

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE „IULIU HAȚIEGANU” CLUJ-NAPOCA
ROMÂNIA**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

**IMPLICAȚIILE STRESULUI OXIDATIV ÎN PATOLOGIA
AUTOIMUN-INFLAMATORIE A COPILULUI**

DOCTORAND: ANDREEA LIANA RĂCHIȘAN

CONDUCĂTOR DE DOCTORAT: Prof. Dr. NICOLAE MIU

2012

INTRODUCERE	3
Studiul 1 – Evaluarea activității 8-isoprostaglandin F_{2α} - marker de stress oxidativ <i>in vivo</i> la pacienții pediatrici cu diabet zaharat tip I si autoimunități asociate	4
Introducere	4
Obiective	4
Material și metodă	4
Concluzii	4
Studiul 2 – Profilul activităților enzimatiche ale paraoxonazei-1 la pacienții pediatrici cu diabet zaharat tip I si autoimunități asociate	5
Introducere	5
Obiective	5
Material și metodă	5
Concluzii	6
Studiul 3 – Evaluarea activității lactonazice a paraoxonazei-1 la pacienții pediatrici cu diabet zaharat tip I si autoimunități asociate	6
Introducere	6
Obiective	6
Material și metodă	7
Concluzii	7
Studiul 4 – Statusul oxidant/antioxidant la un lot de pacienți pediatrici cu diabet zaharat tip I și alte boli	7
Introducere	7
Obiective	8
Material și metodă	8
Concluzii	8

Cuvinte cheie: diabet, stres oxidativ, 8isoprostaglandinF2alpha, paraoxonaza-1.

Există o evidență îngrijorătoare privind participarea speciilor reactive ale oxigenului (SRO) în etiopatogenia unor afecțiuni cronice. Interesul crescând față de stresul oxidativ și de implicarea lui în patologii se justifică prin rolul esențial pe care îl joacă acesta în apariția unor leziuni specifice celulare, tisulare sau de organ denumite generic leziuni oxidative.

Tema prezentei teze este stresul oxidativ în patologia autoimun-inflamatorie a copilului, mai exact în diabetul zaharat tip I (DZ tip I), alegerea fiind justificată de creșterea frecvenței acestei entități clinice, importantă cauză de morbiditate. DZ tip I trebuie considerat un sindrom complex, heterogen, de tulburări care pot avea o etiologie diferită, dar care au în comun hiperglicemia asociată cu modificări lipidice și proteice majore. Reprezintă, de asemenea, o problemă de sănătate publică, dacă considerăm vârsta din ce în ce mai mică de debut și caracterul cronic al acestei entități.

Deși există unele similitudini clinice și evolutive, copiii cu DZ tip I diferă totuși considerabil față de adulții cu DZ tip I, având un control metabolic deficitar, de-a lungul timpului învâțând că paradigmele aplicabile în evaluarea adulților au o valoare limitată în pediatrie.

În ultimii ani, au avut loc câteva schimbări majore în abordarea pacienților cu DZ tip I, punându-se accent pe controlul metabolic și profilul lipidic, ridicându-se posibilitatea utilizării și altor agenți terapeutici asociați insulinoterapiei. În pofida acestor progrese considerabile, cunoscându-se etiopatogeneza DZ tip I, există unele verigi patogenetice încă necunoscute.

Tocmai aceste deficiențe, cu o posibilă aplicare în practica clinică, au generat ideea de bază a cercetării cuprinse în teză. Mi-am propus studierea unui important marker de stres oxidativ in vivo 8 isoprostaglandin F2 α și a celor 3 activități enzimatică a paraoxonazei-1 ca și factor antioxidant/antiaterogen la un lot de pacienți pediatrici suferinzi de DZ tip I.

Cercetarea de față a fost efectuată prospectiv pe un lot de pacienți DZ tip I și alte boli autoimune asociate, aflați în evidența Clinicii Pediatrie II Cluj Napoca. Deși dimensiunea eșantionului studiat a fost destul de redusă (fapt derivat din incidența scăzută a patologiei în populația generală), studiile efectuate au oferit, pentru prima dată în România, date semnificative legate de relevanța clinică a unui marker de stres oxidativ in vivo la pacienți pediatrici. În plus, determinarea profilului activităților enzimatică ale paraoxonazei 1, în corelație cu controlul metabolic și profilul lipidic s-a dovedit a aduce informații importante privind posibilitatea apariției complicațiilor macrovasculare la pacienții din lotul studiat. Studiul balanței oxidativ/antioxidante la pacienții pediatrici din lotul luat în studiu a adus date importante privind rolul hiperglicemiei în generarea și întreținerea reacțiilor de stres oxidativ.

Studiu 1. Evaluarea activității 8-iso-prostaglandin $F_{2\alpha}$ -marker de stres oxidativ in vivo la pacienții pediatrici cu diabet zaharat tip I și autoimunități asociate

Introducere : Stresul oxidativ și reacțiile inflamatorii sunt cunoscute a deține un rol important atât în etiopatogenia cât și în întreținerea unor entități clinice acute sau cronice. Eicosanoidele, în special prostaglandina $F_{2\alpha}$ și F_2 -isoprostanii sunt compuși endogeni care sunt implicați atât în procese fiziologice cât și în procese patologice. Isoprostanii, un grup de compuși prostaglandin-like, produși activi ai acidului arahidonic, sunt dovediți a fi biomarkeri reprezentativi ai peroxidării lipidice. Studii in vitro au demonstrat ca hiperglicemia, chiar fluctuantă, duce la modificări ale endoteliului vascular datorită producției excesive de superoxizi la nivel mitocondrial. Pentru a identifica apariția radicalilor superoxid in vivo, diverși markeri de stres oxidativ au fost descoperiți, precum: 8-iso-prostaglandin $F_{2\alpha}$ - marker al peroxidării lipidice, radicalul protein carbonil - marker al oxidării proteice și 8-hidroxi-2'-deoxiguanozina- indicator al deteriorării oxidative a ADN in vivo.

Obiective: (1) determinarea activității $8iPGF_{2\alpha}$ serice la pacienți pediatrici cu DZ tip I și la un grup de control, (2) stabilirea unei eventuale corelații între activitatea $8iPGF_{2\alpha}$ și prezența de boli autoimune asociate asociate DZ tip I, (3) identificarea unei eventuale corelații între $8iPGF_{2\alpha}$ și valoarea hemoglobinei glicozilate, (4) stabilirea unei posibile corelații între markerii de autoimunitate pancreatică GAD65, IA2, IA și activitatea $8iPGF_{2\alpha}$ în lotul de pacienți cu DZ tip I și alte boli autoimune asociate.

Material și metodă: Acest studiu de tip caz-martor, include 51 de pacienți cu DZ tip I și 27 de martori cu caracteristici demografice similare (vârstă, sex, etnie). Determinarea $8iPGF_{2\alpha}$ s-a realizat prin metodă ELISA. Pentru compararea parametrilor clinici cu interval de referință s-a aplicat testul *t*. Pentru parametri fără intervale de referință s-a aplicat testul Mann – Whitney. Coeficientul de corelație Spearman a fost folosit pentru aprecierea corelației între activitatea $8iPGF_{2\alpha}$ și controlul metabolic . Nivelul unui $p < 0.05$ a fost considerat semnificativ statistic.

Concluzii:

(1) Reacțiile de stres oxidativ sunt mai intense la pacienții cu diabet zaharat tip I comparativ cu pacienții sănătoși [$8iPGF_{2\alpha}$: $2090,6 \pm 3536,5$ în lotul de pacienți cu DZ tip I și valori de $509,9 \pm 493,5$ în lotul martor, cu un $p = 0.03$], $8iPGF_{2\alpha}$ fiind un marker ideal pentru determinarea reacțiilor oxidative in vivo.

(2) Reacțiile oxidative nu sunt mai intense la pacienții care asociază DZ tip I și alte boli autoimune [$8iPGF_{2\alpha}$ la pacienții cu DZ tip I fără alte boli autoimune asociate ($n=38$) obținându-se $2178,19 \pm 4017,05$ vs $1834,95 \pm 1504,73$ cu DZ tip I și boli autoimune asociate, cu o valoare $p=0.76$], astfel încât putem afirma că reacțiile oxidative pot face parte în general din lanțul patogenetic al bolilor autoimune, nu ca și factor trigger, ci ca și un factor de întreținere.

(3) Un control metabolic corespunzător poate să ducă la atenuarea reacțiilor de stres oxidativ, astfel putem afirma că poate duce consecutiv la întârzierea apariției complicațiilor pe termen lung în DZ tip I [corelație între $8iPGF_{2\alpha}$ și valoarea HbA_{1c} , obținându-se un coeficient de corelație $r=0,38$ și un $p=0.0057$].

(4) Fenomenul de autoimunitate pancreatică nu este influențat de reacțiile de stres oxidativ prezente la pacienții cu DZ tip I, dar ar putea potența și întreține fenomenul de distrucție autoimună prezentă la acești pacienți.

(5) Stresul oxidativ este un « epifenomen » care întreține și uneori poate potența fenomenul în sine de autoimunitate pancreatică la pacienții cu DZ tip I.

Studiu 2. Profilul activităților enzimaticice ale paraoxonazei 1 la pacienții cu diabet zaharat tip I și autoimunități asociate

Introducere : În diabetul zaharat tip I (DZ tip I) nivelul PON1 este scăzut, aceasta datorându-se, în parte, accentuării reacțiilor de peroxidare lipidică, care sunt responsabile de dezvoltarea timpurie a complicațiilor diabetice macrovasculare. Nivelul scăzut al PON1 în serul pacienților cu DZ tip I nu este pe deplin explicat. În DZ tip I pacienții sunt expuși unui status de hiperglicemie cronică, iar prima consecință a acestui fapt este glicarea unei proteine care este monitorizată prin hemoglobina A_{1c} (HbA_{1c}).

Obiective : (1) determinarea celor trei activități (lactonazică, arilesterazică și paroxonazică) a PON1 la pacienți pediatrici cu DZ tip I și la un grup de control, (2) stabilirea unei eventuale corelații între activitățile enzimaticice a PON1 și prezența unei alte boli autoimune asociate DZ tip I, (3) identificarea unei eventuale variabilități a PON1 în funcție de sex, vechimea evolutivă a DZ tip I și de valoarea peptidului C constituie un ultim obiectiv al studiului.

Material și metodă : Acest studiu de tip caz-martor, include 51 de pacienți cu DZ tip I și 36 de martori cu caracteristici demografice similare (vârstă, sex, etnie). Determinarea activităților enzimaticice PON1 s-a realizat prin metodă de determinare spectrofotometrică. Pentru compararea parametrilor clinici cu interval de referință s-a aplicat testul t . Pentru

parametri fără intervale de referință s-a aplicat testul Mann – Whitney. Coeficientul de corelație Spearman aprecierea corelației între activitatea PON1 și controlul metabolic și parametri de autoimunitate pancreatică. Nivelul unui $p < 0.05$ a fost considerat semnificativ statistic.

Concluzii:

(1) Profilul enzimatic al paraoxonazei 1 poate fi diferit în funcție de activitățile enzimatiche. Activitatea nativă lactonazică a PON1 poate fi corelată cu statusul de boală în DZ tip I. Bolile autoimune asociate DZ tip I nu par să influențeze activitățile enzimatiche ale PON1.

(2) Activitatea arilesterazică a PON1 pare să prezinte o tendință de scădere la sexul feminin față de sexul masculin [70.12±13.22 versus 80.69±18.06].

(3) Posibila corelație între activitatea enzimatică a PON1 și nivelul anticorpilor antiinsulină, poate susține rolul PON1 în biosinteza insulinei [corelație între PON1-P și IAA ($p=0.045$) și o posibilă corelație între PON1-A și IAA ($p=0.052$)].

(4) Peptidul C reprezintă un parametru ideal în evaluarea funcției restante a celulelor β pancreatice [valoarea medie peptid C 0.42±0.64, cu un coeficient de corelație inversă semnificativ între peptidul C și vechimea evolutivă a DZ tip I ($r=-0.40$, $p=0.002$)].

(5) Toate aceste aspecte ridică posibilitatea ca peptidul C să devină noua țintă terapeutică împreună cu PON1, prin îmbunătățirea funcției secretorii a celulelor β pancreatice.

Studiu 3. Evaluarea activității lactonazice a paraoxonazei 1 la pacienții pediatrici cu diabet zaharat tip I și autoimunități asociate

Introducere : Pacienții cu diabet zaharat tip I (DZ tip I) pot asocia frecvent complicații microvasculare, respectiv macrovasculare pe termen lung. Intervalul de timp pentru apariția acestora variază de la un individ la altul. Factori, precum valoarea hemoglobinei glicozilate sau durata de la debutul diabetului zaharat tip I, sunt cei mai importanți indicatori pentru apariția complicațiilor. PON 1 este o esterază calciu dependentă, legată de apolipoproteina A1 - care conține HDL-colesterolul. Activitatea scăzută a PON1 duce la creșterea oxidării lipidice la pacienții cu DZ tip I, proces care pare să joace un rol central în distrugerea celulelor endoteliale. Astfel, activitatea scăzută a PON1 duce la disfuncția endotelială și în timp la apariția complicațiilor pe termen lung în DZ tip I.

Obiective: (1) evaluarea activitatea lactonazică a PON1 la pacienții cu diabet zaharat tip I cu/fără autoimunități asociate, comparativ cu un lot de pacienți sănătoși, (2) stabilirea unei eventuale corelații între activitatea lactonazică a PON1 și controlul metabolic (HbA1 și

profilul lipidic) în apariția complicațiilor macrovasculare în DZ tip I și în autoimunitățile asociate (tiroidită autoimună, boală celiacă, artrită juvenilă idiopatică), (3) demonstrarea unei diferențe între activitatea lactonazică a PON1 la pacienții cu DZ tip I și cei cu DZ tip I cu autoimunități asociate, reprezintă un alt obiectiv al acestui studiu.

Material și metodă : Acest studiu de tip caz-martor, include 51 de pacienți cu DZ tip I și 36 de martori cu caracteristici demografice similare (vârstă, sex, etnie). Determinarea activităților enzimice PON1 s-a realizat prin metodă de determinare spectrofotometrică. Pentru compararea parametrilor clinici cu interval de referință s-a aplicat testul *t*. Pentru parametri fără intervale de referință s-a aplicat testul Mann – Whitney. Coeficientul de corelație Spearman aprecierea corelației între activitatea PON1 și controlul metabolic și parametri de autoimunitate pancreatică. Nivelul unui $p < 0.05$ a fost considerat semnificativ statistic.

Concluzii:

(1) Activitatea lactonazică scăzută a PON1 sugerează insuficienta capacitate a HDL-colesterolului de a proteja împotriva oxidării lipidice la pacienții cu DZ tip I, astfel dislipidemia reprezentând un factor important în dezvoltarea leziunilor aterosclerotice, ducând la apariția complicațiilor macrovasculare la pacienții cu DZ tip I.

(2) Bolile autoimune asociate (tiroidită autoimună, boala celiacă, artrită juvenilă idiopatică) asociate par să nu influențeze profilul lipidic și nici activitatea enzimatică a PON1 la pacienții cu DZ tip I.

(3) Controlul metabolic deficitar, exprimat prin valoarea crescută a HbA1 pare să nu fie factorul critic în modularea activității PON1, și astfel în scăderea capacității antiaterogene a acesteia.

Studiu 4. Statusul oxidant/antioxidant la un lot de pacienți pediatrici cu diabet zaharat tip I și alte boli autoimune asociate

Introducere: Diabetul zaharat tip I (DZ tip I) este o boală autoimună în care eliberarea radicalilor liberi de oxigen și a citokinelor proinflamatorii potențează distrugerea celulelor β pancreatice. Date recente sugerează prezența reacțiilor de stres oxidativ mai intense la pacienții diabetici față de martori sănătoși, cu o posibilă contribuție la dezvoltarea complicațiilor micro – și macrovasculare. Proprietățile antiaterogene ale HDL-colesterolului pot fi datorate unor enzime cu rol antioxidant cum ar fi factorul de activare plachetară sau paraoxonaza 1. Multiple studii in vitro și in vivo au arătat asocierea între scăderea activității paraoxonazei 1 și severitatea aterosclerozei. La pacienții cu diabet

zaharat tip 1 a fost raportat un nivel scăzut al activității paraoxonazei, indiferent de nivelul plasmatic al HDL colesterolului. Nivelul scăzut al paraoxonazei 1 este puternic corelat cu riscul de a dezvolta complicații pe termen lung la pacienții diabetici, lucru datorat în special proprietăților sale antioxidante.

Obiective: (1) evaluarea parametrilor demografici, metabolici, activitățile enzimaticice ale PON1 și activitatea de stres oxidativ la pacienții cu DZ tip I fără boli autoimune asociate versus pacienții cu DZ tip I cu boli autoimune asociate, (2) stabilirea unei posibile corelații între activitățile enzimaticice ale PON1 și activitatea $8iPGF_{2\alpha}$.

Material și metodă: Lotul de studiu este format din 51 de pacienți cu DZ tip I, cu vârsta cuprinsă între $11,65 \pm 4,10$. Grupul de studiu a fost divizat în funcție de sex (31 băieți, 20 fete) și în funcție de asocierea altor boli autoimune asociate cu DZ tip I (38 pacienți cu DZ tip I fără alte autoimunități asociate și 13 pacienți cu DZ tip I + boli autoimune asociate). Determinarea $8iPGF_{2\alpha}$ s-a realizat prin metodă ELISA, iar activitățile enzimaticice ale PON1 prin metodă spectrofotometrică.

Concluzii:

(1) Bolile autoimune asociate DZ tip I (tiroidita autoimună, boala celiacă, artrita juvenilă idiopatică) sunt prezente cu aceeași incidență în lotul studiat ca și datele din literatură. Factorii de risc care cresc incidența acestor asocieri fiind: sexul feminin, vârsta tardivă a debutului DZ tip I și durata evoluției DZ tip I mai îndelungată.

(2) Profilul lipidic și controlul metabolic la pacienții cu DZ tip I este similar atât în grupul de pacienți cu boli autoimune asociate cât și în grupul de pacienți fără asocieri autoimune.

(3) Profilul activităților enzimaticice ale paraoxonazei 1 și $8iPGF_{2\alpha}$ este similar la grupul de pacienți cu DZ tip I fără/cu boli autoimune asociate.

(4) Statusul oxidant/antioxidant la pacienții cu DZ tip I este similar și la cei cu DZ tip I și boli autoimune asociate. Hiperglicemia cronică se pare că influențează balanța oxidanți/antioxidanți, atât prin intensificarea reacțiilor oxidative cât și prin scăderea activității antioxidantilor. Posibilitatea închiderii cercului vicios al memoriei hiperglicemice ar putea duce la normalizarea balanței oxidativ/antioxidante la pacienții cu DZ tip I.

(5) Aceste date pot sugera necesitatea unei terapii asociate insulinoterapiei, prin prevenția producerii de radicali liberi. Utilizarea antioxidantilor poate teoretic reduce producția de radicali, dar aceasta previne doar parțial efectele glucotoxicității.

**THE IMPLICATIONS OF OXIDATIVE STRESS IN THE
AUTOIMMUNE INFLAMMATORY PATHOLOGY IN CHILDREN**

Ph. D. CANDIDATE: ANDREEA LIANA RĂCHIȘAN

COORDINATOR: Prof. Dr. NICOLAE MIU

2012

Keywords: diabetes, oxidative stress, 8isoprostaglandinF2alpha, paraoxonase-1.

There is worrisome evidence regarding the participation of reactive oxygen species (ROS) in the etiopathogeny of certain chronic diseases. The growing interest shown in the oxidative stress and in its contribution to pathology is justified by the essential role the latter has in the occurrence of several cellular, tissue or organ specific lesions, generically called oxidative lesions.

The topic covered by the thesis presented herein is *oxidative stress in the autoimmune inflammatory pathology in children*, more precisely *diabetes mellitus type 1 (DM type 1)*. Our choice was determined by the increasing occurrence of this clinical entity, a leading cause of morbidity. DM type 1 should be perceived as a complex, heterogeneous syndrome of disorders which may have a different etiology but which all have in common hyperglycemia associated with major lipid and protein changes. It also represents a public health issue, if we take into account the ever decreasing onset age and the chronic character of this entity.

Although there are clinical and evolution related similarities, children with DM type 1 differ significantly from adults with DM type 1, since the former have poor metabolic control. We have learnt that the paradigms applicable to the evaluation of adults have limited use in paediatrics.

Throughout the past couple of years, there have been major changes in approaching patients with DM type 1, with focus on metabolic control and the lipid profile, raising the possibility of using other therapeutic agents in combination with insulin therapy. Despite the considerable progress made – the etiopathogeny of DM type 1 is now known – there are several unknown pathogenetical links.

It is these very deficiencies, with a possible application to clinical practice, that prompted us to initiate this research. We have attempted to study an important oxidative stress marker *in vivo* – 8-iso-prostaglandin F₂α, as well as the 3 enzymatic activities of paraoxonase-1 as an antioxidant/antiatherogenic factor in a paediatric patient group with DM type 1.

The research presented herein has been conducted prospectively on a group of patients of the Paediatric Clinic no. 2 of Cluj-Napoca, with DM type 1 and other associated autoimmune deficiencies. Although the studied sample population was relatively small (this is due to the low incidence of the pathology in the general population), the studies offered, for the first time in Romania, significant data regarding the clinical relevance of an oxidative stress marker *in vivo* in paediatric patients. Furthermore, the determination of the profile of the enzymatic activities of paraoxonase-1, in combination with the metabolic control and lipid profile proved to bring forward important information regarding the risks of

macrovascular complications in the studied patient group. The analysis of the oxidative/antioxidant relation in the paediatric patients of the studied group brought about essential data regarding the role of hyperglycemia in the initiation and maintenance of oxidative stress reactions.

Study 1. Assessment of the activity of 8-iso-prostaglandin $F_{2\alpha}$ -oxidative stress marker *in vivo* in paediatric patients with diabetes mellitus type 1 and associated autoimmunities

Introduction: Oxidative stress and inflammatory reactions are known to hold an important role both in the etiopathogeny and in the maintenance of acute or chronic clinical entities. Eicosanoids, especially prostaglandin $F_{2\alpha}$ and F_2 - isoprostanes are endogenous compounds involved both in physiological processes and in pathological processes. Isoprostanes, a group of prostaglandin-like compounds, active products of arachidonic acid have been shown to be representative biomarkers of lipid peroxidation. Studies performed *in vitro* have indicated that hyperglycemia, albeit fluctuant, leads to changes in the vascular endothelium due to the excessive production of superoxides at the mitochondrial level. In order to identify the emergence of superoxide radicals *in vivo*, various oxidative stress markers have been discovered, such as 8-iso-prostaglandin $F_{2\alpha}$ – marker of lipid peroxidation, the protein-carbonyl radical – marker of protein oxidation and 8-hydroxyguanosine – marker of the oxidative deterioration of DNA *in vivo*.

Objectives: (1) – determining the activity of serous 8iPGF $_{2\alpha}$ in paediatric patients with DM type 1 and in a control group, (2) establishing a possible correlation between the activity of 8iPGF $_{2\alpha}$ and the presence of an autoimmune disease associated with DM type 1, (3) identifying a possible correlation between 8iPGF $_{2\alpha}$ and the value of glycosylated haemoglobin, (4) establishing a possible correlation between pancreatic autoimmune markers GAD65, IA2, IA and the activity of 8iPGF $_{2\alpha}$ in the group of patients with DM type 1 and other associated autoimmune diseases.

Materials and method: This case-witness study included 52 patients with DM type 1 and 27 witnesses with similar demographic features (age, gender, ethnicity). The determination of 8iPGF $_{2\alpha}$ was carried out through the ELISA method. For comparing clinical parameters with reference ranges, we applied the *t* test. For parameters without reference ranges, we applied the Mann-Whitney test. The Spearman correlation coefficient was used for assessing correlation between the activity of 8iPGF $_{2\alpha}$ and metabolic control. A level of $p < 0,05$ was considered statistically significant.

Conclusions:

(1) The oxidative stress reactions are more intense in patients with diabetes mellitus type 1 than in healthy individuals [8iPGF_{2α} :2090.6±3536.5 in the DM type 1 patient group and 509.9±493.5 in the witness group, with p=0.03]. 8iPGF_{2α} is an ideal marker for determining oxidative reactions in vivo.

(2) Oxidative reactions are not more intense in patients with DM type 1 associated with other autoimmune diseases [8iPGF_{2α} 2178.19 ± 4017.05 in patients with DM type 1 without other associated autoimmune diseases (n=38) vs. 1834,95 ± 1504,73 in patients with DM type 1 and other associated autoimmune diseases, with p=0.76]. We can thus assert that oxidative reactions may generally be part of the pathogenetical chain of autoimmune diseases, not as a trigger factor, but as a maintenance factor.

(3) An appropriate metabolic control may lead to the attenuation of oxidative stress reactions. It can be thus asserted that this may consecutively lead to the postponement of the onset of long-term complications in DM type 1 [correlation between 8iPGF_{2α} and the HbA_{1c} value, obtaining a correlation coefficient r=0.38 and a p=0.0057].

(4) The pancreatic autoimmune phenomenon is not influenced by oxidative stress reactions present in patients with DM type 1, but might intensify and maintain the phenomenon of autoimmune destruction present in these patients.

(5) Oxidative stress is an "epiphenomenon" which maintains and sometimes intensifies the pancreatic autoimmune phenomenon as such in patients with DM type 1.

Study 2. The profile of enzymatic activities of paraoxonase 1 in patients with diabetes mellitus type 1 and associated autoimmune conditions

Introduction: In diabetes mellitus type 1 (DM type 1) the PON1 level is low. This is partly due to the proliferation of lipid peroxidation reactions, responsible for the early development of macrovascular complications associated with diabetes. The low level of PON1 in the serum of patients with DM type 1 is not fully explained. Patients with DM type 1 are exposed to a status of chronic hyperglycemia, and the first consequence of this fact is the glycation of a protein monitored through haemoglobin A_{1c} (HbA_{1c})

Objectives: (1) determining the three activities (lactonase, arylesterase and paraoxonase) of PON1 in paediatric patients with DM type 1 and in a control group, (2) establishing a possible correlation between the enzymatic activities of PON1 and the presence of another autoimmune disease associated with DM type 1, (3) the last objective of the study is the identification of a possible variability of PON1 based on gender, time of evolution of DM type 1 and to the value of the C peptide.

Materials and method: This case-witness study included 51 patients with DM type 1 and 36 witnesses with similar demographic features (age, gender, ethnicity). The determination of the enzymatic activities of PON1 was carried out through spectrophotometric determination method. For parameters without reference ranges, we applied the Mann-Whitney test. The Spearman correlation coefficient was used for assessing correlation between the activity of PON1, metabolic control and the pancreatic autoimmune parameters. A level of $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Conclusions

(1) The enzymatic profile of paraoxonase 1 may differ according to enzymatic activities. The native lactonase activity of PON1 may be correlated with the disease status in DM type 1. Autoimmune conditions associated with DM type 1 do not appear to influence the enzymatic activities of PON1.

(2) The arylsterase activity of PON1 appears to show a decreasing trend in female patients as compared to male patients [70.12 ± 13.22 vs. 80.69 ± 18.06].

(3) The possible correlation between the enzymatic activity of PON1 and the level of anti-insulin antibodies may support the role of PON1 in the biosynthesis of insulin [correlation between PON1-P and IAA ($p = 0,045$) and a possible correlation between PON1-A and IAA ($p = 0,052$)].

(4) The C peptide is an ideal parameter for the assessment of the remaining function of β pancreatic cells [average C peptide value 0.42 ± 0.64 , with a significant reverse correlation coefficient between the C peptide and the evolutive age of DM type 1 ($r = -0.40$, $p = 0.002$)].

(5) All these aspects raise the possibility that the C peptide along with PON1 becomes the new therapeutic target, through the enhancement of the secretory function of β pancreatic cells.

Study 3. Assessing the lactonase activity of paraoxonase 1 in paediatric patients with diabetes mellitus type 1 and associated autoimmunity conditions

Introduction: Patients with diabetes mellitus type 1 (DM type 1) may often have associated microvascular or macrovascular complications on the long term. The time span for the onset thereof varies from an individual to another. Factors, such as the value of glycosylated haemoglobin or the duration from the onset of diabetes mellitus type 1, are the most important indicators for the occurrence of complications. PON1 is a dependant calcium esterase linked to the apolipoprotein A1 – which contains HDL cholesterol. The low activity of PON1 leads to the increase of the lipid oxidation in patients with DM type 1, a process which seems to have an essential role in the destruction of endothelial cells. Thus,

the low activity of PON1 leads to endothelial dysfunction and, in time, to the onset of long term complications in DM type 1.

Objectives: (1) assessing the lactonase activity of PON1 in patients with DM type 1 with/without associated autoimmune conditions, in comparison with a group of healthy individuals, (2) establishing a possible correlation between the lactonase activity of PON1 and metabolic control (HbA1 and the lipid profile) in the onset of macrovascular complications in DM type 1 and in the associated autoimmune conditions (autoimmune thyroiditis, celiac disease, juvenile idiopathic arthritis), (3) demonstrating a difference between the lactonase activity of PON1 in patients with DM type 1 and in patients with DM type 1 with associated autoimmune conditions is another goal of this study.

Materials and method: This case-witness study includes 51 patients with DM type 1 and 36 witnesses with similar demographic features (age, gender, ethnicity). The determination of the enzymatic activities of PON1 has been carried out through a spectrophotometric determination method. For the comparison of clinical parameters with reference range, the *t* test was applied. For parameters without reference ranges, we applied the Mann-Whitney test. The Spearman correlation coefficient was used for assessing correlation between the activity of PON1, metabolic control and pancreatic autoimmune parameters. A level of $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Conclusions:

(1) The low lactonase activity of PON1 suggests the insufficient capacity of HDL-cholesterol to protect against lipid oxidation in patients with DM type 1. Dyslipidemia thus represents a major component in the development of atherosclerotic lesions, leading to the onset of macrovascular complications in patients with DM type 1.

(2) The associated autoimmune diseases (autoimmune thyroiditis, celiac disease, juvenile idiopathic arthritis) do not seem to influence the lipid profile and the enzymatic activity of PON1 in patients with DM type 1.

(3) The deficient metabolic control, expressed through the high value of HbA1 does not seem to be a critical factor in modulating the activity of PON1, and thus, neither in the decrease of the antiatherogenic capacity thereof.

Study 4. The oxidizing/antioxidizing status in a group of paediatric patients with diabetes mellitus type 1 and other associated autoimmune diseases

Introduction: Diabetes mellitus type 1 (DM type 1) is an autoimmune disease in which the release of oxygen-free radicals and of proinflammatory cytokines intensifies the destruction of β pancreatic cells. Recent data indicate the presence of more intense oxidative stress reactions in patients with diabetes than in healthy individuals, with a potential contribution to the development of micro- and macrovascular complications. The antiatherogenic properties of HDL-cholesterol may be due to several antioxidizing enzymes, such as the platelet activating factor or paraoxonase 1. Multiple *in vitro* and *in vivo* studies have shown a link between the decrease of the activity of paraoxonase 1 and the severity of atherosclerosis. A low level of paraoxonase activity has been reported in patients with diabetes mellitus type 1, regardless of the plasmatic level of HDL cholesterol.

Objectives: (1) assessing demographic and metabolic parameters, the enzymatic activity of PON1 and the oxidative stress activity in patients with DM type 1 with no associated autoimmune diseases vs. patients with DM type 1 with associated autoimmune diseases, (2) establishing a possible correlation between enzymatic activities of PON1 and the activity of 8iPGF_{2 α} .

Materials and methods: The study group is made up of 51 patients with DM type 1, with ages between 11.65 \pm 4.10. The study group was divided according to gender (31 boys, 20 girls) and to the association of other autoimmune diseases associated with DM type 1 (38 patients with DM type 1 without associated autoimmune conditions and 13 patients with DM type 1 and associated autoimmune conditions). The determination of 8iPGF_{2 α} was carried out through the ELISA method, whereas the determination of the enzymatic activities of PON1 through the spectrophotometric method.

Conclusions:

(1) The autoimmune diseases associated with DM type 1 (autoimmune thyroiditis, celiac disease, juvenile idiopathic arthritis) have the same incidence in the studied group as the data indicated in the literature. The risk factors which increase the incidence of these associations are: female gender, the age of the onset of DM type 1 and a longer evolution of DM type 1.

(2) The lipid profile and metabolic control in patients with DM type 1 is similar in the two groups, i.e. the group of patients with associated autoimmune diseases and the group of patients with no associated autoimmune conditions.

(3) The profile of the enzymatic activities of paraoxonase 1 and 8iPGF_{2 α} is similar in the two groups.

(4) The oxidizing/antioxidizing status in patients with DM type 1 is similar to those with DM type 1 and associated autoimmune diseases. Chronic hyperglycemia seems to influence the oxidants/antioxidants relation both through the intensification of oxidative reactions and through the decrease of the activities of antioxidants. The possibility of breaking out

the vicious circle of the hyperglycaemic memory may lead to the normalization of the oxidative/antioxidative relation in patients with DM type 1.

(5) These data may suggest the necessity of associating insulin therapy with an additional therapy, through the prevention of free radical production. The use of antioxidants may theoretically reduce the production of radicals, but it only partially prevents the effects of glucotoxicity.

**LES IMPLICATIONS DU STRESS OXYDATIF DANS LA
PATHOLOGIE AUTO-IMMUNE-INFLAMMATOIRE DE L'ENFANT**

DOCTORANTE : ANDREEA LIANA RĂCHIȘAN

COORDONNATEUR : Prof. Dr. NICOLAE MIU

2012

Mots cle : diabete, stress oxydatif, 8isoprostaglandinF2alpha, paraoxonase-1.

Il y a une évidence alarmante concernant la participation des espèces réactives de l'oxygène (SRO) dans l'éthiopathogénie de certaines maladies chroniques. L'intérêt toujours plus grand vers le stress oxydatif et son implication dans la pathologie se justifie par le rôle essentiel qu'il joue dans l'apparition de lésions spécifiques cellulaires, tissulaires ou d'organes, génériquement appelées lésions oxydatives. Le thème de cette thèse est le stress oxydatif dans la pathologie auto-immune-inflammatoire de l'enfant, plus exactement, dans le diabète sucré de type I (DS type I), ce choix étant justifié par la fréquence croissante de cette entité clinique, une importante cause de morbidité. Le DS type I doit être considéré un syndrome complexe, hétérogène, de troubles qui peuvent avoir une étiologie différente, mais qui ont en commun l'hyperglycémie associée à des modifications lipidiques et protéiques majeures. Il représente, en même temps, un problème de santé publique si l'on prend en considération l'âge toujours plus tendre de début et le caractère chronique de cette entité.

Bien qu'il y ait certaines similitudes cliniques et évolutives, les enfants souffrant de DS type I sont complètement différents des adultes avec DS type I, ayant un contrôle métabolique déficitaire ; nous avons appris le long des années que les paradigmes applicables dans l'évaluation des adultes ont une valeur limitée en pédiatrie.

Les dernières années, nous avons assisté à des changements majeurs dans l'approche des patients avec DS type I, l'accent étant mis sur le contrôle métabolique et le profil lipidique, avec des discussions sur la possibilité d'employer d'autres agents thérapeutiques associés à l'insulinothérapie. Malgré ces progrès remarquables, en connaissant l'éthiopathogénèse du DS type I, il y a des chaînes pathogéniques encore inconnues.

Ce sont justement ces déficiences, avec une possible application dans la pratique clinique, qui ont donné naissance à l'idée de base de notre recherche. Nous nous sommes proposée d'étudier un important marker de stress oxydatif in vivo 8 isoprostaglandine F2 α et les 3 activités enzymatiques de la paraoxonase-1 comme facteur antioxydant/antiathérogène chez un lot de patients pédiatriques souffrant de DS type I.

La présente recherche a été faite sur un lot de patients souffrant de DS type I et d'autres maladies auto-immunes associées, qui se trouvent dans l'évidence de la Clinique Pédiatrie II de Cluj-Napoca. Même si la dimension de l'échantillon étudié a été assez réduite, (ce qui dérive de la rare incidence de la pathologie dans la population générale), les études ont offert, pour la première fois en Roumanie, des données significatives liées à la relevance clinique d'un marker de stress oxydatif in vivo chez les patients pédiatriques. En outre, la détermination du profil des activités enzymatiques de la paraoxonase 1, en corrélation avec le contrôle métabolique et le profil lipidique, a apporté d'importantes informations

sur la possibilité d'apparition des complications macrovasculaires chez les patients du lot étudié. L'étude de la balance oxydative/antioxydante chez les patients pédiatriques du lot de la recherche a relevé d'importantes données concernant le rôle de l'hyperglycémie dans la production et l'entretien des réactions de stress oxydatif.

Étude no 1. L'évaluation de l'activité de la 8-iso-prostaglandine $F_{2\alpha}$ -marker de stress oxydatif in vivo chez les patients pédiatriques souffrant de diabète de type I et auto-immunités associées

Introduction : Le stress oxydatif et les réactions inflammatoires sont connus de détenir un rôle important tant dans l'éthiopathogénie que dans l'entretien d'entités cliniques aiguës ou chroniques. Les éicosanoïdes, surtout la prostaglandine $F_{2\alpha}$ et les F_2 -isoprostanes sont des composés endogènes impliqués tant dans les processus physiologiques que dans ceux pathologiques. Les isoprostanes, un groupe de composés du type prostaglandine, les produits actifs de l'acide arachidonique, sont des biomarkers représentatifs de la peroxydation lipidique. Les études in vitro ont démontré que l'hyperglycémie, même fluctuante, mène à des modifications de l'endothélium vasculaire dues à la production excessive de superoxydes au niveau mitochondrial. Afin d'identifier l'apparition des radicaux superoxyde in vivo, l'on a découvert de différents markers de stress oxydatif, tels : la 8-iso-prostaglandin $F_{2\alpha}$ - marker de la peroxydation lipidique, le radical protéine carbonyle - marker de l'oxydation protéique et la 8-hydroxydéoxyguanosine - indicateur de la détérioration oxydative de l'ADN in vivo.

Objectifs : (1) déterminer l'activité de la 8iPGF $_{2\alpha}$ sérique chez les patients pédiatriques souffrant de DS type I et dans un groupe de contrôle, (2) établir une éventuelle corrélation entre l'activité de la 8iPGF $_{2\alpha}$ et la présence de maladies auto-immunes associées au DS type I, (3) identifier une éventuelle corrélation entre la 8iPGF $_{2\alpha}$ et la valeur de l'hémoglobine glyquée, (4) établir une possible liaison entre les markers d'auto-immunité pancréatique GAD65, IA2, IA et l'activité de la 8iPGF $_{2\alpha}$ dans le lot de patients souffrant de DS type I et d'autres maladies auto-immunes associées.

Matériel et méthode : Cette étude du type cas-témoins comprend 51 patients avec DS type I et 27 témoins avec des caractéristiques démographiques similaires (âge, sexe, ethnie). La 8iPGF $_{2\alpha}$ a été déterminée par la méthode ELISA. Pour comparer les paramètres cliniques à l'intervalle de référence nous avons appliqué le test *t*. Pour les paramètres sans intervalles de référence nous avons appliqué le test Mann - Whitney. Le coefficient de corrélation Spearman a été employé pour apprécier la liaison entre l'activité de la 8iPGF $_{2\alpha}$ et le

contrôle métabolique. Le niveau d'un $p < 0.05$ a été considéré significatif du point de vue statistique.

Conclusions :

(1) Les réactions de stress oxydatif sont plus intenses chez les patients avec diabète de type I par rapport aux patients sains [8iPGF_{2α} : 2090,6 ± 3536,5 dans le lot de patients avec DS type I et valeurs de 509,9 ± 493,5 dans le lot témoin, avec un $p = 0.03$], la 8iPGF_{2α} étant un marker idéal pour déterminer les réactions oxydatives in vivo.

(2) Les réactions oxydatives ne sont pas plus intenses chez les patients qui associent le DS type I à d'autres maladies auto-immunes [8iPGF_{2α} chez les patients avec DS type I sans d'autres maladies auto-immunes associées (n=38), obtenant 2178,19 ± 4017,05 vs 1834,95 ± 1504,73 avec DS type I et maladies auto-immunes associées, avec une valeur $p = 0.76$] et, par conséquent, nous pouvons affirmer que les réactions oxydatives peuvent faire partie en général de la chaîne pathogénétique des maladies auto-immunes, non pas comme facteur trigger (déclencheur), mais comme facteur d'entretien.

(3) Un contrôle métabolique adéquat peut atténuer les réactions de stress oxydatif et nous pouvons affirmer qu'il peut tarder, de manière consécutive, l'apparition des complications à long terme dans le DS type I [corrélation entre 8iPGF_{2α} et la valeur HbA_{1c}, obtenant un coefficient de corrélation $r = 0,38$ et un $p = 0.0057$].

(4) Le phénomène d'auto-immunité pancréatique n'est pas influencé par les réactions de stress oxydatif présentes chez les patients avec DS type I, mais ces dernières pourraient augmenter et entretenir le phénomène de destruction auto-immune présente chez ces patients.

(5) Le stress oxydatif est un « épiphénomène » qui entretient et, parfois, peut augmenter le phénomène d'auto-immunité pancréatique en soi chez les patients avec DS type I.

Étude no 2. Le profil des activités enzymatiques de la paraoxonase 1 chez les patients souffrant de diabète de type I et auto-immunités associées

Introduction : Dans le diabète de type I (DS type I) le niveau de la PON1 est bas, ce qui est dû, en partie, à l'accentuation des réactions de peroxydation lipidique, responsables du têt développement des complications diabétiques macrovasculaires. Le niveau bas de la PON1 dans le sérum des patients avec DS type I ne s'explique pas totalement. Dans le DS type I les patients sont exposés à un état d'hyperglycémie chronique et la première conséquence de ce fait est la glycation d'une protéine qui est surveillée par l'hémoglobine A_{1c} (HbA_{1c}).

Objectifs : (1) déterminer les trois activités (lactonasique, arylestérasique et paroxonasique) de la PON1 chez les patients pédiatriques avec DS type I, (2) établir une éventuelle corrélation entre les activités enzymatiques de la PON1 et la présence d'une autre maladie auto-immune associée au DS type I, (3) identifier une éventuelle variabilité de la PON1 selon le sexe, l'histoire évolutive du DS type I et la valeur du peptide C constitue un dernier objectif de l'étude.

Matériel et méthode : Cette étude du type cas-témoins comprend 51 patients avec DS type I et 36 témoins avec des caractéristiques démographiques similaires (âge, sexe, ethnie). Les activités enzymatiques de la PON1 ont été déterminées par la méthode spectrophotométrique. Pour comparer les paramètres cliniques à intervalle de référence nous avons appliqué le test *t*. Pour les paramètres sans intervalles de référence nous avons appliqué le test Mann - Whitney. Le coefficient de corrélation Spearman a été employé pour apprécier la liaison entre l'activité de la PON1 et le contrôle métabolique et les paramètres d'auto-immunité pancréatique. Le niveau d'un $p < 0.05$ a été considéré significatif du point de vue statistique.

Conclusions :

(1) Le profil enzymatique de la paraoxonase 1 peut être différent en fonction des activités enzymatiques. L'activité native lactonasique de la PON1 peut être corrélée avec l'état de la maladie dans le DS type I. Les maladies auto-immunes associées au DS type I ne semblent pas influencer les activités enzymatiques de la PON1.

(2) L'activité arylestérasique de la PON1 semble diminuer chez le sexe féminin par rapport au sexe masculin [70.12±13.22 versus 80.69±18.06].

(3) La possible corrélation entre l'activité enzymatique de la PON1 et le niveau des anticorps anti-insuline peut démontrer le rôle de la PON1 dans la biosynthèse de l'insuline [corrélation entre la PON1-P et IAA ($p=0.045$) et une possible liaison entre la PON1-A et IAA ($p=0.052$)].

(4) Le peptide C représente un paramètre idéal dans l'évaluation de la fonction restante des cellules β pancréatiques [la valeur moyenne du peptide C 0.42±0.64, avec un coefficient significatif de corrélation inverse entre le peptide C et l'histoire évolutive du DS type I ($r=-0.40$, $p=0.002$)].

(5) Tous ces aspects mènent vers la possibilité que le peptide devienne la nouvelle cible thérapeutique, avec la PON1, par l'amélioration de la fonction sécrétoire des cellules β pancréatiques.

Étude no 3. L'évaluation de l'activité lactonasiqne de la paraoxonase 1 chez les patients souffrant de diabète de type I et auto-immunités associées

Introduction : Les patients souffrant de diabète de type I (DS type I) peuvent associer souvent des complications microvasculaires, respectivement macrovasculaires à long terme. Le laps de temps pour leur apparition varie d'un individu à l'autre. Les facteurs tels la valeur de l'hémoglobine glyquée ou la durée depuis le début du diabète de type I sont les indicateurs les plus importants pour l'apparition des complications. La PON 1 est une estérase calcium dépendante, liée à l'apolipoprotéine A1 – qui contient le HDL-cholestérol. L'activité réduite de la PON1 mène à l'augmentation de l'oxydation lipidique chez les patients souffrant de diabète de type I, processus qui semble jouer un rôle central dans la destruction des cellules endothéliales. Ainsi, l'activité réduite de la PON1 mène-t-elle à la dysfonction endothéliale et, à long terme, à l'apparition des complications dans le diabète de type I.

Objectifs : (1) évaluer l'activité lactonasiqne de la PON1 chez les patients souffrant de diabète de type I avec/sans auto-immunités associées, en comparaison avec un lot de patients sains, (2) établir une éventuelle corrélation entre l'activité lactonasiqne de la PON1 et le contrôle métabolique (HbA1 et le profil lipidique) dans l'apparition des complications macrovasculaires dans le diabète de type I et les auto-immunités associées (thyroïdite auto-immune, la maladie cœliaque, l'arthrite juvénile idiopathique), (3) démontrer une différence entre l'activité lactonasiqne de la PON1 chez les patients souffrant de diabète de type I et ceux souffrant de diabète de type I avec des auto-immunités associées.

Matériel et méthode : Cette étude du type cas-témoins comprend 51 patients avec DS type I et 36 témoins avec des caractéristiques démographiques similaires (âge, sexe, ethnie). Les activités enzymatiques de la PON1 ont été déterminées par la méthode spectrophotométrique. Pour comparer les paramètres cliniques à intervalle de référence nous avons appliqué le test *t*. Pour les paramètres sans intervalles de référence nous avons appliqué le test Mann – Whitney. Le coefficient de corrélation Spearman a été employé pour apprécier la liaison entre l'activité de la PON1 et le contrôle métabolique et les paramètres d'auto-immunité pancréatique. Le niveau d'un $p < 0.05$ a été considéré significatif du point de vue statistique.

Conclusions :

(1) L'activité lactonasiqne réduite de la PON1 suggère la capacité insuffisante du HDL-cholestérol de protéger contre l'oxydation lipidique chez les patients avec diabète de type I,

la dyslipidémie représentant un facteur important dans le développement des lésions athérosclérotiques, menant à l'apparition des complications macrovasculaires chez les patients souffrant de diabète de type I.

(2) Les maladies auto-immunes associées (la thyroïdite auto-immune, la maladie céliaque, l'arthrite juvénile idiopathique) semblent ne pas influencer le profil lipidique ou l'activité enzymatique de la PON1 chez les patients souffrant de diabète de type I.

(3) Le contrôle métabolique déficitaire, exprimé par la valeur élevée de la HbA1c semble ne pas être le facteur critique dans la modulation de l'activité de la PON1 et, ainsi, dans la diminution de sa capacité antiathérogène.

Étude no 4. L'état oxydant/antioxydant chez un lot de patients pédiatriques souffrant de diabète de type I et d'autres maladies auto-immunes associées

Introduction : Le diabète sucré de type I (DS type I) est une maladie auto-immune dans laquelle l'émanation des radicaux libres d'oxygène et des cytokines proinflammatoires renforce la destruction des cellules β pancréatiques. Des données récentes suggèrent la présence des réactions de stress oxydative plus intenses chez les patients souffrant de diabète par rapport aux témoins sains, avec une possible contribution au développement des complications micro - et macrovasculaires. Les propriétés antiathérogènes du HDL-cholestérol peuvent être dues aux enzymes à rôle antioxydant tel le facteur d'activation plaquettaire ou la paraoxonase 1. De multiples études in vitro et in vivo ont montré l'association entre la diminution de l'activité de la paraoxonase 1 et la sévérité de l'athérosclérose. Chez les patients avec diabète de type 1 l'on a rapporté un niveau réduit de l'activité de la paraoxonase, indépendamment du niveau plasmatique du HDL cholestérol. Le bas niveau de la paraoxonase 1 est fortement lié au risque de développer des complications à long terme chez les patients diabétiques, ce qui est dû surtout à ses propriétés anti-oxydation.

Objectif : (1) évaluer les paramètres démographiques et métaboliques, les activités enzymatiques de la PON1 et l'activité de stress oxydatif chez les patients souffrant de diabète de type I sans maladies auto-immunes associées versus les patients souffrant de DS type I avec des maladies auto-immunes associées, (2) établir une possible corrélation entre les activités enzymatiques de la PON1 et l'activité de la 8iPGF_{2 α} .

Matériel et méthode : Le lot d'étude comprend 51 patients avec DS type I, âgé 11,65 \pm 4,10 ans. Le groupe d'étude a été divisé selon le sexe (31 garçons, 20 filles) et selon

l'association d'autres maladies auto-immunes associées au DS type I (38 patients avec DS type I sans d'autres auto-immunités associées et 13 patients avec DS type I + maladies auto-immunes associées). La $8iPGF_{2\alpha}$ a été déterminée par la méthode ELISA et les activités enzymatiques de la PON1 par la méthode spectrophotométrique.

Conclusions :

(1) La fréquence des maladies auto-immunes associées au DS type I (la thyroïdite auto-immune, la maladie céliaque, l'arthrite juvénile idiopathique) est la même dans le cas du lot étudié que dans les données de la littérature. Les facteurs de risque qui intensifie l'incidence de ces associations sont : le sexe féminin, l'âge tardif de début du DS type I et la durée plus longue de l'évolution du DS type I.

(2) Le profil lipidique et le contrôle métabolique chez les patients souffrant de DS type I est similaire tant dans le groupe de patients avec des maladies auto-immunes associées, que dans le groupe de patients sans associations auto-immunes.

(3) Le profil des activités enzymatiques de la paraoxonase 1 et de la $8iPGF_{2\alpha}$ est similaire dans le cadre du groupe de patients avec DS I sans/avec des maladies auto-immunes associées.

(4) L'état oxydant/antioxydant chez les patients souffrant de DS type I est similaire aussi dans le cas de ceux souffrant de DS type I et chez les patients avec DS type I et maladies auto-immunes associées. L'hyperglycémie chronique semble influencer la balance oxydants/antioxydants, tant par l'intensification des réactions oxydatives que par la diminution de l'activité des antioxydants. La possibilité de fermer le cercle vicieux de la mémoire hyperglycémique pourrait mener à la normalisation de la balance oxydative/antioxydation chez les patients avec DS type I.

(5) Ces données peuvent suggérer la nécessité d'une thérapie associée à l'insulinothérapie, par la prévention de la production des radicaux libres. Théoriquement, l'emploi des antioxydants peut réduire la production de radicaux, mais cela prévient seulement en partie les effets de la glucotoxicité.