, Rasmussen T, Magnus P, Cinek O, et al. Islet autoantibody development during follow-up of high-risk children from the general Norwegian population from three months of age: design and early results from the MIDIA study. *J Autoimmun.* août 2007;29(1):44-51.
83. About MIDIA [Internet]. Norwegian Institute of Public Health. [cité 21 nov 2020]. Disponible sur: <https://www.fhi.no/en/studies/midia/about-midia/>
84. Wilkin TJ. The accelerator hypothesis: weight gain as the missing link between Type I and Type II diabetes. *Diabetologia.* juill 2001;44(7):914-22.
85. Infections and vaccinations as risk factors for childhood type I (insulin-dependent) diabetes mellitus: a multicentre case-control investigation. EURODIAB Substudy 2 Study Group. *Diabetologia.* janv 2000;43(1):47-53.
86. Viskari H, Ludvigsson J, Uibo R, Salur L, Marciulionyte D, Hermann R, et al. Relationship between the incidence of type 1 diabetes and maternal enterovirus antibodies: time trends and geographical variation. *Diabetologia.* juill 2005;48(7):1280-7.
87. Alkanani AK, Hara N, Gianani R, Zipris D. Kilham Rat Virus-induced type 1 diabetes involves beta cell infection and intra-islet JAK-STAT activation prior to insulinitis. *Virology.* nov 2014;468-470:19-27.
88. Lévy-Marchal C, Patterson C, Green A. Variation by age group and seasonality at diagnosis of childhood IDDM in Europe. The EURODIAB ACE Study Group. *Diabetologia.* juill 1995;38(7):823-30.
89. Graves PM, Norris JM, Pallansch MA, Gerling IC, Rewers M. The role of enteroviral infections in the development of IDDM: limitations of current approaches. *Diabetes.* févr 1997;46(2):161-8.
90. Bergamin CS, Dib SA. Enterovirus and type 1 diabetes: What is the matter? *World J Diabetes.* 25 juin 2015;6(6):828-39.
91. Laitinen OH, Honkanen H, Pakkanen O, Oikarinen S, Hankaniemi MM, Huhtala H, et al. Coxsackievirus B1 is associated with induction of β -cell autoimmunity that portends type 1 diabetes. *Diabetes.* févr 2014;63(2):446-55.

92. Salminen K, Sadeharju K, Lönnrot M, Vähäsalo P, Kupila A, Korhonen S, et al. Enterovirus infections are associated with the induction of beta-cell autoimmunity in a prospective birth cohort study. *J Med Virol.* janv 2003;69(1):91-8.
93. Hyöty H. Viruses in type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes.* 2016;17 Suppl 22:56-64.
94. Stene LC, Oikarinen S, Hyöty H, Barriga KJ, Norris JM, Klingensmith G, et al. Enterovirus infection and progression from islet autoimmunity to type 1 diabetes: the Diabetes and Autoimmunity Study in the Young (DAISY). *Diabetes.* déc 2010;59(12):3174-80.
95. Witsø E, Cinek O, Tapia G, Rasmussen T, Stene LC, Rønningen KS. HLA-DRB1-DQA1-DQB1 genotype and frequency of enterovirus in longitudinal monthly fecal samples from healthy infants. *Viral Immunol.* juin 2012;25(3):187-92.
96. Cinek O, Stene LC, Kramna L, Tapia G, Oikarinen S, Witsø E, et al. Enterovirus RNA in longitudinal blood samples and risk of islet autoimmunity in children with a high genetic risk of type 1 diabetes: the MIDIA study. *Diabetologia.* oct 2014;57(10):2193-200.
97. Tapia G, Cinek O, Rasmussen T, Grinde B, Stene LC, Rønningen KS. Longitudinal study of parechovirus infection in infancy and risk of repeated positivity for multiple islet autoantibodies: the MIDIA study. *Pediatr Diabetes.* févr 2011;12(1):58-62.
98. Wahlberg J, Vaarala O, Ludvigsson J, ABIS-study group. Dietary risk factors for the emergence of type 1 diabetes-related autoantibodies in 21/2 year-old Swedish children. *Br J Nutr.* mars 2006;95(3):603-8.
99. Gerstein HC. Cow's milk exposure and type I diabetes mellitus. A critical overview of the clinical literature. *Diabetes Care.* janv 1994;17(1):13-9.
100. Virtanen SM, Läärä E, Hyppönen E, Reijonen H, Räsänen L, Aro A, et al. Cow's milk consumption, HLA-DQB1 genotype, and type 1 diabetes: a nested case-control study of siblings of children with diabetes. Childhood diabetes in Finland study group. *Diabetes.* juin 2000;49(6):912-7.
101. Oyarzún A, Santos JL, Carrasco E, Albala C, Salinas A, Pérez F. [Bovine serum albumin (BSA) antibodies in children with recently diagnosed type 1 diabetes with breast feeding and milk exposition]. *Rev Med Chil.* août 2003;131(8):865-72.
102. Norris JM, Barriga K, Klingensmith G, Hoffman M, Eisenbarth GS, Erlich HA, et al. Timing of initial cereal exposure in infancy and risk of islet autoimmunity. *JAMA.* 1 oct 2003;290(13):1713-20.
103. Ziegler A-G, Schmid S, Huber D, Hummel M, Bonifacio E. Early infant feeding and risk of developing type 1 diabetes-associated autoantibodies. *JAMA.* 1 oct 2003;290(13):1721-8.
104. Virtanen SM, Nevalainen J, Kronberg-Kippilä C, Ahonen S, Tapanainen H, Uusitalo L, et al. Food consumption and advanced β cell autoimmunity in young children with HLA-conferred susceptibility to type 1 diabetes: a nested case-control design. *Am J Clin Nutr.* févr 2012;95(2):471-8.

105. Virtanen SM, Takkinen H-M, Nevalainen J, Kronberg-Kippilä C, Salmenhaara M, Uusitalo L, et al. Early introduction of root vegetables in infancy associated with advanced β -cell autoimmunity in young children with human leukocyte antigen-conferred susceptibility to Type 1 diabetes. *Diabet Med J Br Diabet Assoc.* août 2011;28(8):965-71.
106. Mattila M, Niinistö S, Takkinen H-M, Tapanainen H, Reinivuo H, Åkerlund M, et al. Maternal Nitrate and Nitrite Intakes during Pregnancy and Risk of Islet Autoimmunity and Type 1 Diabetes: The DIPP Cohort Study. *J Nutr.* 19 nov 2020;150(11):2969-76.
107. Lamb MM, Miller M, Seifert JA, Frederiksen B, Kroehl M, Rewers M, et al. The effect of childhood cow's milk intake and HLA-DR genotype on risk of islet autoimmunity and type 1 diabetes: the Diabetes Autoimmunity Study in the Young. *Pediatr Diabetes.* févr 2015;16(1):31-8.
108. Frederiksen B, Kroehl M, Lamb MM, Seifert J, Barriga K, Eisenbarth GS, et al. Infant Exposures and Development of Type 1 Diabetes Mellitus: The Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY). *JAMA Pediatr.* 1 sept 2013;167(9):808.
109. Hummel S, Pflüger M, Hummel M, Bonifacio E, Ziegler A-G. Primary dietary intervention study to reduce the risk of islet autoimmunity in children at increased risk for type 1 diabetes: the BABYDIET study. *Diabetes Care.* juin 2011;34(6):1301-5.
110. Hummel S, Beyerlein A, Tamura R, Uusitalo U, Andrén Aronsson C, Yang J, et al. First Infant Formula Type and Risk of Islet Autoimmunity in The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY) Study. *Diabetes Care.* mars 2017;40(3):398-404.
111. Uusitalo U, Lee H-S, Andrén Aronsson C, Vehik K, Yang J, Hummel S, et al. Early Infant Diet and Islet Autoimmunity in the TEDDY Study. *Diabetes Care.* 2018;41(3):522-30.
112. Uusitalo U, Liu X, Yang J, Aronsson CA, Hummel S, Butterworth M, et al. Association of Early Exposure of Probiotics and Islet Autoimmunity in the TEDDY Study. *JAMA Pediatr.* janv 2016;170(1):20-8.
113. Lund-Blix NA, Stene LC, Rasmussen T, Torjesen PA, Andersen LF, Rønningen KS. Infant feeding in relation to islet autoimmunity and type 1 diabetes in genetically susceptible children: the MIDIA Study. *Diabetes Care.* févr 2015;38(2):257-63.
114. Dahlquist GG, Patterson C, Soltesz G. Perinatal risk factors for childhood type 1 diabetes in Europe. The EURODIAB Substudy 2 Study Group. *Diabetes Care.* oct 1999;22(10):1698-702.
115. Stene LC, Magnus P, Lie RT, Sjøvik O, Joner G, Norwegian childhood Diabetes Study Group. Birth weight and childhood onset type 1 diabetes: population based cohort study. *BMJ.* 14 avr 2001;322(7291):889-92.
116. Stene LC, Magnus P, Lie RT, Sjøvik O, Joner G. Maternal and paternal age at delivery, birth order, and risk of childhood onset type 1 diabetes: population based cohort study. *BMJ.* 18 août 2001;323(7309):369.

117. for the DiPiS study group, Lundgren M, Ellström K, Elding Larsson H. Influence of early-life parental severe life events on the risk of type 1 diabetes in children: the DiPiS study. *Acta Diabetol.* août 2018;55(8):797-804.
118. Hummel M, Fuchtenbusch M, Schenker M, Ziegler AG. No major association of breast-feeding, vaccinations, and childhood viral diseases with early islet autoimmunity in the German BABYDIAB Study. *Diabetes Care.* juill 2000;23(7):969-74.
119. Fuchtenbusch M, Irnstetter A, Jäger G, Ziegler AG. No evidence for an association of coxsackie virus infections during pregnancy and early childhood with development of islet autoantibodies in offspring of mothers or fathers with type 1 diabetes. *J Autoimmun.* déc 2001;17(4):333-40.
120. Rasmussen T, Stene LC, Samuelsen SO, Cinek O, Wetlesen T, Torjesen PA, et al. Maternal BMI before pregnancy, maternal weight gain during pregnancy, and risk of persistent positivity for multiple diabetes-associated autoantibodies in children with the high-risk HLA genotype: the MIDIA study. *Diabetes Care.* oct 2009;32(10):1904-6.
121. Ludvigsson J, Holmqvist B-M, Samuelsson U. Does modern high standard life style cause type 1 diabetes in children? *Diabetes Metab Res Rev.* févr 2013;29(2):161-5.
122. Casu A, Pascutto C, Bernardinelli L, Songini M. Type 1 diabetes among sardinian children is increasing: the Sardinian diabetes register for children aged 0-14 years (1989-1999). *Diabetes Care.* juill 2004;27(7):1623-9.
123. Vitamin D supplement in early childhood and risk for Type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. The EURODIAB Substudy 2 Study Group. *Diabetologia.* janv 1999;42(1):51-4.
124. Nejentsev S, Cooper JD, Godfrey L, Howson JMM, Rance H, Nutland S, et al. Analysis of the vitamin D receptor gene sequence variants in type 1 diabetes. *Diabetes.* oct 2004;53(10):2709-12.
125. Stene LC, Joner G, Norwegian Childhood Diabetes Study Group. Use of cod liver oil during the first year of life is associated with lower risk of childhood-onset type 1 diabetes: a large, population-based, case-control study. *Am J Clin Nutr.* déc 2003;78(6):1128-34.
126. Frederiksen BN, Kroehl M, Fingerlin TE, Wong R, Steck AK, Rewers M, et al. Association Between Vitamin D Metabolism Gene Polymorphisms and Risk of Islet Autoimmunity and Progression to Type 1 Diabetes: The Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY). *J Clin Endocrinol Metab.* nov 2013;98(11):E1845-51.
127. Frederiksen B, Liu E, Romanos J, Steck AK, Yin X, Kroehl M, et al. Investigation of the vitamin D receptor gene (VDR) and its interaction with protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 2 gene (PTPN2) on risk of islet autoimmunity and type 1 diabetes: The Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY). *J Steroid Biochem Mol Biol.* janv 2013;133:51-7.
128. Simpson M, Brady H, Yin X, Seifert J, Barriga K, Hoffman M, et al. No association of vitamin D intake or 25-hydroxyvitamin D levels in childhood with risk of islet

autoimmunity and type 1 diabetes: the Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY). *Diabetologia*. nov 2011;54(11):2779-88.

129. Miller MR, Yin X, Seifert J, Clare-Salzler M, Eisenbarth GS, Rewers M, et al. Erythrocyte membrane omega-3 fatty acid levels and omega-3 fatty acid intake are not associated with conversion to type 1 diabetes in children with islet autoimmunity: The Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY). *Pediatr Diabetes*. déc 2011;12(8):669-75.
130. Norris JM, Kroehl M, Fingerlin TE, Frederiksen BN, Seifert J, Wong R, et al. Erythrocyte membrane docosapentaenoic acid levels are associated with islet autoimmunity: the Diabetes Autoimmunity Study in the Young. *Diabetologia*. févr 2014;57(2):295-304.
131. Norris JM, Lee H-S, Frederiksen B, Erlund I, Uusitalo U, Yang J, et al. Plasma 25-Hydroxyvitamin D Concentration and Risk of Islet Autoimmunity. *Diabetes*. 2018;67(1):146-54.
132. Johnson SB, Tercyak KP. Psychological Impact of Islet Cell Antibody Screening for IDDM on Children, Adults, and Their Family Members. *Diabetes Care*. 1 oct 1995;18(10):1370-2.
133. Johnson SB, Lynch KF, Roth R, Schatz D, TEDDY Study Group. My Child Is Islet Autoantibody Positive: Impact on Parental Anxiety. *Diabetes Care*. 2017;40(9):1167-72.
134. Smith LB, Lynch KF, Baxter J, Lernmark B, Roth R, Simell T, et al. Factors Associated With Maternal-Reported Actions to Prevent Type 1 Diabetes in the First Year of the TEDDY Study. *Diabetes Care*. 1 févr 2014;37(2):325-31.
135. Writing Group for the TRIGR Study Group, Knip M, Åkerblom HK, Al Taji E, Becker D, Bruining J, et al. Effect of Hydrolyzed Infant Formula vs Conventional Formula on Risk of Type 1 Diabetes: The TRIGR Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 02 2018;319(1):38-48.
136. Bonifacio E, Ziegler A-G, Klingensmith G, Schober E, Bingley PJ, Rottenkolber M, et al. Effects of high-dose oral insulin on immune responses in children at high risk for type 1 diabetes: the Pre-POINT randomized clinical trial. *JAMA*. 21 avr 2015;313(15):1541-9.
137. Skyler JS, Krischer JP, Wolfsdorf J, Cowie C, Palmer JP, Greenbaum C, et al. Effects of oral insulin in relatives of patients with type 1 diabetes: The Diabetes Prevention Trial--Type 1. *Diabetes Care*. mai 2005;28(5):1068-76.
138. Writing Committee for the Type 1 Diabetes TrialNet Oral Insulin Study Group, Krischer JP, Schatz DA, Bundy B, Skyler JS, Greenbaum CJ. Effect of Oral Insulin on Prevention of Diabetes in Relatives of Patients With Type 1 Diabetes: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 21 2017;318(19):1891-902.
139. Melbourne Health. A Randomised, Double-blind, Placebo-controlled Trial of Intranasal Insulin (440 IU) in Children and Young Adults at Risk of Type 1 Diabetes: Intranasal Insulin Trial II [Internet]. *clinicaltrials.gov*; 2020 oct [cité 19 nov 2020]. Report No.: NCT00336674. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00336674>.

140. Harrison LC, Honeyman MC, Steele CE, Stone NL, Sarugeri E, Bonifacio E, et al. Pancreatic beta-cell function and immune responses to insulin after administration of intranasal insulin to humans at risk for type 1 diabetes. *Diabetes Care*. oct 2004;27(10):2348-55.
141. Diabetes Prevention Trial--Type 1 Diabetes Study Group. Effects of insulin in relatives of patients with type 1 diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 30 mai 2002;346(22):1685-91.
142. Carel J-C, Landais P, Bougnères P. Therapy to prevent type 1 diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 3 oct 2002;347(14):1115-6.
143. Tjälve H, Wilander E. The uptake in the pancreatic islets of nicotinamide, nicotinic acid and tryptophan and their ability to prevent streptozotocin diabetes in mice. *Acta Endocrinol (Copenh)*. oct 1976;83(2):357-64.
144. Gale E a. M, Bingley PJ, Emmett CL, Collier T, European Nicotinamide Diabetes Intervention Trial (ENDIT) Group. European Nicotinamide Diabetes Intervention Trial (ENDIT): a randomised controlled trial of intervention before the onset of type 1 diabetes. *Lancet Lond Engl*. 20 mars 2004;363(9413):925-31.
145. Lampeter EF, Klinghammer A, Scherbaum WA, Heinze E, Haastert B, Giani G, et al. The Deutsche Nicotinamide Intervention Study: an attempt to prevent type 1 diabetes. DENIS Group. *Diabetes*. juin 1998;47(6):980-4.
146. Herold KC, Bundy BN, Long SA, Bluestone JA, DiMeglio LA, Dufort MJ, et al. An Anti-CD3 Antibody, Teplizumab, in Relatives at Risk for Type 1 Diabetes. *N Engl J Med*. 15 2019;381(7):603-13.
147. Orban T, Bundy B, Becker DJ, DiMeglio LA, Gitelman SE, Goland R, et al. Costimulation modulation with abatacept in patients with recent-onset type 1 diabetes: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Lond Engl*. 30 juill 2011;378(9789):412-9.
148. Orban T, Bundy B, Becker DJ, Dimeglio LA, Gitelman SE, Goland R, et al. Costimulation modulation with abatacept in patients with recent-onset type 1 diabetes: follow-up 1 year after cessation of treatment. *Diabetes Care*. avr 2014;37(4):1069-75.
149. CTLA4-Ig (Abatacept)for Prevention of Abnormal Glucose Tolerance and Diabetes in Relatives At -Risk for Type 1 - Full Text View - ClinicalTrials.gov [Internet]. [cité 22 nov 2020]. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01773707>
150. Hydroxychloroquine in Individuals At-risk for Type 1 Diabetes Mellitus - Full Text View - ClinicalTrials.gov [Internet]. [cité 22 nov 2020]. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03428945>
151. Feutren G, Papoz L, Assan R, Vialettes B, Karsenty G, Vexiau P, et al. Cyclosporin increases the rate and length of remissions in insulin-dependent diabetes of recent onset. Results of a multicentre double-blind trial. *Lancet Lond Engl*. 19 juill 1986;2(8499):119-24.
152. Cook JJ, Hudson I, Harrison LC, Dean B, Colman PG, Werther GA, et al. Double-blind controlled trial of azathioprine in children with newly diagnosed type I diabetes. *Diabetes*. juin 1989;38(6):779-83.

153. Cyclosporin-induced remission of IDDM after early intervention. Association of 1 yr of cyclosporin treatment with enhanced insulin secretion. The Canadian-European Randomized Control Trial Group. *Diabetes*. nov 1988;37(11):1574-82.
154. Keymeulen B, Vandemeulebroucke E, Ziegler AG, Mathieu C, Kaufman L, Hale G, et al. Insulin needs after CD3-antibody therapy in new-onset type 1 diabetes. *N Engl J Med*. 23 juin 2005;352(25):2598-608.
155. Herold KC, Gitelman SE, Masharani U, Hagopian W, Bisikirska B, Donaldson D, et al. A single course of anti-CD3 monoclonal antibody hOKT3gamma1(Ala-Ala) results in improvement in C-peptide responses and clinical parameters for at least 2 years after onset of type 1 diabetes. *Diabetes*. juin 2005;54(6):1763-9.
156. Herold KC, Gitelman SE, Ehlers MR, Gottlieb PA, Greenbaum CJ, Hagopian W, et al. Teplizumab (anti-CD3 mAb) treatment preserves C-peptide responses in patients with new-onset type 1 diabetes in a randomized controlled trial: metabolic and immunologic features at baseline identify a subgroup of responders. *Diabetes*. nov 2013;62(11):3766-74.
157. Herold KC, Gitelman SE, Willi SM, Gottlieb PA, Waldron-Lynch F, Devine L, et al. Teplizumab treatment may improve C-peptide responses in participants with type 1 diabetes after the new-onset period: a randomised controlled trial. *Diabetologia*. févr 2013;56(2):391-400.
158. Aronson R, Gottlieb PA, Christiansen JS, Donner TW, Bosi E, Bode BW, et al. Low-dose otelexizumab anti-CD3 monoclonal antibody DEFEND-1 study: results of the randomized phase III study in recent-onset human type 1 diabetes. *Diabetes Care*. oct 2014;37(10):2746-54.
159. Ambery P, Donner TW, Biswas N, Donaldson J, Parkin J, Dayan CM. Efficacy and safety of low-dose otelexizumab anti-CD3 monoclonal antibody in preserving C-peptide secretion in adolescent type 1 diabetes: DEFEND-2, a randomized, placebo-controlled, double-blind, multi-centre study. *Diabet Med J Br Diabet Assoc*. avr 2014;31(4):399-402.
160. Sherry N, Hagopian W, Ludvigsson J, Jain SM, Wahlen J, Ferry RJ, et al. Teplizumab for treatment of type 1 diabetes (Protégé study): 1-year results from a randomised, placebo-controlled trial. *Lancet Lond Engl*. 6 août 2011;378(9790):487-97.
161. Rigby MR, DiMeglio LA, Rendell MS, Felner EI, Dostou JM, Gitelman SE, et al. Targeting of memory T cells with alefacept in new-onset type 1 diabetes (T1DAL study): 12 month results of a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2 trial. *Lancet Diabetes Endocrinol*. déc 2013;1(4):284-94.
162. Pescovitz MD, Greenbaum CJ, Krause-Steinrauf H, Becker DJ, Gitelman SE, Goland R, et al. Rituximab, B-lymphocyte depletion, and preservation of beta-cell function. *N Engl J Med*. 26 nov 2009;361(22):2143-52.
163. Pescovitz MD, Greenbaum CJ, Bundy B, Becker DJ, Gitelman SE, Goland R, et al. B-lymphocyte depletion with rituximab and β -cell function: two-year results. *Diabetes Care*. févr 2014;37(2):453-9.

164. Maedler K, Sergeev P, Ris F, Oberholzer J, Joller-Jemelka HI, Spinas GA, et al. Glucose-induced beta cell production of IL-1beta contributes to glucotoxicity in human pancreatic islets. *J Clin Invest.* sept 2002;110(6):851-60.
165. Moran A, Bundy B, Becker DJ, DiMeglio LA, Gitelman SE, Goland R, et al. Interleukin-1 antagonism in type 1 diabetes of recent onset: two multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trials. *Lancet Lond Engl.* 1 juin 2013;381(9881):1905-15.
166. Jacques Y, Mortier E. Le renouveau de l'interleukine 2: Modèle revisité et nouvelles applications thérapeutiques. *médecine/sciences.* juin 2016;32(6-7):612-8.
167. Low-dose rhIL-2 in Patients With Recently-diagnosed Type 1 Diabetes - Full Text View - ClinicalTrials.gov [Internet]. [cité 22 nov 2020]. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02411253>
168. Tocilizumab (TCZ) in New-onset Type 1 Diabetes - Full Text View - ClinicalTrials.gov [Internet]. [cité 22 nov 2020]. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02293837>
169. Simon G, Parker M, Ramiya V, Wasserfall C, Huang Y, Bresson D, et al. Murine antithymocyte globulin therapy alters disease progression in NOD mice by a time-dependent induction of immunoregulation. *Diabetes.* févr 2008;57(2):405-14.
170. Saudek F, Havrdova T, Boucek P, Karasova L, Novota P, Skibova J. Polyclonal anti-T-cell therapy for type 1 diabetes mellitus of recent onset. *Rev Diabet Stud RDS.* 2004;1(2):80-8.
171. Gitelman SE, Gottlieb PA, Rigby MR, Felner EI, Willi SM, Fisher LK, et al. Antithymocyte globulin treatment for patients with recent-onset type 1 diabetes: 12-month results of a randomised, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Diabetes Endocrinol.* déc 2013;1(4):306-16.
172. Haller MJ, Schatz DA, Skyler JS, Krischer JP, Bundy BN, Miller JL, et al. Low-Dose Anti-Thymocyte Globulin (ATG) Preserves β -Cell Function and Improves HbA_{1c} in New-Onset Type 1 Diabetes. *Diabetes Care.* sept 2018;41(9):1917-25.
173. Chaillous L, Lefèvre H, Thivolet C, Boitard C, Lahlou N, Atlan-Gepner C, et al. Oral insulin administration and residual (β -cell function in recent-onset type 1 diabetes: a multicentre randomised controlled trial. *The Lancet.* août 2000;356(9229):545-9.
174. Pozzilli P, Pitocco D, Visalli N, Cavallo MG, Buzzetti R, Crinò A, et al. No effect of oral insulin on residual beta-cell function in recent-onset type I diabetes (the IMDIAB VII). *IMDIAB Group. Diabetologia.* août 2000;43(8):1000-4.
175. Wherrett DK, Bundy B, Becker DJ, DiMeglio LA, Gitelman SE, Goland R, et al. Antigen-based therapy with glutamic acid decarboxylase (GAD) vaccine in patients with recent-onset type 1 diabetes: a randomised double-blind trial. *Lancet Lond Engl.* 23 juill 2011;378(9788):319-27.
176. Elias D, Cohen IR. Peptide therapy for diabetes in NOD mice. *Lancet Lond Engl.* 19 mars 1994;343(8899):704-6.

177. Schloot NC, Meierhoff G, Lengyel C, Vándorfi G, Takács J, Pánczél P, et al. Effect of heat shock protein peptide DiaPep277 on beta-cell function in paediatric and adult patients with recent-onset diabetes mellitus type 1: two prospective, randomized, double-blind phase II trials. *Diabetes Metab Res Rev.* mai 2007;23(4):276-85.
178. Lazar L, Ofan R, Weintrob N, Avron A, Tamir M, Elias D, et al. Heat-shock protein peptide DiaPep277 treatment in children with newly diagnosed type 1 diabetes: a randomised, double-blind phase II study. *Diabetes Metab Res Rev.* mai 2007;23(4):286-91.
179. Huurman VAL, Decochez K, Mathieu C, Cohen IR, Roep BO. Therapy with the hsp60 peptide DiaPep277 in C-peptide positive type 1 diabetes patients. *Diabetes Metab Res Rev.* mai 2007;23(4):269-75.
180. Treatment of recent-onset type 1 diabetic patients with DiaPep277: results of a double-blind, placebo-controlled, randomized phase 3 trial. *Diabetes Care* 2014;37:1392-1400. DOI: 10.2337/dc13-1391. *Diabetes Care.* janv 2015;38(1):178.
181. Zhang Y, Chen W, Feng B, Cao H. The Clinical Efficacy and Safety of Stem Cell Therapy for Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Aging Dis.* févr 2020;11(1):141-53.
182. Gabbay MAL, Sato MN, Finazzo C, Duarte AJS, Dib SA. Effect of cholecalciferol as adjunctive therapy with insulin on protective immunologic profile and decline of residual β -cell function in new-onset type 1 diabetes mellitus. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 1 juill 2012;166(7):601-7.
183. Lebenthal Y, Brener A, Hershkovitz E, Shehadeh N, Shalitin S, Lewis EC, et al. A Phase II, Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled, Multicenter Study Evaluating the Efficacy and Safety of Alpha-1 Antitrypsin (AAT) (Glassia®) in the Treatment of Recent-Onset Type 1 Diabetes. *Int J Mol Sci.* 29 nov 2019;20(23).
184. Griffin KJ, Thompson PA, Gottschalk M, Kyllö JH, Rabinovitch A. Combination therapy with sitagliptin and lansoprazole in patients with recent-onset type 1 diabetes (REPAIR-T1D): 12-month results of a multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Diabetes Endocrinol.* sept 2014;2(9):710-8.
185. Ben-Othman N, Vieira A, Courtney M, Record F, Gjernes E, Avolio F, et al. Long-Term GABA Administration Induces Alpha Cell-Mediated Beta-like Cell Neogenesis. *Cell.* janv 2017;168(1-2):73-85.e11.
186. The Use of Glutamic Acid Decarboxylase (GAD) and Gamma-Amino Butyric Acid (GABA) in the Treatment of Type I Diabetes - Full Text View - ClinicalTrials.gov [Internet]. [cité 22 nov 2020]. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02002130>
187. Szajewska H. Effect of Lactobacillus Rhamnosus GG and Bifidobacterium Lactis BB 12 on Beta-cell Function in Children With Newly Diagnosed Type 1 Diabetes - a Randomized Controlled Trial [Internet]. [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03032354); 2017 juill [cité 19 nov 2020]. Report No.: NCT03032354. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03032354>

188. Hospices Civils de Lyon. Gene-virus Interactions Implicated in Type 1 Diabetes [Internet]. clinicaltrials.gov; 2018 mai [cité 19 nov 2020]. Report No.: NCT02804165. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02804165>
189. Curtin F, Champion B, Davoren P, Duke S, Ekinci EI, Gilfillan C, et al. A safety and pharmacodynamics study of temelimab, an antipathogenic human endogenous retrovirus type W envelope monoclonal antibody, in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Obes Metab.* juill 2020;22(7):1111-21.
190. Erlich H, Valdes AM, Noble J, Carlson JA, Varney M, Concannon P, et al. HLA DR-DQ haplotypes and genotypes and type 1 diabetes risk: analysis of the type 1 diabetes genetics consortium families. *Diabetes.* avr 2008;57(4):1084-92.
191. Nokoff N, Rewers M. Pathogenesis of type 1 diabetes: lessons from natural history studies of high-risk individuals. *Ann N Y Acad Sci.* avr 2013;1281:1-15.
192. Graham J, Hagopian WA, Kockum I, Li LS, Sanjeevi CB, Lowe RM, et al. Genetic effects on age-dependent onset and islet cell autoantibody markers in type 1 diabetes. *Diabetes.* mai 2002;51(5):1346-55.
193. Krischer JP, Lynch KF, Schatz DA, Ilonen J, Lernmark Å, Hagopian WA, et al. The 6 year incidence of diabetes-associated autoantibodies in genetically at-risk children: the TEDDY study. *Diabetologia.* mai 2015;58(5):980-7.
194. Vehik K, Lynch KF, Schatz DA, Akolkar B, Hagopian W, Rewers M, et al. Reversion of β -Cell Autoimmunity Changes Risk of Type 1 Diabetes: TEDDY Study. *Diabetes Care.* sept 2016;39(9):1535-42.
195. Barker JM, Barriga KJ, Yu L, Miao D, Erlich HA, Norris JM, et al. Prediction of autoantibody positivity and progression to type 1 diabetes: Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY). *J Clin Endocrinol Metab.* août 2004;89(8):3896-902.
196. Yu J, Yu L, Bugawan TL, Erlich HA, Barriga K, Hoffman M, et al. Transient antiislet autoantibodies: infrequent occurrence and lack of association with « genetic » risk factors. *J Clin Endocrinol Metab.* juill 2000;85(7):2421-8.
197. Ziegler AG, Hummel M, Schenker M, Bonifacio E. Autoantibody appearance and risk for development of childhood diabetes in offspring of parents with type 1 diabetes: the 2-year analysis of the German BABYDIAB Study. *Diabetes.* mars 1999;48(3):460-8.
198. Koczwara K, Bonifacio E, Ziegler A-G. Transmission of maternal islet antibodies and risk of autoimmune diabetes in offspring of mothers with type 1 diabetes. *Diabetes.* janv 2004;53(1):1-4.
199. Yamamoto AM, Deschamps I, Garchon HJ, Roussely H, Moreau N, Beaurain G, et al. Young age and HLA markers enhance the risk of progression to type 1 diabetes in antibody-positive siblings of diabetic children. *J Autoimmun.* déc 1998;11(6):643-50.
200. the Finnish Pediatric Diabetes Register, Turtinen M, Härkönen T, Parkkola A, Ilonen J, Knip M. Characteristics of familial type 1 diabetes: effects of the relationship to the affected family member on phenotype and genotype at diagnosis. *Diabetologia.* nov 2019;62(11):2025-39.

201. Harjutsalo V, Reunanen A, Tuomilehto J. Differential transmission of type 1 diabetes from diabetic fathers and mothers to their offspring. *Diabetes*. mai 2006;55(5):1517-24.
202. Krischer JP, Liu X, Lernmark Å, Hagopian WA, Rewers MJ, She J-X, et al. The Influence of Type 1 Diabetes Genetic Susceptibility Regions, Age, Sex, and Family History on the Progression From Multiple Autoantibodies to Type 1 Diabetes: A TEDDY Study Report. *Diabetes*. 2017;66(12):3122-9.
203. Kukko M, Kimpimäki T, Korhonen S, Kupila A, Simell S, Veijola R, et al. Dynamics of Diabetes-Associated Autoantibodies in Young Children with Human Leukocyte Antigen-Conferred Risk of Type 1 Diabetes Recruited from the General Population. *J Clin Endocrinol Metab*. 1 mai 2005;90(5):2712-7.
204. Parikka V, Näntö-Salonen K, Saarinen M, Simell T, Ilonen J, Hyöty H, et al. Early seroconversion and rapidly increasing autoantibody concentrations predict prepubertal manifestation of type 1 diabetes in children at genetic risk. *Diabetologia*. juill 2012;55(7):1926-36.
205. Pugliese A, Gianani R, Moromisato R, Awdeh ZL, Alper CA, Erlich HA, et al. HLA-DQB1*0602 is associated with dominant protection from diabetes even among islet cell antibody-positive first-degree relatives of patients with IDDM. *Diabetes*. juin 1995;44(6):608-13.
206. Rewers A, Chase HP, Mackenzie T, Walravens P, Roback M, Rewers M, et al. Predictors of acute complications in children with type 1 diabetes. *JAMA*. 15 mai 2002;287(19):2511-8.
207. Rewers A, Klingensmith G, Davis C, Petitti DB, Pihoker C, Rodriguez B, et al. Presence of diabetic ketoacidosis at diagnosis of diabetes mellitus in youth: the Search for Diabetes in Youth Study. *Pediatrics*. mai 2008;121(5):e1258-1266.
208. Lundgren M, Sahlin Å, Svensson C, Carlsson A, Cedervall E, Jönsson B, et al. Reduced morbidity at diagnosis and improved glycemic control in children previously enrolled in DiPiS follow-up. *Pediatr Diabetes*. nov 2014;15(7):494-501.
209. Chan CL, Taki I, Dong F, Hoffman M, Norris JM, Klingensmith G, et al. Comparison of Metabolic Outcomes in Children Diagnosed with Type 1 Diabetes Through Research Screening (Diabetes Autoimmunity Study in the Young [DAISY]) Versus in the Community. *Diabetes Technol Ther*. sept 2015;17(9):649-56.
210. Smith LB, Liu X, Johnson SB, Tamura R, Elding Larsson H, Ahmed S, et al. Family adjustment to diabetes diagnosis in children: Can participation in a study on type 1 diabetes genetic risk be helpful? *Pediatr Diabetes*. 2018;19(5):1025-33.
211. Yu MS, Norris JM, Mitchell CM, Butler-Simon N, Groshek M, Follansbee D, et al. Impact on maternal parenting stress of receipt of genetic information regarding risk of diabetes in newborn infants. *Am J Med Genet*. 17 sept 1999;86(3):219-26.
212. Ludvigsson J, Ludvigsson M, Sepa A. Screening for prediabetes in the general child population: maternal attitude to participation. *Pediatr Diabetes*. déc 2001;2(4):170-4.

213. Lernmark B, Elding-Larsson H, Hansson G, Lindberg B, Lynch K, Sjöblad S. Parent responses to participation in genetic screening for diabetes risk. *Pediatr Diabetes*. déc 2004;5(4):174-81.
214. Galatzer A, Green E, Ofan R, Benzaquen H, Yosefsberg Z, Weintrob N, et al. Psychological impact of islet cell antibody screening. *J Pediatr Endocrinol Metab JPEM*. 2001;14 Suppl 1:675-9.
215. Gustafsson Stolt U, Liss P-E, Ludvigsson J, Abis Study Group. Parents want to know if their child is at high risk of getting diabetes. *Ann N Y Acad Sci*. nov 2003;1005:395-9.

AUTEUR : LEMOINE Thomas

Date de soutenance : 4 décembre 2020

Titre de la thèse : Etude descriptive d'une cohorte d'enfants apparentés à des sujets diabétiques de type 1

Thèse - Médecine - Lille 2020

Cadre de classement : Diabétologie

DES + spécialité : Endocrinologie-Diabétologie-Nutrition

Mots-clés : Diabète de type 1, auto-anticorps, pré-diabète de type 1, génotype HLA, anticorps transitoire, analyse de risque, dépistage, antécédent familial

Résumé :

Contexte : Le diabète de type 1 est une maladie chronique dont le processus pathologique est initié plusieurs années avant l'apparition des symptômes cliniques. Cette phase asymptomatique est le pré-diabète. L'incidence annuelle est en constante augmentation. Les plus fortes augmentations observées de l'incidence du diabète de type 1 concernent les enfants de moins de 15 ans. Il survient de manière sporadique dans 90% des cas. Cependant, les individus présentant une histoire familiale de diabète de type 1 ont un risque 20 fois supérieur à celui de la population générale et sont susceptibles de bénéficier d'un dépistage.

Méthodes : Le centre de dépistage du diabète de type 1 ouvert en 1996 à l'initiative des pédiatres diabétologues et des diabétologues adultes suit annuellement des enfants apparentés de diabétiques de type 1. Pour chaque enfant non atteint, une étude des marqueurs génétiques (HLA de classe II) et un suivi annuel des marqueurs immunologiques (GAD, AAI, ICA, IA-2) étaient réalisés. L'objectif principal de notre étude est d'évaluer la proportion d'enfants ayant développé une auto-immunité et ceux devenus diabétiques. Les objectifs secondaires sont de décrire les profils sérologiques des enfants ayant développé une auto-immunité et d'évaluer le risque de devenir diabétique.

Résultats : Parmi les 587 enfants, 16,4 % ont eu au moins un anticorps persistant et 2,7% sont devenus diabétiques. Une plus grande proportion d'enfants avec un génotype HLA DR3/4 développait un auto-anticorps au cours du suivi. Les enfants développant leur 1^{er} anticorps avant 8 ans développaient plus souvent de multiples anticorps au cours du suivi (61,5% vs. 28,1% ; p=0,001). 32,3% des enfants séroconvertis ont négativé tous leurs anticorps à la dernière visite et aucun n'a développé un diabète. Le risque de progresser vers un diabète à 5 ans augmente avec le nombre d'anticorps au cours du suivi (4,2%, 5,3%, 59,6% et 45,1 %, respectivement pour 1, 2, 3 et 4 anticorps). La présence de multiples anticorps au moment de la séroconversion augmente de presque 14,5 fois le risque de développer un diabète de type 1 (HR 14,46 [4,97-42,07]).

Conclusion : Notre étude permet d'évaluer le risque de développer un diabète de type 1 chez les enfants apparentés de diabétiques de type 1 dans une cohorte française. La présence de multiples anticorps au cours du suivi augmente ce risque. La présence d'un seul anticorps au cours du suivi et/ou une séroconversion éphémère diminue ce risque. Ces données françaises sont à ce jour les seules existantes et pourraient être à disposition en cas de nouveaux protocoles de prévention.

Composition du Jury :

Président : Monsieur le Professeur Pierre FONTAINE

Assesseurs : Monsieur le Professeur Pascal PIGNY
Madame le Docteur Isabelle FAJARDY
Madame le Docteur Clara LEROY

Directeur de thèse : Madame le Professeur Anne VAMBERGUE