



HAL
open science

Évaluation de polymorphismes de p22phox, RAGE et ALOX12 dans la survenue de la néphropathie diabétique chez le type 1 : projet NEPHRODIANOX

Benoit Franko

► To cite this version:

Benoit Franko. Évaluation de polymorphismes de p22phox, RAGE et ALOX12 dans la survenue de la néphropathie diabétique chez le type 1 : projet NEPHRODIANOX. Médecine humaine et pathologie. 2013. dumas-00874390

HAL Id: dumas-00874390

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-00874390v1>

Submitted on 17 Oct 2013

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SICD1 de Grenoble : **thesebum@ujf-grenoble.fr**

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

Année : 2013

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE MEDECINE DE GRENOBLE

Evaluation de polymorphismes de p22phox, RAGE et ALOX12
dans la survenue de la néphropathie diabétique chez le type 1 :
projet NEPHRODIANOX

THESE
PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE
DIPLOME D'ETAT

Mr FRANKO Benoit
Né le 05 décembre 1984
A Embrun (05200)

THESE SOUTENUE PUBLIQUEMENT A LA FACULTE DE MEDECINE DE GRENOBLE*

Le 15 octobre 2013

DEVANT LE JURY COMPOSE DE

Pr ZAOUI Philippe, Président du jury
Pr BENHAMOU Pierre-Yves
Pr HADJADJ Samy
Dr STASIA Marie-josé

*La faculté de Médecine de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans la thèse ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.

Sommaire

1. Résumé	6
a. En français	6
b. En anglais	7
2. Mots clefs	8
a. En français	8
b. En anglais	8
3. Introduction	9
4. Néphropathie diabétique	10
a. Epidémiologie	10
b. Définition	10
c. Physiopathologie	11
i. Transport du glucose	11
ii. Polyol	12
iii. Hexosamine	12
iv. PKC	13
v. Produits avancés de glycation	14
vi. Stress oxydant	14
vii. Inflammation	15
viii. Système Rénine Angiotensine Aldostérone	16
5. Etude génétique	18
a. Etude familiale ou étude de ségrégation	18
b. Analyse gènes candidats	19
c. Criblage génomique large, « genome wide association studies »	20
6. NADPH oxydase et p22 phox	22
a. Définition	22
b. Implication dans la néphropathie diabétique	22
c. Polymorphisme C242T de <i>CYBA</i> (rs4673 ou H72Y)	23
<i>Fonctionnalité du polymorphisme :</i>	23
<i>Répartition du polymorphisme dans la population :</i>	23
<i>Dans le diabète :</i>	24
<i>Dans les maladies cardiovasculaires :</i>	24
<i>Dans les autres domaines :</i>	24
7. Récepteur des produits avancés de glycation : <i>RAGE</i>	25
a. Définition	25
b. Rôle dans la néphropathie diabétique	25
c. Polymorphismes -374T/A (rs1800624) et -429T/C (rs1800625)	26
<i>Fonctionnalité du polymorphisme :</i>	26
<i>Répartition du polymorphisme dans la population :</i>	26
<i>Dans le diabète :</i>	26
<i>Dans les maladies cardiovasculaires :</i>	27
d. Lien entre <i>RAGE</i> et <i>Nox</i>	27
8. Lipoxigénase	28
a. Définition	28
b. Rôle dans la néphropathie diabétique	28
c. Polymorphisme <i>Arg261Gln</i> (ou <i>G835A</i> , rs1126667)	28
<i>Fonctionnalité du polymorphisme :</i>	28
<i>Répartition du polymorphisme dans la population :</i>	28
<i>Dans le diabète :</i>	29
<i>Dans les maladies cardiovasculaires :</i>	29

<i>Dans les autres domaines:</i>	29
9. Objectifs	30
10. Méthodologie	31
a. Critères d'inclusion et exclusion	31
b. Critères de jugement.....	31
c. Site et période de recrutement.....	32
d. Recueil des prélèvements	32
e. Extraction de l'ADN	32
f. Amplification PCR.....	33
g. Analyse de <i>CYBA</i> et <i>RAGE</i> par digestion par enzyme de restriction ...	34
i. <i>CYBA</i> C242T	34
ii. <i>RAGE</i> 374T/A	34
iii. <i>RAGE</i> 429 T/C	35
h. Analyse de <i>ALOX12</i> par séquençage	36
i. Statistiques	36
i. Calcul du nombre de sujets nécessaires	36
ii. Méthodes statistiques.....	36
11. Résultats	37
a. Description de la population et des variables clinico-biologiques :.....	37
i. Description générale.....	37
ii. Le diabète.....	37
iii. Les complications.....	38
b. Répartition des différents polymorphismes	39
i. Prévalence	39
ii. Equilibre d'Hardy Weinberg (« Hardy Weinberg Desequilibrium »).....	39
c. Analyse uni-variée.....	40
d. Modèle multi-varié	42
i. Création du modèle.....	42
ii. Test d'interaction	43
iii. Vérifications des conditions d'application du modèle	43
e. Critères de causalité :	43
i. Insuffisance rénale terminale	43
ii. Rétinopathies	45
12. Discussion	46
a. Justification de l'étude et des critères d'analyses :	46
b. Facteurs spécifiques d'adaptation du modèle.....	47
c. Discussion des résultats	48
i. <i>p22phox</i>	48
ii. <i>RAGE</i>	50
iii. Interactions entre <i>RAGE</i> et <i>p22phox</i>	51
iv. <i>ALOX</i>	51
d. Perspectives :	52
13. Conclusion	53
14. Annexes	54
a. Génétique DT1 et néphropathie diabétique	54
b. Table <i>p22</i>	62
c. Table <i>rage</i>	64
d. Table <i>alox</i>	67
e. Structure de <i>p22phox</i>	67
15. Références	68

16. Article en anglais pour soumission.....	99
17. Remerciements.....	116

Liste des abréviations :

P22phox : sous unité de la NADPH oxydase codé par le gène CYBA

RAGE : recpteur des produits avancés de glycation

AGE : produits avancés de glycation

ALOX 12 : lipoxygénase 12

IRCT : insuffisance rénale chronique terminale

ND : néphropathie diabétique

PKC : prteine kinase C

EUA : excrétion urianire d'albumine

DT1, DT2 : diabète de type 1 , diabète de type 2

ALR2 : aldose réductase

NOX : sous unité de la NADPH oxydase responsable de l'activité (de 1 à 5)

SRAA : système rénine angiotensine aldostérone

ATII : angiotensine 2

SNP : single nucleotide polymorphism

GWAS : genome wide association studies

HBA1c : hémoglobine glyquée

12 HETE : d'acide 12(S)-Hydroxyeicosatetraenoic

HTA : hyper tension artérielle

TAS/TAD : tension artérielle systolique et diastolique

IMC / BMI : index de masse corporel

CPP : comité de protection des personnes

HR : hazard ratio

1. Résumé

a. En français

Contexte : le stress oxydant est un des mécanismes clefs dans la physiopathologie de la néphropathie diabétique chez le patient type 1. Nous avons évalué l'association de polymorphismes de trois gènes impliqués dans cette voie : C242T de *CYBA* (*p22phox*), -374T/A et -429T/C de *RAGE*, et Arg261Gln d'*ALOX12*, dans le délai de survenue de la néphropathie microalbuminurique chez le patient diabétique de type 1.

Méthode : 162 patients diabétiques de type 1, avec une ancienneté moyenne du diabète de 32,9 +/- 9 ans, ont été inclus au Centre Hospitalier de Grenoble. 53 patients présentaient une microalbuminurie persistante (> 30 mg/L) et 109 étaient indemnes de néphropathie. Nous avons recueillis le délai entre la survenue de la microalbuminurie et le diagnostic du diabète, ainsi que le délai de survenue de l'insuffisance rénale terminale (IRCT). L'ensemble des données clinico-biologiques ont été recueillies lors de l'inclusion. Nous avons déterminé pour chaque patient son statut vis-à-vis de chacun des polymorphismes étudiés, et évalué leurs associations à la survenue de la microalbuminurie dans un modèle de cox.

Résultats : la répartition des différents polymorphismes respecte l'équilibre d'Hardy Weinberg. L'analyse univariée retrouve une association significative entre le délai de survenue de la microalbuminurie et le polymorphisme C242T (prévalence globale du polymorphisme : 13,6% TT, 45,7% TC, 41,7% CC) dans un modèle dominant $p=0,038$, ainsi que pour le polymorphisme -374T/A (prévalence globale du polymorphisme : 5,6% AA, 35,2% TA, 59,2% TT) dans un modèle récessif $p=0,0021$. Le modèle de cox en analyse multi-variée retrouve quatre facteurs associés au délai de survenue de la néphropathie diabétique : *RAGE* 374AA (HR 4.19 [1.84-9.58] ($p=0.001$)), *p22phox* TT+TC (HR 2.1 [1.16-3.8], $p=0.015$), mais également le sexe masculin (HR 1.92 [1.07-3.43], $p=0.028$) et le diagnostic du diabète à l'âge pédiatrique (HR 1.85 [1.03-3.32], $p=0.039$). Nous retrouvons également une association avec le délai de survenue de l'IRCT ($p=0.028$ pour *p22phox* TC+TT, et $p=0.033$ pour *RAGE* 374AA). Le polymorphisme C242T de *p22phox* semble indépendant de la rétinopathie (66,7% si CC, 63,6% si TT+TC, $p=0,6$ pour le test de supériorité, $p=0,043$ pour le test de non infériorité). Enfin nos données suggèrent un effet d'association des risques, mais la puissance de l'étude ne permet pas d'atteindre le seuil de significativité.

Conclusion : les polymorphismes C242T de *p22phox* et -374T/A de *RAGE* sont associés à une survenue plus précoce de la microalbuminurie dans une population de diabétiques de type 1 française. L'indépendance de la rétinopathie ainsi que l'association avec la survenue de l'IRCT nous fournissent des arguments supplémentaires pour l'implication de ces prédispositions génétiques dans la néphropathie diabétique.

b. En anglais

Background: Oxidative stress is a key component of type 1 diabetic nephropathy. Therefore, we investigated the association between polymorphisms of three genes implicated in this pathway: C242T of *CYBA* (*p22phox*), -374T/A and -429T/C of *RAGE*, as Arg261Gln of *ALOX 12*, in the delay of microalbuminuria onset in type 1 diabetic patients.

Methods: 162 diabetic type 1 patients with 32.9 +/- 9 years of diabetes duration were included at the Grenoble University Hospital. 53 presented a history of persistent microalbuminuria (> 30 mg/l) and 109 did not. Delay between microalbuminuria and diabetes diagnosis, as end stage renal disease (ESRD) onset and bio-clinical data, were recorded. Polymorphism status was determined and its association to microalbuminuria was assessed with a Cox regression model.

Results: All polymorphisms respect the Hardy Weinberg equilibrium. At univariate level, C242T dominant model (13.6% TT, 45.7% TC, 41.7% CC) and -374T/A (5.6% AA, 35.2% TA, 59% TT) were significantly correlated with microalbuminuria ($p=0.038$, 0.0021 respectively). The Cox regression model validated four significant variables: *RAGE* 374AA (HR 4.19 [1.84-9.58] ($p=0.001$)), *p22phox* TT+TC (HR 2.1 [1.16-3.8], $p=0.015$), associated with male sex (HR 1.92 [1.07-3.43], $p=0.028$) and diabetes diagnosis at pediatric age (HR 1.85 [1.03-3.32], $p=0.039$). The same association was found with ESRD ($p=0.028$ for *p22phox* TC+TT, and $p=0.033$ for *RAGE* 374AA). The C242T polymorphism was independent of retinopathy onset (66.7% of CC patients versus 63.6% of CT+TT $p=0.6$ for superiority and $p=0.043$ for non inferiority). Finally we suspected an increasing risk with polymorphism associations but it did not reach significant level.

Conclusions: *p22phox* C242T, and *RAGE*-374T/A correlate with microalbuminuria onset in a type 1 diabetic French population. The same correlation with ESRD onset provides argument for the involvement of a genetic predisposition involving renal oxidative stress for diabetic nephropathy independently of retinopathy for C242T.

2. Mots clefs

a. En français

Néphropathie diabétique, diabète de type 1, polymorphismes génétiques, *p22phox*, *RAGE*, *ALOX12*, microalbuminurie, insuffisance rénale terminale.

b. En anglais

Diabetic nephropathy, type 1 diabetes, genetic polymorphisms, *p22phox*, *RAGE*, *ALOX12*, microalbuminuria, end stage renal disease.

3. Introduction

Le diabète est un problème de santé publique. Malgré les traitements efficaces, les patients sont exposés à de nombreuses complications, macro et micro vasculaires. La néphropathie diabétique touche 17 à 25% des diabétiques de type 1 (1), et est responsable de 20% des étiologies d'insuffisances rénales chroniques terminales en France (2). L'équilibre glycémique est un facteur de développement de néphropathie mais, à équilibre égal, certains développeront une néphropathie et d'autres non (3). Il semble exister un autre élément nécessaire au développement de l'atteinte rénale, le patrimoine génétique, et de nombreuses études s'intéressent à d'éventuelles mutations associées à sa survenue.

L'objectif de la meilleure compréhension des mécanismes physiopathologiques est double. D'une part permettre de déterminer précocement les patients à risque de développer une néphropathie pour proposer une prise en charge spécifique de prévention primaire. D'autre part proposer de nouvelles thérapeutiques ciblées pour ralentir l'évolution des néphropathies installées. Les données développées par Brownlee et son équipe (4) mettent en avant le rôle du stress oxydant au sein des cellules ne régulant pas l'entrée de glucose via l'insuline (endothélium, cellules rénales, neurones) et son implication via quatre voies (voie de la glycation protéique, voie des polyols, voie des hexosamines, voie de la protéine kinase C) sur la genèse des complications micro-vasculaires.

Cette étude a pour objet d'évaluer l'impact de polymorphismes génétiques de trois gènes : *CYBA* codant pour la protéine *p22phox* sous unité de la NADPH oxidase, le récepteur des produits avancés de glycation (*RAGE*), et la lyxogénase (*ALOX12*), dans la survenue de la néphropathie diabétique chez des patients porteurs d'un diabète de type 1.

4. Néphropathie diabétique

a. Epidémiologie

L'OMS évalue à 180 millions le nombre de patients atteints de diabète dans le monde, environ 5-10 % par un type 1. L'incidence du diabète de type 1 semble en augmentation mais les données fluctuent d'un pays à l'autre. 15 / 100 000 en France contre 60 /100 000 en Finlande (5). La néphropathie diabétique touche environ 30 % des patients, environ les deux-tiers développent une néphropathie au stade macroprotéinurique au bout de 15 ans (6), mais certains ne présentent de stigmates qu'ultérieurement (7). Les facteurs majeurs de contrôle de la survenue de la néphropathie diabétique restent le contrôle de la glycémie et de la pression artérielle (8) ; cependant malgré le déséquilibre glycémique, certains patients resteront indemnes de néphropathie et inversement. C'est cette population spécifique dont l'évolution n'est pas prévisible qui a fait émerger le concept de susceptibilité individuelle, pouvant être expliqué par un terrain génétique.

b. Définition

La plus grande difficulté des études sur la néphropathie diabétique reste sa définition. Il a bien été établi plusieurs étapes dans l'évolution de cette dernière, s'initiant par une hyper filtration glomérulaire, puis l'apparition d'une microalbuminurie (excrétion urinaire d'albumine > 30 mg/j ou 20 mg/g de créatinine), suivie d'un début de dysfonction d'épuration avec évolution vers la macroprotéinurie, et enfin l'insuffisance rénale terminale. A l'inverse des autres pathologies (notamment glomérulaires) les patients diabétiques porteurs d'une atteinte rénale ne sont que rarement biopsiés, se basant sur un faisceau d'arguments positifs (présence d'une rétinopathie diabétique, durée d'évolution supérieure à 10 ans, taille des reins conservée ou gros reins) et négatifs (absence d'hématurie, absence d'argument auto-immun, ou d'anomalie du complément) pour porter le diagnostic. Cependant d'une part il a été démontré sur des séries de biopsies qu'environ 10% des patients diabétiques porteurs d'une atteinte rénale ne sont pas atteints de néphropathie diabétique voir plus dans le diabète de type 2 (9). D'autre part il est parfois observé la régression à la normoalbuminurie (10). De plus les patients diabétiques vont être soumis à des expositions extérieures (produits de contraste iodés, néphrotoxiques) ou à des facteurs pourvoyeurs d'atteinte rénale (hypertension artérielle, événement cardiovasculaire) pouvant limiter l'imputabilité claire du diabète dans l'étiologie de la néphropathie ou de la progression vers l'insuffisance rénale terminale. Un patient avec une authentique néphropathie diabétique peut arriver au stade terminal suite à d'autres facteurs. De ce fait les études des diabétiques de type 1 indemnes de complications au diagnostic s'affranchissent partiellement de certains facteurs confondants, notamment cardiovasculaires, vis-à-vis des patients de type 2 (pour lesquels, au diagnostic du diabète, on constate déjà l'atteinte rénale et l'association à des marqueurs cardiovasculaires).

c. Physiopathologie

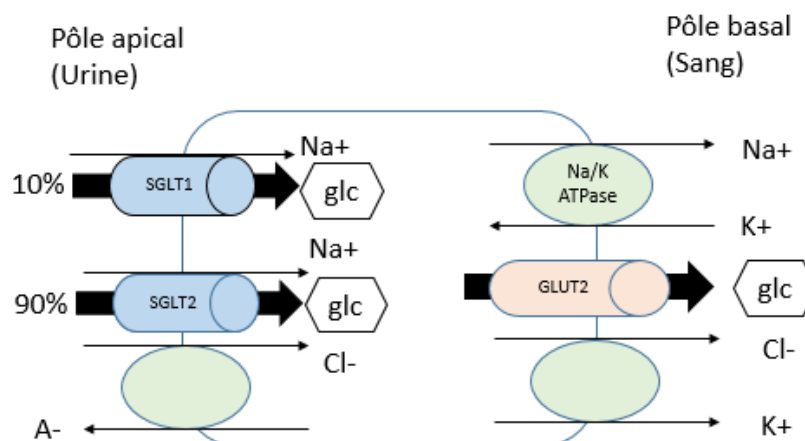
Dans ce chapitre nous allons détailler les différents mécanismes physiopathologiques connus ou supposés impliqués dans la genèse de la néphropathie diabétique. Nous recenserons également les données sur les polymorphismes génétiques évalués dans chacune de ses voies.

Evolution habituelle de la néphropathie diabétique

diagnostique du diabète	5 ans	10 ans	15 ans	20 ans	30 ans
filtration glomérulaire	↗	=	↘	↘	IRCT
albuminurie		micro 30 mg/j	macro > 300 mg/j	_____	
lésions histologiques	+ _____				
hypertension	-	+/-	+	++	+++

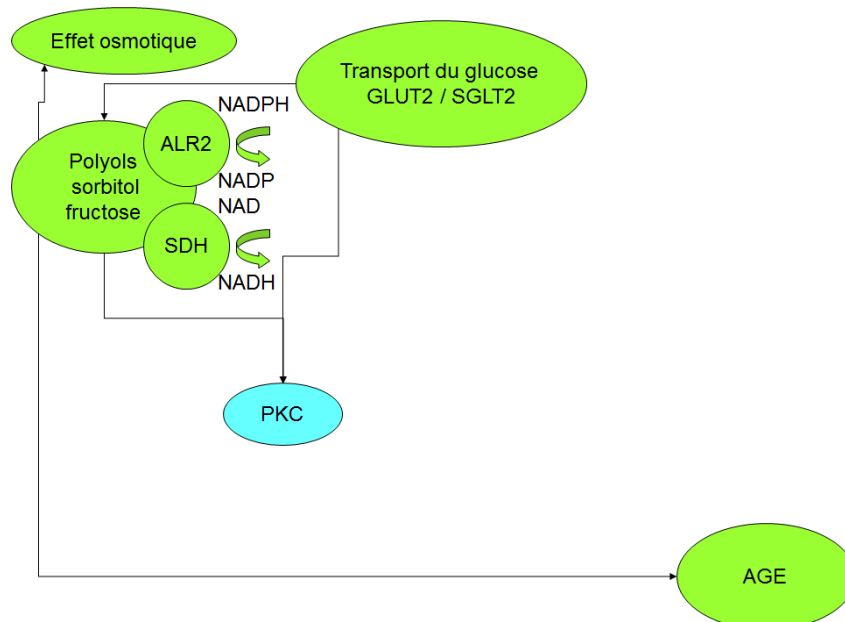
i. Transport du glucose

L'entrée de glucose dans la cellule se fait selon trois possibilités : un transport facilitatif insulino dépendant, un transport facilitatif insuline indépendant, et un transport actif. Le transporteur principal et le plus répandu est GLUT 4 principalement dans les cellules musculaires striées et le tissu adipeux. Sa dépendance à l'insuline fait que lors du diabète insulino-prive ce type cellulaire n'est pas exposé à l'excès de glucose intracellulaire. Le second transport se fait par GLUT 1,2 et 3 (GLUT 2 étant bidirectionnel). GLUT 2 est retrouvé notamment dans les cellules tubulaires où il assure la sortie du glucose de la cellule vers le secteur plasmatique, GLUT 2 semble être le transporteur dominant au sein des cellules rénales (11). GLUT 1 est principalement exprimé dans les cellules endothéliales et GLUT3 dans les cellules du système nerveux. Enfin le transport actif est assuré par les SGLT (sodium-glucose linked transporter), SGLT1 étant commun aux cellules rénales et entérocytaires, SGLT2 est spécifique du tubule proximal. C'est ce dernier qui est responsable de 90% de la réabsorption du glucose filtré (12). On constate donc que les organes cibles du diabète (rein, œil, vaisseaux, neurones) sont exposés à l'hyperglycémie intracellulaire, qui est un des mécanismes clefs de l'atteinte du diabète. Des polymorphismes de GLUT 2 (13) et de GLUT 1 (14) semblent corrélés à la survenue de la néphropathie diabétique chez le type 1 (table génétique DT1 et néphropathie) cependant ces données restent hétérogènes comme en témoigne une méta analyse récente (15).



ii. Polyol

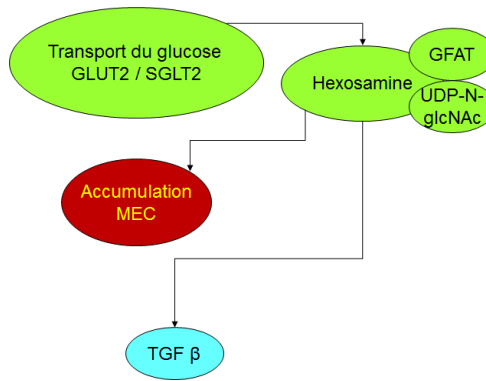
L'augmentation de glucose intracellulaire disponible va dévier le métabolisme du glucose par l'aldose réductase vers la synthèse de sorbitol nécessitant l'oxydation du NADPH en NADP, puis du fructose par la sorbitol déshydrogénase avec la réduction du NAD en NADH. Tant le sorbitol que le fructose vont s'accumuler au sein des cellules et conduire à une hyperosmolarité intracellulaire conduisant à un œdème cellulaire (16) impliqué dans la néphropathie diabétique (17)(18). Cependant malgré des données animales intéressantes, les inhibiteurs de l'aldose réductase n'ont montré que des résultats mitigés dans la prévention des complications du diabète (19)(20). Cependant plusieurs données semblent impliquer la voie des polyols comme élément initiateur des autres voies activées lors de la néphropathie diabétique comme l'activation de la PKC (21)(22), ou encore un déséquilibre de la balance redox (23). De nombreuses études ont évalué le polymorphisme Z+2/Z-2 -106 de l'aldose réductase (ALR2) (table génétique DT1 et néphropathie). Une méta analyse récente confirme l'association protectrice de Z+2 et délétère de Z-2, mais d'intensité modeste (OR 1.09 et 0.88 respectivement) (24).



iii. Hexosamine

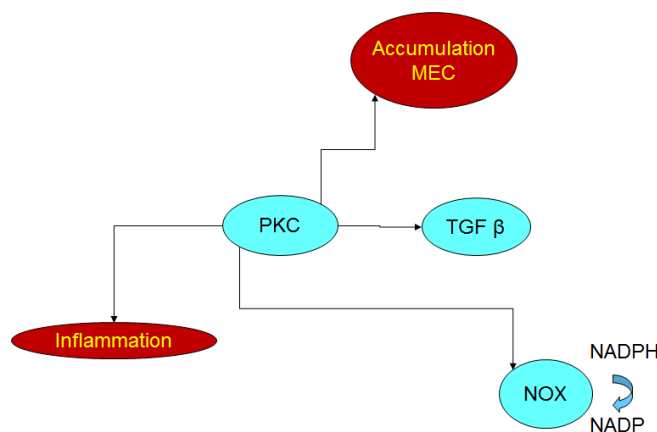
Le glucose intracellulaire va être transformé en fructose-6-phosphate. Ce dernier va être le substrat de la glutamine F6P amido-transférase (GFAT) et former du glycosamine-6-phosphate. Ce dernier est catabolisé en UDP-N-acetylglycosamine (UDP-glcNAc), substrat nécessaire à la O-glycosylation post translationnelle de nombreux facteurs, dont certains facteurs de transcription (25). L'étape limitante de glycosylation étant la disponibilité de l'UDP-glcNAc, lors du diabète il y a une augmentation de glycosylation, et de ce fait une modification de l'expression génique. La voie des hexosamines a montré *in vitro* un lien avec l'activation du TGF- β 1 (26)(27), l'accumulation de matrice extracellulaire (28)(29) ou l'élévation de PAI-1(30).

Plusieurs études se sont intéressées aux polymorphismes de GFAT, impliqués dans l'accumulation de Glc-6P, et la néphropathie diabétique, elles restent négatives dans le DT1 (31), ou discutables dans le DT2 (32)(33).



iv. PKC

Les protéines kinase C sont une grande famille de serine/thréonine kinases. Elles sont divisées en 3 groupes selon leur modalité d'activation : les PKC « classiques » activées par le diacylglycérol et le calcium, les PKC « nouvelles » activées par le diacylglycérol uniquement et les PKC « atypiques » activées par les phospholipides dont le PIP₃ (34). Le rôle principal des PKC est la transduction d'un signal extracellulaire (activation ligand récepteur) vers un effecteur intracellulaire. Plusieurs signaux AGE (35), VEGF(36) ou PDGF(37) entre autres surexprimés dans le diabète peuvent conduire à l'activation de la PKC. L'implication de la PKC dans la genèse de complications diabétiques provient de plusieurs observations. D'une part, l'hyperglycémie conduit à la synthèse *de novo* de diacylglycérol (38) associée à une élévation de PKC, mais également à une synthèse locale directe indépendante du diacylglycérol au niveau rénal(39). L'enrôlement de la PKC lors du diabète conduit à de nombreuses voies, notamment l'activation du TGF-β1 ainsi que l'accumulation de matrice extra cellulaire (40) ou encore l'activation de la NADPH oxydase (41) (42). Enfin plusieurs essais animaux ont constaté une diminution des lésions induites par le diabète par le blocage de la PKC (43)(44)(45). Cependant les données chez l'homme sont moins évidentes (46)(47). Certains polymorphismes de la PKC semblent corrélés à l'insuffisance rénale terminale dans une population de patients DT2 chinois (48) DT2 américains (49) mais non reproduite dans d'autres cohortes (50). Enfin la recherche d'impact du polymorphisme de la PKC semble négative dans l'atteinte macrovasculaire (51) ou la rétinopathie (52).

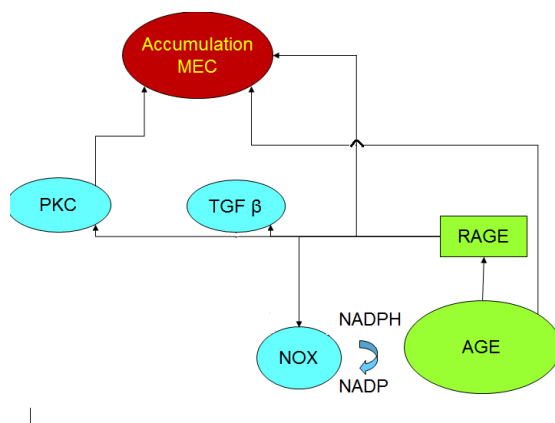


v. Produits avancés de glycation

Les AGE sont issus de la glycation non enzymatique et de l'oxydation des protéines. Il s'agit d'une réaction entre les groupements aldéhydes des oses et les résidus amines des protéines formant ainsi une base de Schiff, qui se stabilise en produit d'Amadori. Par réaction de déshydrogénation, oxydation ou coupure enzymatique on va aboutir à des produits intermédiaires de glycation ou « aldéhydes réactifs » tels que le méthylglyoxal ou le glyoxal, espèces plus réactives qui vont aboutir à la formation des AGE comme la N-carboxy-méthyl-lysine. Cette glycation peut être endogène comme dans le cas du diabète, soit par exposition chronique à de fortes concentrations de glucose, soit secondaire à l'activation de la voie des polyols qui aboutit à la production intracellulaire de méthyl glyoxal. Un apport exogène d'AGE peut également être en cause, notamment sur des consommations alimentaires occidentales (cuisson par friture, caramélisation ...). Les niveaux circulants et tissulaires d'AGE ont été retrouvés élevés dans différentes pathologies, principalement diabète (53) et insuffisance rénale (54) terminale mais également dans la cirrhose, la maladie d'Alzheimer ou la polyarthrite rhumatoïde (55).

Les AGE ont deux mécanismes d'action, le premier récepteur indépendant conduit à l'accumulation de ses derniers dans les tissus perturbant le turn-over de la matrice extra cellulaire (56). L'autre action utilise les récepteurs aux AGE : lactoferrine, oligosaccharyl transferase complex protein 48 (AGE-R1) et 80K-H protein (AGE-R2), galectin-3 (AGE-R3), et RAGE (57).

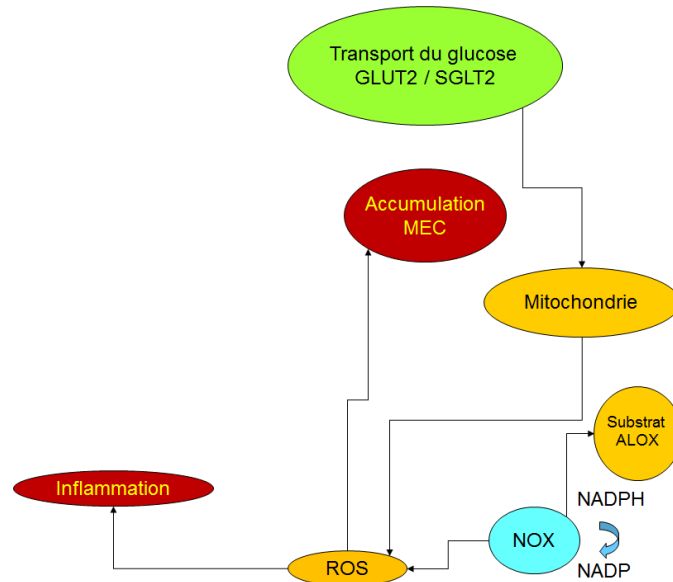
L'association des AGE à l'atteinte diabétique est précisée en détails dans le chapitre 6.



vi. Stress oxydant

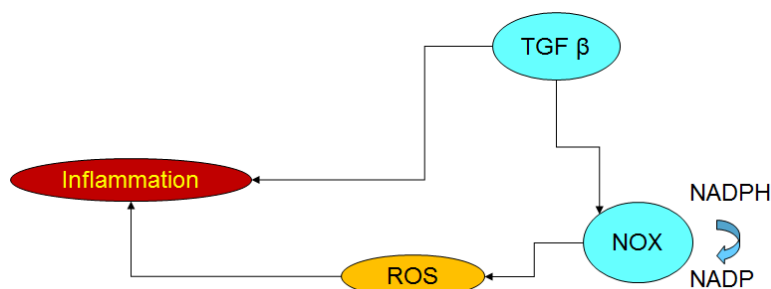
Plusieurs éléments permettent de conclure à un déséquilibre de la balance oxydant /antioxydant au sein du diabète. On retrouve d'une part une élévation du ratio NADH/NAD suite à l'activation de la voie des polyols (Cf chapitre 3.c.i) mais également une activation de la NADPH oxydase (41)(58) ou de la mitochondrie (59) conduisant à l'excès de production de ROS (espèces réactives de l'oxygène). Plusieurs thérapeutiques anti oxydantes ont été utilisées avec des succès mitigés (vitamine E) ou des effets secondaires significatifs (bardoxolone) (60)(61)(62). De nombreux polymorphismes génétiques ont été étudiés dans la néphropathie diabétique, notamment la superoxyde dismutase et les NO synthases ont fait l'objet de méta-analyse concluant, pour la SOD à un effet protecteur de l'allèle C du

polymorphisme C47T dans une population principalement de DT2 (63). NOS2,3 et 4 ont été impliquées au niveau génétique, cependant une méta-analyse récente de NOS 3 sur des populations mixtes, ne retrouve que des effets hétérogènes et dépendants de l'origine ethnique (64). Les NADPH oxydases (ou Nox) sont des éléments clefs de l'équilibre redox car leur implication dans le diabète a été bien démontrée. Son inhibition semblerait une thérapeutique prometteuse mais pour l'heure non aboutie (65), l'ensemble des données sur la NADPH oxydase est regroupé dans le chapitre 5.



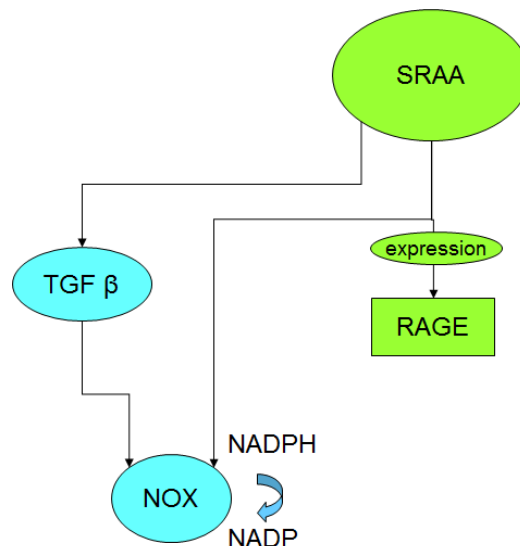
vii. Inflammation

L'inflammation semble impliquée tant dans la genèse du diabète que dans ses complications. Les patients présentant un degré d'inflammation plus élevé (CRP et IL-6) semblent présenter un plus grand risque de développement du diabète (66). De plus les patients diabétiques de type 1 néphropathes expriment des niveaux d'IL-1 élevés (67). Sur des modèles animaux ou *in vitro* l'hyperglycémie ou les AGE conduisent à l'activation de nombreux médiateurs de l'inflammation (68), la plupart de ces voies conduisant à l'activation de NFκ-b(69). Différentes thérapeutiques ont montré un intérêt dans des modèles animaux, dans la prévention de la néphropathie diabétique (blocage de CCL-2 (70), NFκ-b (71), anti mTOR (72)). Des données encourageantes ont également été obtenues chez l'homme (anti TNF-α) (73). Mais des données de phase II pour les anti TGF-β et les antagonistes CCR2/5 très prometteurs sont en attente. Les études sur la génétique de l'inflammation et la néphropathie diabétique ont principalement porté sur IL1 et TGF-β, avec des données plutôt négatives pour l'un comme pour l'autre dans le DT1, mais positive pour le TGF-β dans le DT2 (74).

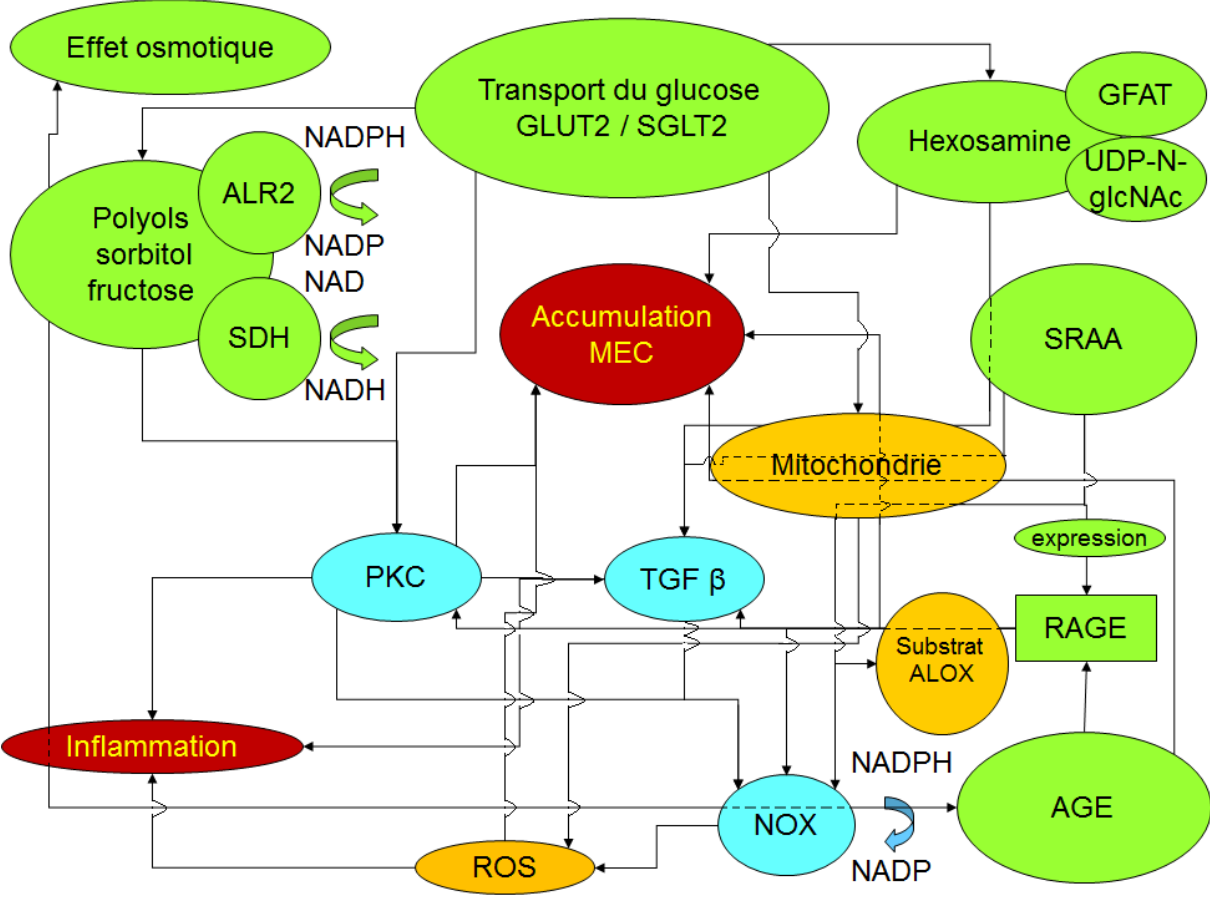


viii. Système Rénine Angiotensine Aldostérone

Les données sur le SRAA et l'atteinte rénale sont nombreuses, on retrouve d'une part un effet délétère de l'angiotensine II (ATII) sur les cellules mesangiales, épithéliales et tubulaires (75), et d'autre part des taux élevés d'ATII sont retrouvés lors de la néphropathie diabétique responsables de l'atteinte rénale propre (76) en plus des effets hémodynamiques bien connus pour être délétères pour le rein. Enfin l'intervention thérapeutique ciblant le SRAA a bien démontré son efficacité mais aussi ses limites dans le ralentissement de la nécessité de suppléance de la néphropathie diabétique. Cependant si son intérêt en prévention primaire reste discuté, son rapport coût bénéfice reste discutable (77). Au niveau génétique, de nombreuses études anciennes et récentes se sont intéressées à trois polymorphismes du SRAA : Insertion/Deletion du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, polymorphismes M235T de l'angiotensinogène, et A1166C du récepteur 1 de l'angiotensine 2 AGTR1. Les résultats restent cependant très hétérogènes, une méta analyse récente suggère un rôle principalement de AGTR1 mais dans la population de type II (78).



Résumer de l'ensemble de voies de signalisation :



5. Etude génétique

a. Etude familiale ou étude de ségrégation

Afin d'argumenter l'hypothèse d'un facteur génétique favorisant la survenue de la néphropathie diabétique, plusieurs auteurs se sont attachés à démontrer son héritabilité. Il s'agit d'étudier soit des paires de germains, soit des descendants (parents-enfants). L'étude la plus détaillée dans le domaine est celle de Quinn et al (79) puisque s'intéressant à l'incidence cumulative et non à la prévalence seule de la néphropathie diabétique. Au sein de 110 familles comportant plusieurs germains atteints de diabète de type 1, le risque de survenue de la néphropathie diabétique était de 25,4% si le cas index (défini comme le plus ancien dans l'évolution du diabète) était indemne de néphropathie et 71.5% si le cas index était néphropathe. Ces données sont confirmées dans d'autres populations de DT1 sur des études transversales malgré des définitions différentes de la néphropathie diabétique (80)(81). Au final il semblerait que l'héritage génétique dans la néphropathie diabétique chez des patients diabétiques de type 1 soit évalué à un sur-risque entre 2 (82) et 6 (83). Des données similaires existent également dans le diabète de type II (84). Des données parentales (85) retrouvent également que l'excrétion urinaire d'albumine chez des enfants sains de parents diabétiques, est plus élevée si le parent a développé une néphropathie. Enfin il semble que l'intensité des lésions rénales, ainsi que l'excès de matrice extracellulaire ont un caractère familial dans le DT1 (86).

L'association de facteurs génétiques de prédisposition vasculaire semble corrélée à l'albuminurie. L'étude EURODIAB(87) retrouve une corrélation entre l'antécédent parental d'hypertension et l'albuminurie chez les enfants diabétiques de type 1. Cependant les données sur l'albuminurie restent plus difficiles d'interprétation car pouvant refléter l'héritage du risque vasculaire plus que des phénomènes propres au rein. L'intrication de l'héritage du risque vasculaire et de la néphropathie diabétique semble cependant forte comme en témoigne le sur-risque de mortalité cardiovasculaire des parents de patients DT1 néphropathes comparés aux parents de patients DT1 non néphropathes (88).

Plusieurs modèles ont été décrits (89) dans la littérature : le modèle monogénique (effet majeur) où la présence de polymorphismes dans un gène, en interaction avec d'autres facteurs comme l'équilibre glycémique, explique la survenue de la néphropathie diabétique. Le modèle polygénique peut être, lui, scindé en deux. Le premier modèle proposant un effet propre modéré (de niveaux identiques pour chaque gène) de polymorphismes d'un nombre restreint de gènes, le second implique l'association de nombreux gènes où la présence de polymorphismes ajoute un risque supplémentaire mineur dans des degrés variables selon l'effet du polymorphisme. Les cohortes étudiées dans le diabète de type II supportent les deux modèles de façon identique (90)(91). Au vue de la corrélation prouvée de l'implication de différents gènes dans la survenue de la néphropathie diabétique tant dans le DT1 que le DT2, un modèle polygénique semble le plus probable.

Bien que ces études permettent d'évaluer la part génétique ou héritable dans la prédisposition à la pathologie, la tendance de l'association de plusieurs gènes de susceptibilité dans la survenue de la néphropathie diabétique limite l'utilité des analyses de ségrégations dans la mise en évidence des gènes impliqués. Cependant elles restent importantes pour l'étude de variants rares avec un effet majeur.

b. Analyse gènes candidats

L'approche gènes candidats se base sur la connaissance de la localisation, de la séquence et de la fonction d'un gène. On suppose à priori que la protéine exprimée joue un rôle dans la physiopathologie de la néphropathie diabétique, et que le polymorphisme étudié est susceptible de conduire à une modification de structure et de fonction. On réalise donc une comparaison différentielle de la répartition du polymorphisme entre les cas et les témoins. On considère qu'il est raisonnable d'étudier un polymorphisme uniquement si ce dernier est présent dans plus de 1% de la population à l'état homozygote. Ce type d'étude permet principalement l'étude de gènes ayant un effet modéré ou mineur (92) (ou encore appelés variant commun). Cependant ce type d'étude expose facilement au risque de conclure à tort à une association en cas d'hétérogénéité des cas et des témoins (faux-positif). C'est pour cela qu'il est nécessaire de valider de telles études au sein d'autres populations.

On peut alors étudier l'association entre le marqueur génétique et la maladie selon 4 modalités : dominant, récessif, co-dominant additif et co-dominant multiplicatif (93). Considérons « A » l'allèle le plus répandu et « a » l'allèle porteur du polymorphisme. Dans le modèle co-dominant les trois génotypes exposent à un degré différent de risque. Le modèle co-dominant se divise en additif (si le risque A/a est de X 4 alors le risque a/a est X 8) et multiplicatif (si le risque A/a est 4 le risque a/a est 16). On peut également comparer les patients A/A aux patients A/a + a/a pour un effet dominant, ou comparer les patients A/A + A/a aux patients a/a pour un modèle récessif ; ce dernier étant moins souvent utilisé car le nombre de patients composant le groupe a/a est souvent faible. La seconde méthode est la comparaison allélique : on observe si la fréquence de la présence de l'allèle « a » est significativement différente entre les groupes. Souvent utilisée elle ne préjuge pas du type d'effet du polymorphisme.

Enfin une troisième approche peut être réalisée, il s'agit de l'approche haplotypique, où l'on s'intéresse non pas à un polymorphisme mais plusieurs, ces derniers pouvant être localisés sur le même gène ou non. En général le nombre de polymorphismes étudiés reste limité (3 à 5 en général), car la population nécessaire est souvent importante pour ce type d'étude.

Pour la néphropathie diabétique chez le type 1, de nombreuses études se sont intéressées à plusieurs gènes candidats. L'ensemble des publications que nous avons pu répertorier sur ce thème sont résumées dans le tableau 1. Une méta-analyse récente (94) a retrouvé la confirmation de l'association de 21 polymorphismes à la néphropathie diabétique sur la survenue de la macroprotéinurie ou de l'IRCT, en population confondue ou sous-groupes : ACE, AKR1B1 (2 variants),

APOC1, APOE, EPO, NOS3 (2 variants), HSPG2, VEGFA, FRMD3 (2 variants), CARS (2 variants), UNC13B, CPVL and CHN2, and GREM1, ELMO1 (population asiatique), CCR5 (population asiatique) and CNBP1 (type 2 uniquement).

c. Criblage génomique large, « genome wide association studies » (GWAS)

La deuxième option pour la recherche de gènes de susceptibilité est le criblage large ou haut débit, il consiste à comparer plusieurs milliers de polymorphismes entre deux groupes. Il s'agit généralement de modifications génomiques échelonnées le long du génome (sur un chromosome ou sur le génome entier), et souvent basées sur les SNP (« single nucleotide polymorphism »). Il existe plusieurs millions de SNP le long du génome dont les fréquences sont très variables d'une population à l'autre, ces informations sont principalement issues du projet Hapmap (95). Pour une approche très large on utilise des « tagSNP ». Ces derniers représentent des régions du génome ne subissant que peu de recombinaison entre les générations. Ils sont donc très bien corrélés avec la présence de certains SNP dans les gènes les entourant. Leur répartition est bien connue dans les différentes populations et permettent une association indirecte, car ne représentent pas en tant que tels l'information, mais suppose l'effet d'un polymorphisme dans un gène de proximité (96). De ce fait tout SNP mis en évidence dans une étude de type GWAS doit être suivi d'une étude génétique plus poussée de la région d'intérêt. Cette approche permet donc au final d'envisager l'implication de gènes non suspectés dans la maladie causale et donc d'ouvrir de nouvelles pistes physiopathologiques.

L'utilisation de GWAS est particulièrement bien adaptée à la néphropathie diabétique qui est une pathologie complexe avec de multiples facteurs. En effet comme dans l'insuffisance cardiaque, la maladie d'Alzheimer et autres maladies multifactorielles, le concept de « maladie fréquente » / « variant fréquent » s'est développé (97). Il ne s'agit pas de découvrir un gène pathologique expliquant la totalité de la physiopathologie comme dans les maladies rares où la fréquence de la mutation est très proche de la fréquence de la maladie, mais de mettre en évidence des variants ayant chacun un petit effet. Cependant ce type d'étude nécessite de bien sélectionner la population afin d'éviter une hétérogénéité trop grande et ainsi de conclure à défaut, à l'absence de liaison (faux-négatifs). Les études de GWAS, au regard du grand nombre de polymorphismes étudiés et de la correction nécessaire pour le nombre d'analyses effectuées, nécessitent une fréquence de l'allèle à risque suffisamment importante, mais surtout ne détectent que des anomalies majeures ou modérées et non les corrélations mineures (98). De nombreuses études de GWAS sont référencées sur le site de la National Human Genome Institute GWAS catalogue (<http://www.genome.gov/gwastudies>). La technologie utilisée dans l'approche GWAS est celle d'une puce génomique qui permet d'analyser sur une seule et même puce plusieurs milliers de SNP (99), l'alternative actuelle du fait de la baisse des coûts, étant celle du séquençage complet du génome.

Les premières séries se sont intéressées aux paires de germains (« sib pair analysis »), initialement concordantes : groupe de germains diabétiques avec néphropathie versus groupe de germains diabétiques sans néphropathie ; puis discordantes : comparaison deux à deux de germains diabétiques dont l'un a développé une néphropathie diabétique et l'autre non. La comparaison de germains discordants permet d'obtenir une grande puissance, par définition ils sont très proches génétiquement, on diminue donc le bruit de fond de la variabilité génétique, ce qui permet de faire émerger les zones intéressantes, comme l'implication du chromosome 3q porteur de nombreux gènes candidats dont ceux du système rénine angiotensine aldostérone (100). Cependant une méta analyse récente de GWAS dans la néphropathie du diabète de type 1 (101) regroupant les trois plus grandes cohortes de DT1 (All Ireland Warren 3 Genetics of Kidneys in Diabetes UK Collection [UK-ROI], Finnish Diabetic Nephropathy Study [FinnDiane], and Genetics of Kidneys in Diabetes US Study [GoKinD US]), n'ont retrouvé de lien avec l'insuffisance rénale terminale qu'avec 2 SNP : rs7583877 du gène AFF3 (AF4/FMR2 family member 3) qui semble impliqué dans la fibrose tubulo interstitielle via le TGF- β 1, rs1243785 situé entre les gènes RGMA (repulsive guidance molecule for retinal axons) et MCTP2 (multiple C2 domains, transmembrane 2). Ils retrouvent également l'association de la néphropathie diabétique avec ERBB4 (Receptor tyrosine-protein kinase erbB-4) qui aurait un rôle dans la tubulogénèse. Une étude plus récente, tirée des participants de DCCT, a retrouvé des associations faibles avec les gènes FRMD3 et CARS, jusque là non suspectées (102). Ces études montre bien l'intérêt des GWAS dans la découverte de nouvelles pistes génétiques, mais nécessitent des confirmations ciblées. Cependant une récente méta analyse des gènes suspectés comme facteur de survenue de la néphropathie diabétique au sein de type 1 et associant ces grandes cohortes, ne retrouve pas d'association significative au niveau GWAS en dehors du polymorphisme rs161740 de l'EPO (103) y compris ceux retrouvés positifs dans la méta analyse de Mooyaart et al (94).

La limite principale de leur étude est la difficulté de classer la néphropathie diabétique : microalbuminurie – macroalbuminurie – débit de filtration glomérulaire < 60 ml/min – IRCT. En effet le groupe considéré comme sain était composé de patients normoalbuminuriques après 10 ans de diabète. Or de nombreux patients développaient une néphropathie et avec une IRCT plus de 10 ans après le début du diabète, ainsi le groupe contrôle est composé certes d'individus moins « graves » mais potentiellement atteints. Une étude de GWAS regroupant les cohortes Warren 3 et GoKind (104), n'a pas retrouvé de signal particulier sur 1711 patients malgré stratification sur le type d'atteinte rénale. Mais encore une fois la répartition dans les groupes des patients est un fait dynamique car les macroprotéinuriques ont été auparavant micro, et les insuffisants rénaux terminaux également. Si la stratification semble nécessaire, l'analyse dynamique (courbe de survie) est également nécessaire pour étudier l'impact de la génétique, ce que les études de GWAS peuvent plus difficilement faire. Dans le DT2, quatre « genome wide scan » complets ont été réalisés : chez les indien pima (105) la population turque (106), la population afro-américaine (107) et une population caucasienne (108). Ces dernières ont permis de mettre en évidence plusieurs régions du génome fortement associées avec la néphropathie diabétique : 2q36, 3q26, 5q, 7q35, 9q22, 15q12, 18q22.3-23, 20p12.

6. NADPH oxydase et p22 phox

a. Définition

Les cellules phagocytaires sont impliquées dans la réponse immunitaire non spécifique de l'hôte contre les agents pathogènes. Ce mécanisme de défense fait intervenir une enzyme : la NADPH oxydase (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase) qui va permettre la production d'ions superoxydes, espèces réactives de l'oxygène (ROS) responsables de la destruction des microorganismes à l'intérieur des cellules phagocytaires (109). Cette enzyme est un complexe protéique qui se compose d'un élément membranaire, le cytochrome *b₅₅₈* formé lui-même de deux sous-unités *p22phox* et *gp91phox* (ou Nox2) et de facteurs cytosoliques *p47phox*, *p67phox* et *p40phox*. Durant les années 90, l'amélioration de la sensibilité des techniques a permis la détection de faibles quantités d'espèces réactives de l'oxygène dans différents types cellulaires autres que les cellules phagocytaires. Actuellement, 4 enzymes homologues de Nox2 ont été découvertes et répertoriées dans la famille Nox (pour NADPH oxydase) (110). Des analogues de *p47phox* et de *p67phox* ont été identifiés : respectivement Noxo1 (Nox organizer 1) et Noxa1 (Nox activator 1) dans des cellules non phagocytaires. De manière générale, les homologues de Nox2 sont supposés être impliqués dans la défense de l'hôte, la transduction du signal et/ou la perception de l'oxygène (« oxygen sensing ») mais également dans la balance oxydant/antioxydant de la cellule. La caractérisation de leur implication dans les processus physiologiques et physiopathologiques est un domaine d'étude en plein essor et les oxydases non phagocytaires sont de plus en plus considérées comme d'éventuelles cibles thérapeutiques dans des pathologies comme le cancer, l'hypertension ou les maladies cardiaques et les maladies neurodégénératives. Les Nox1, 3 et 4, tout comme Nox2, forment un hétéro dimère avec *p22phox*, une association qui est absolument requise pour qu'elle soit fonctionnelle. A l'inverse des Noxs qui sont exprimées spécifiquement dans certains types cellulaires (Nox2 dans les phagocytes et les neurones, Nox4 dans les cellules rénales, Nox3 dans les cellules épithéliales au niveau de l'oreille interne...), *p22phox* est une protéine ubiquitaire mais essentielle à l'activité oxydase (cf structure en annexe).

b. Implication dans la néphropathie diabétique

La production de ROS au sein du rein est en majeure partie due à Noxs et à la mitochondrie. Bien que Nox 1,2 et 4 soient présentes au sein des cellules rénales (mesangiales, tubulaires principalement) il semble que Nox 4 (appelée Renox) soit l'enzyme responsable de la gestion du stress oxydant au sein de la médulla rénale. En effet la majorité de la production d'H₂O₂ rénale, notamment tubulaire semble provenir de Nox4 (111). De plus Nox4 reste inductible par d'autres facteurs qui sont également majorés dans le diabète comme la PK-C (112), le TGF-β (113) ou l'angiotensine II (114). Dans différents modèles animaux ou cellulaires, l'hyperglycémie ou le caractère diabétique conduit à une augmentation de l'expression de Nox4, *p22phox* mais pas de Nox1 ou Nox2 (115)(116). Cependant les données sur l'effet du blocage de Nox4 sur l'albuminurie dans les modèles diabétiques sont assez contradictoires parfois délétères dans des modèles de type 1 (111) et bénéfiques dans des modèles de type 2 (117)(118).

L'excès de ROS dans les modèles cellulaires rénaux conduit à l'activation de différentes voies de signalisation ; d'une part une boucle d'activation par l'augmentation du TGF- β lui-même inducteur de Nox (119), d'autre part l'excès de ROS induit par le diabète va également conduire à l'activation de la voie des MAPK , NF κ -B(69), AP-1(120), ou de la fibronectine (121) pourvoyeurs de lésions favorisant la fibrose.

Au niveau génétique en dehors de l'étude de *p22phox* ci-dessous, un polymorphisme de *CYBB* dans la région promotrice, a été étudié et semble corrélé à la néphropathie protéinurique dans le sous groupe des femmes, alors qu'il est porté par le chromosome X (122).

c. Polymorphisme C242T de *CYBA* (rs4673 ou H72Y)

Fonctionnalité du polymorphisme :

P22phox ou cytochrome b-245 alpha polypeptide, est une protéine codée par le gène *CYBA* situé en 16q24. Différents polymorphismes responsables de mutations non sens ont été décrits dans la littérature : C242T, A640G, A930G. La présence de l'allèle T conduit au changement d'une histidine en tyrosine au niveau de l'acide aminé 72 situé dans l'exon 4. *p22phox* doit être nécessairement ancrée à une Nox pour que celle-ci soit fonctionnelle et puisse générer des ROS. Cette association est donc primordiale pour le bon fonctionnement des Noxs. Un polymorphisme de *p22phox* pourrait moduler positivement ou négativement cette association et indirectement le bon fonctionnement de la NADPH oxydase.

Au sein des polynucléaires (123) et des cellules endothéliales (124) qui expriment principalement Nox2, l'allèle T semble associé à une baisse de l'activité oxydase de la NADPH oxydase, bien que les données au sein de la population asiatique soient discordantes (125). Chez l'homme la présence de l'allèle T semble associée à une augmentation des récepteurs de transmigration endothéliale (E-selectine et I-CAM 1) (126), mais les données sur la modification du stress oxydant à l'exercice semblent négatives (127)(128). Enfin les cellules musculaires lisses semblent exprimer un niveau de TNF α plus élevé en cas d'allèle T (129).

Répartition du polymorphisme dans la population :

La prévalence du polymorphisme varie significativement selon les populations, nous avons référencé 48 études ayant évalué l'impact de ce polymorphisme au sein de différentes pathologies (Table P22). Nous avons recueilli la prévalence du caractère homozygote TT. En Europe sur 9 études regroupant 3972 patients 12.1% sont TT, aux USA sur 5 études (1467 patients) 14.16% et en Asie, 8 études (5331 patients) 1.29% ($p < 10^{-10}$).

Dans le diabète :

Une étude (130) au Royaume-Uni a évalué l'association entre la néphropathie diabétique chez le type 1 avec une ancienneté du diabète de 31 ans en moyenne. Ils retrouvent une prévalence de néphropathie significativement plus élevée chez les patients TT (90% de néphropathie si TT, 69% si TC et 45% si CC) représentant un OR de 8.25. Cependant le nombre de patients néphropathes reste plus élevé que dans la population de type 1 classique (62.5%) et une prévalence du génotype plus élevée que dans la population européenne évoquant aux auteurs l'association de T242 comme facteur favorisant la survenue du diabète de type 1. Cependant une étude familiale américaine retrouve une transmission accrue du génotype CC chez les types 1 néphropathes (131). Trois études sur des populations asiatiques (132) (133) et hispaniques (134) se sont posées la même question dans le diabète de type 2. Les données étaient plus discordantes avec un sur-risque dans la population hispanique (134) pour la survenue d'une macroprotéinurie dans le sous-groupe de patients fumeurs (OR 6.72 pour l'association CT+TT versus CC). Mais il n'a été pas montré de différence significative par rapport aux patients micro ou macro protéinuriques et un effet protecteur (OR 0.43) (132) ou nul dans la population asiatique (135). Cependant la prévalence du polymorphisme reste faible dans les populations asiatiques, avec un faible effectif pour l'étude de Matsunaga-irie.

Le polymorphisme C242T a également été étudié au sein de populations asiatiques dans la dyslipidémie des diabétiques de type 2, associé à une baisse du LDL , mais une augmentation de la proportion de LDL oxydé (136). Enfin 242T est également associé au risque d'accumulation de mutation de l'ADN mitochondrial exposant à la survenue du diabète de type II (137).

Dans les maladies cardiovasculaires :

De nombreuses études se sont attachées à démontrer un lien entre C242T *CYBA* et la maladie coronarienne. La méta-analyse de Gu et al. (138) ne retrouve pas d'effet quelque soit le modèle utilisé (dominant, co dominant, récessif, ou allélique) sur 8 études (une seule européenne). La méta-analyse de Fang (139) arrive aux mêmes conclusions (16 études dont 6 européennes), mais retrouve un effet protecteur sur la survenue d'athérome coronarien dans la sous population asiatique. Les données sont discordantes tant sur la rigidité artérielle (tendance au risque si TT) (129)(140) que dans l'accident vasculaire cérébral (tendance au risque si TT) (141) (142), ou le syndrome d'apnée du sommeil (143) (144).

Dans les autres domaines :

Quelques études ont évalué l'impact du polymorphisme dans la survenue de pathologies inflammatoires ou oncologiques sans succès. Enfin il semblerait que l'effet du polymorphisme soit renforcé en cas de tabagisme (145)(146)(134).

7. Récepteur des produits avancés de glycation : RAGE

a. Définition

RAGE (AGER) pour « advanced glycosylation end product-specific receptor » est un récepteur transmembranaire de la superfamille des immunoglobulines. Il est codé sur le chromosome 6p21.3, comporte 5 domaines (cytosolique pour la transduction, membranaire, deux domaines constants, et un domaine variable qui assure la liaison au ligand). Il appartient au groupe des « scavenger receptor » avec de multiples ligands (AGE, S100/calgranuline, HMGB1 (Amphoterin), Amyloid- β -protein, Mac-1, phosphatidylserine) dont le principal est le produits avancés de glycation (AGE).

Plusieurs polymorphismes de *RAGE* ont été décrits (-1420 (GTT), -1393 G/T, -1390 G/T, -1202 G/A, -405 to -345 délétion, -429 T/C -374 T/A, Ala2Ala (GCT/GCA), 67 C/G, , Lys37Ser, Arg77Cys, Gly82Ser, Val89Val (GTG/GTC), Gly90Gly (GCT/GCA), 718 G/T, Thr187Pro, 1704 G/T, A insertion 1727, His305Gln, Ser307Cys, Gly329Arg, 2117 A/G, 2184 A/G, 2224 A/G Intron 8 N/A 78, 2245 G/A, 2249 A/G, Leu363Leu (CTG/TTG), Arg389Gln, CA délétion 3089, del63) dont certains ont été évalués dans la néphropathie diabétique chez le type 1. (Table génétique DT1 et néphropathie).

b. Rôle dans la néphropathie diabétique

De nombreuses études se sont intéressées à l'impact des AGE tant sur des modèles cellulaires qu'animaux retrouvant une activation du stress oxydant (147), de la PKC (148)(149), de la fibrose (150) ou encore de l'inflammation (151). *RAGE* ainsi que ses ligands, les AGE, ont été retrouvés dans les reins humains, notamment au niveau podocytaire et endothélial (152), et leur expression est majorée en cas de diabète. Plusieurs modèles ont bien montré l'impact du blocage de *RAGE* par des molécules chimiques, la forme soluble de *RAGE* (153), ou des anticorps monoclonaux (154) qui améliorent des modèles cellulaires ou animaux de diabète. Une des preuves les plus fortes est la protection des stigmates de néphropathie chez les souris KO pour *RAGE* (155). Dans ces modèles on retrouve également une baisse du TGF- β . Enfin la stimulation de *RAGE* par les AGE conduit à la production de CTGF de façon TGF- β indépendante, par les cellules tubulaires et donc induit la fibrose (156). Enfin il semblerait que le système rénine angiotensine via l'AT2 induit l'expression de *RAGE* au niveau podocytaire (157). Pour finir, l'aminoguanidine substance qui bloque les AGE a permis en clinique d'améliorer la fonction rénale et de diminuer la protéinurie démontrant formellement l'impact des AGE dans la néphropathie diabétique. Malheureusement cette molécule n'a pu poursuivre son développement du fait d'effets indésirables (158). Une méta analyse dans le DT2 n'a pas retrouvé de liens entre les polymorphismes Gly82Ser, 429 T/C, 1704 G/T de *RAGE* et la néphropathie diabétique (159).

c. Polymorphismes -374T/A (rs1800624) et -429T/C (rs1800625)

Fonctionnalité du polymorphisme :

Les polymorphismes sont situés dans la région promotrice du gène de RAGE et donc suspects d'influencer l'expression du gène. Des études *in vitro* rapportent une élévation de l'expression du gène en cas de présence de ces 2 polymorphismes (également pour delta63) avec une tendance supérieure de -374A (160)(161) malgré quelques données contradictoires (162) sur des cellules granulomateuses. Bien que les données soient hétérogènes, la présence de l'allèle A374 semble associée à une augmentation de la forme soluble de RAGE uniquement sous sa forme sRAGE issue du clivage du récepteur (163)(164)(165)(166)(167), mais pas esRAGE (168)(169) sécrétée de façon endogène ; alors qu'il ne semble pas que l'allèle C429 soit associé à une modification d'expression de sRAGE (170)(163)(171)(165), mais peut être une tendance à l'augmentation de la forme esRAGE (168). Enfin le génotype CC de -429T/C semble associé à un degré d'insulino résistance plus élevé (172) avec une HBA1C moyenne plus élevée chez les porteurs diabétiques de type 1(173), alors qu'il n'y a pas d'impact de -374T/A.

Répartition du polymorphisme dans la population :

Nous avons retrouvé 54 études s'intéressant au polymorphisme -374T/A. La prévalence de l'homozygotie AA est de 7.6% sur 16 études européennes regroupant 10657 patients, et de 12.5% sur 5 études regroupant 4438 patients asiatiques ($p < 10^{-10}$).

Nous avons retrouvé 38 études s'intéressant au polymorphisme -429T/C. La prévalence de l'homozygotie CC dans la population européenne est de 4% sur 11 études regroupant 4249 patients, et de 6.8% sur 7 études asiatiques regroupant 4423 patients ($p < 10^{-8}$).

Dans le diabète :

Dans la néphropathie diabétique les données sont contradictoires dans le type 1 avec une augmentation du risque dans un modèle dominant (AA ou AT versus TT, OR 1.7)(174), et d'autre part une association négative dans un modèle récessif, en dehors du groupe avec HBA1C > 9.5% où la présence du polymorphisme semble protectrice (175). Cependant ce sous groupe présentant déjà un risque fort, d'autres mécanismes peuvent représenter un biais de confusion. Dans le type 2, une seule étude a été réalisée retrouvant cette fois un rôle protecteur (174). Pour -429T/C les données globales ne sont pas en faveur d'un lien comme en témoigne une méta-analyse récente (176). Cependant l'effet semble lié aux populations avec une tendance aux risques dans les populations européennes (177) et hispaniques (178).

Une méta-analyse récente ne retrouve pas d'association entre le polymorphisme -374T/A ou -429T/C et la survenue du diabète (179). Les données sont également négatives dans le domaine de la rétinopathie (180)(181)(182). Enfin les polymorphismes de RAGE ne semblent pas associés à la mortalité toutes causes dans le diabète de type 1(163).

Dans les maladies cardiovasculaires :

Un consensus semble se dégager sur l'effet protecteur vasculaire du génotype AA dans l'artériopathie coronaire (183), mais pas dans un modèle allélique (184). Cependant l'effet bénéfique vasculaire de 374A ne semble intéressant que dans le sous-groupe non diabétique (185), exposant a contrario les patients diabétiques à une élévation de la pression artérielle systolique et de la rigidité artérielle (186).

d. Lien entre RAGE et Nox

Plusieurs données laissent supposer des voies de communication communes à Nox et RAGE. En effet l'exposition de cellules mésangiales aux AGE conduit à l'augmentation d'expression de p47phox et de l'activité de Nox (187) par un mécanisme dépendant de la PK-C (188). L'exposition aux AGE de cellules endothéliales conduit également à l'augmentation d'expression de Nox2 (189). Enfin le blocage de Nox inhibe l'activation de la PKC induite par les AGE (190).

8. Lipoxygénase

a. Définition

Cette enzyme permet l'oxydation des acides gras poly-insaturés en lipides comportant une structure de type cyclique pentadiène formant les eicosanoïdes (leucotriènes, prostaglandines). Plusieurs lipoxygénases existent chez l'homme ALOX5, ALOX12 et ALOX15. La structure des lipoxygénases associe un PLAT domaine en N-terminal et un domaine catalytique en C terminal comportant un ion fer. Alox12 catalyse en présence d'O₂ et d'acide arachidonique la synthèse d'acide 12(S)-Hydroxyeicosatétraénoïque (12 (S)HETE) ; un stéréo isomère étant produit par le cytochrome p450 (12(R)-HETE) (191). Les effets les plus étudiés du 12-HETE concernent principalement l'hypertension artérielle et l'atteinte vasculaire. Son action semble vasoconstrictrice (192), comme en témoigne l'effet hypotenseur de blocage de ALOX12 chez le rat (193). Il semblerait que les produits d'ALOX 12 servent de médiateur aux effets vasculaires de l'angiotensine II (194), et notamment en étant impliqués dans la sécrétion d'aldostérone (195). Enfin des données confirment une production rénale de 12-HETE principalement par les cellules glomérulaires (196). Plusieurs polymorphismes ont été décrits : rs3840880, rs9897850, rs312466, rs2292350, rs1126667, rs434473, rs1042357, rs11571340, rs2307214, rs312462, rs11571353, rs7338.

b. Rôle dans la néphropathie diabétique

On retrouve un faisceau d'arguments en faveur d'un rôle d'ALOX 12 dans la néphropathie diabétique. D'une part on note une expression locale de ALOX12 avec production de 12-HETE dans le rein de rats, dont l'expression est principalement au dépend des cellules glomérulaires (196). De plus les cellules mésangiales exposées à des conditions « high glucose » manifestent une induction de l'expression d'ALOX12. Enfin on retrouve une élévation d'ALOX 12/15 (équivalent murin d'ALOX12) et de 12S-HETE chez les souris db/db, et le blocage de d'ALOX 12/15 diminue dans ces conditions l'interaction entre les monocytes et cellules endothéliales (197).

c. Polymorphisme *Arg261Gln* (ou *G835A*, rs1126667)

Fonctionnalité du polymorphisme :

Ce polymorphisme est situé sur l'exon 6 du gène *ALOX 12* codé sur le chromosome 17p13.1. Il semble fonctionnel devant l'augmentation de l'activité d'*ALOX12* en cas de génotype AA versus GG (198) mais également une modification de la cinétique enzymatique (199).

Répartition du polymorphisme dans la population :

Nous avons retrouvé 10 études s'intéressant au polymorphisme *Arg261Gln* (Table *alox*). La prévalence de l'homozygotie AA (Gln/Gln) est de 15.5% sur 2 études européennes regroupant 2082 patients, 23% sur une étude asiatique de 895 patients ($p < 10^{-7}$).

Dans le diabète :

A notre connaissance une seule étude s'est intéressée à *Arg261Gln*, on retrouve une association significative entre le génotype AA et l'excrétion urinaire d'albumine chez des patients diabétiques de type 2 (200).

Dans les maladies cardiovasculaires :

Une étude européenne sur 366 patients dans l'HTA retrouve une prévalence significativement plus importante du génotype AA chez les patients contrôles par rapport à des patients souffrant d'HTA essentielle, reflétant un potentiel rôle protecteur (201).

Dans les autres domaines:

Ce polymorphisme a particulièrement été étudié dans les pathologies oncologiques montrant un effet protecteur du génotype AA dans le cancer du sein (202) et oesophagien (198). Il n'y a pas d'associations au cancer colo-rectal (203). On retrouve également plusieurs données conflictuelles sur la densité minérale osseuse avec un effet bénéfique du génotype AA (204) et de l'autre une association faible en défaveur (205), associée à un risque fracturaire non modifié(206).

9. Objectifs

Notre potentiel d'inclusion étant limité nous avons opté pour une approche gène candidat de la néphropathie, une analyse de type GWAS étant inappropriée. Notre choix s'est porté sur trois gènes dont les données animales et humaines supposent une implication forte dans la physiopathologie de la néphropathie diabétique autour du stress oxydant. *p22phox* du complexe NADPH oxydase, *RAGE* et *ALOX12*. Le critère principal de l'étude pour le calcul d'effectifs, est la mise en évidence de l'effet du polymorphisme C242T de *p22phox* dans la survenue de la néphropathie diabétique au stade de microalbuminurie. Les critères secondaires sont l'effet des polymorphismes -374T/A, -429T/C de *RAGE* et Arg261Gln de *ALOX12*. Puis nous avons validé ces données dans la survenue de l'insuffisance rénale terminale, et la recherche d'une association à la rétinopathie diabétique afin d'argumenter la spécificité rénale des associations observées.

10. Méthodologie

a. Critères d'inclusion et exclusion

Critères d'inclusion :

- Patient diabétique de type 1 caucasoïde
- Age > 20 ans
- Durée du diabète ≥ 20 ans (la date du diagnostic étant celle de la première utilisation d'insuline)
- Hors période d'exclusion d'une autre étude
- Consentement éclairé lu, approuvé et signé
- Affiliation à la Sécurité Sociale

Critères d'exclusion :

- Patient chez qui la nosologie du diabète est imprécise (le diagnostic de diabète de type 1 s'appuiera sur les critères suivants : BMI maximal, tendance spontanée à la cétose, délai entre le diagnostic et la mise définitive à l'insuline, terrain autoimmun).
- Présence d'une néphropathie d'origine non-diabétique, rendant impossible le diagnostic de présomption de glomérulosclérose diabétique, hors examen histologique.
- Personne visée aux articles L1121-5 à L1121-8 du code de santé publique.

b. Critères de jugement

- Définition de la néphropathie diabétique :

Les patients présentant l'apparition d'une excrétion urinaire d'albumine > 30mg/l ou 20mg/g, confirmée sur un second échantillon sont considérés comme néphropathe. Il a été retenu la date de première constatation d'une microalbuminurie comme date de survenue de la néphropathie (Critère principal).

L'insuffisance rénale terminale est définie comme la nécessité d'un recours à une technique de remplacement rénal (dialyse péritonéale, hémodialyse ou transplantation préemptive), la date d'initiation de la technique d'épuration extra rénale ou de la greffe préemptive a été retenue comme date de survenue de l'insuffisance rénale terminale (Critère secondaire).

- Définition de la rétinopathie :

La présence d'une rétinopathie a été validée par la réalisation d'un fond d'œil dans les 12 mois précédant l'inclusion. Pour les patients n'ayant pu justifier d'un fond d'œil récent, ce dernier a été réalisé dans les 2 mois suivants la consultation d'inclusion. Une rétinopathie a été retenue devant la présence de microanévrisme au fond d'œil, de forme exsudative, de forme proliférante, de forme ischémique (Critère secondaire).

- Définition des autres paramètres :

Le tabagisme a été défini comme l'absence de sevrage tabagique dans les 3 années précédant l'inclusion pour les non néphropathes, ou dans les 3 années précédant la survenue de la néphropathie chez les néphropathes.

L'HBA1C des patients est une moyenne des 2 dernières mesures et de la mesure le jour de l'inclusion des patients.

Les paramètres anthropométriques (taille et poids) et cliniques (pression artérielle systolique et diastolique) ont été recueillis lors de l'inclusion. Le recueil des antécédents et comorbidités sont issus des données du dossier médical.

c. Site et période de recrutement

L'ensemble des patients a été recruté soit dans le service d'endocrinologie-diabétologie en consultation, soit dans le service de transplantation rénale pour les patients porteurs d'une greffe rénale ou d'ilots.

100 patients sont issus d'un précédent recrutement pour le protocole HAPTODIAB (DRCI 05-CHUG-31 ; 2004-2006), les données concernant leur statut rénal ont été mises à jour avec une date de point au 01.01.2008.

Afin d'obtenir le nombre de sujets nécessaires, l'ensemble des patients non inclus dans HAPTODIAB, suivis par le Pr Benhamou P-Y, et de plus de 20 ans d'ancienneté de diabète se sont vu proposer l'étude jusqu'à l'obtention du nombre de sujets nécessaires. Les inclusions se sont étalées du 01.04.2011 au 01.04.2013 permettant d'inclure 70 patients.

d. Recueil des prélèvements

Lors de l'inclusion des patients un échantillon d'urine au réveil, et une prise de sang ont été réalisés en HDJ d'endocrinologie ou de néphrologie pour la réalisation de :

- microalbuminurie par immunoturbidimétrie
- créatininurie par Colorimétrie (méthode de Jaffé)
- HBA1C par HPLC
- créatininémie par Colorimétrie cinétique ou enzymatique

Un tube de sang sur citrate de 5ml a également été prélevé pour l'analyse génétique.

e. Extraction de l'ADN

L'ADN génomique (ADNg) a été obtenu après isolation des leucocytes sur Ficoll, et extraction de l'ADN grâce au kit "Wizard Genomic purification kit" de Promega®, en respectant les recommandations du constructeur.

La concentration en ADN de chaque échantillon a été mesurée par spectrométrie sur un appareil Nanodrop® 2000. L'ADN obtenu a ensuite été congelé à -80°C avant réalisation des amplifications.

f. Amplification PCR

Les séquences des amorces utilisées ainsi que les réactifs et les températures d'hybridation sont décrites dans les tables ci-dessous:

Produit	Fournisseur	Concentration initiale	Concentration finale	Volume pour un échantillon (µL)
Eau distillée	Aguettant			41.45
Buffer 10X	MP Biomedical	10 U/ µL	1 U/ µL	5
DNTP	MP Biomedical	5 mM	0,2 mM	2
Amorce sens	Invitrogen	40 µM	0,25 µM	0.35
Amorce antisens	Invitrogen	40 µM	0,25 µM	0.35
TAQ polymerase	Invitrogen	5 U/ µL	1,25 UI/ µL	0.25
ADNg	Patients	200 ng/ µL	120 ng/ µL	0.6

Gène amplifié	Amorce	séquence	Distributeur	Taille de l'amplifiat
Exon 4 <i>CYBA</i> 16q24	Sens	AACACTGAGGTAAGTGGGGGTGGGTCCTGT	Invitrogen®	348 pb
	Antisens	TGCTTGTGGGTAAACCAAGGCCGGTG		
Promoteur <i>RAGE</i> 6p21.3	Sens	GGGGCAGTTCTCTCCTC		344 pb
	Antisens	TCAGAGCCCCCGATCCTATTT		
Exon 6 <i>ALOX 12</i> 17p13.1	Sens	CTGGCAGGATGATGAGTTGTT		244 pb
	Antisens	AGTACTAGCAGCCTTCCTCTG		

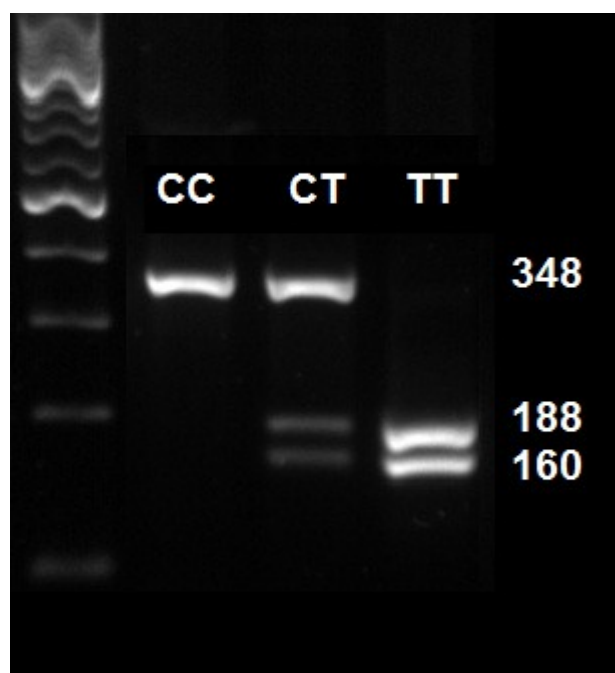
	T° de dénaturation	Durée	T° d'hybridation	Durée	T° d'élongation	Durée	Nb de cycles
RAGE CYBA	95°C	45 sec	60°C	30 sec	72°C	30 sec	38
ALOX	95°C	45 sec	59°C	30 sec	72°C	30 sec	38

g. Analyse de *CYBA* et *RAGE* par digestion par enzyme de restriction

Une fois l'amplifiat obtenu, les polymorphismes de *CYBA* et *RAGE* ont été analysés par coupure par des enzymes de restriction, puis l'apparition des fragments digérés et leurs tailles ont été analysées après migration sur gel d'agarose 2% et lecture par un appareil BioRad® et logiciel ImageLab®.

i. *CYBA* C242T

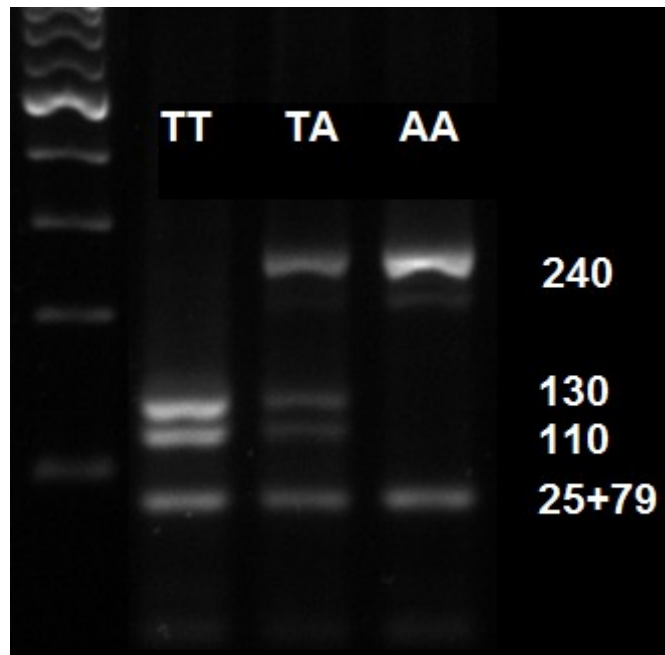
Le polymorphisme C242T fait apparaître un site de coupure dans l'amplifiat reconnu par l'enzyme RSA1 (Roche®) (5 UI d'enzyme pour 10 µL de produit PCR, coupure à 37°C pendant 12h). En cas de présence de l'Allèle T on retrouve deux fragments de 188 et 160 pb. Ainsi la présence d'un seul fragment représente les patients CC, deux fragments les patients TT, et 3 fragments les patients CT.



ii. *RAGE* 374T/A

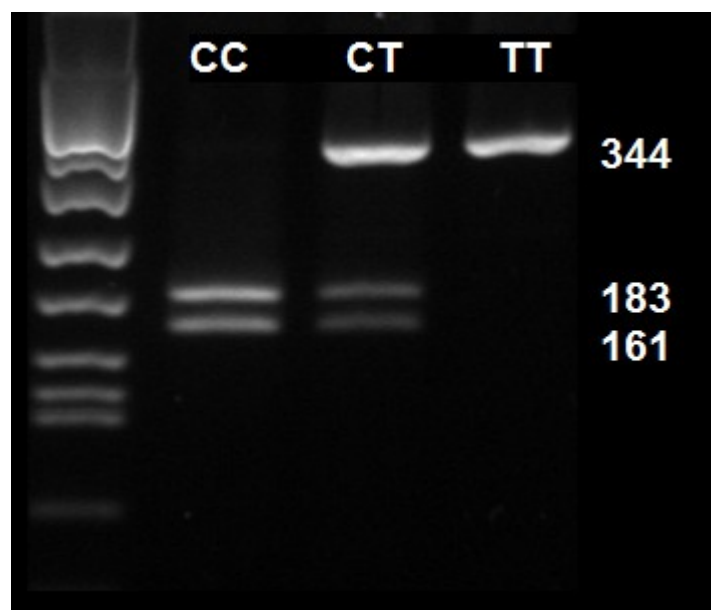
Le polymorphisme 374 T/A fait apparaître un site de coupure dans l'amplifiat reconnu par l'enzyme TSP 5091 (New England Biolabs®) (5 UI d'enzyme pour 10 µL de produit PCR, coupure à 65 °C pendant 2h). Sur l'amplifiat il existe deux premiers sites de coupure indépendants du polymorphisme avec une bande à 29 et 75 pb (qui sont confondues et non distinguables dans la migration que nous réalisons) et 240 paires de bases. En cas de présence de l'Allèle T on retrouve deux fragments de

130 et 110 pb. Ainsi la présence de deux fragments (29+75 confondue, et 240) représente les patients AA, trois fragments les patients TT, et 4 fragments les patients TA.



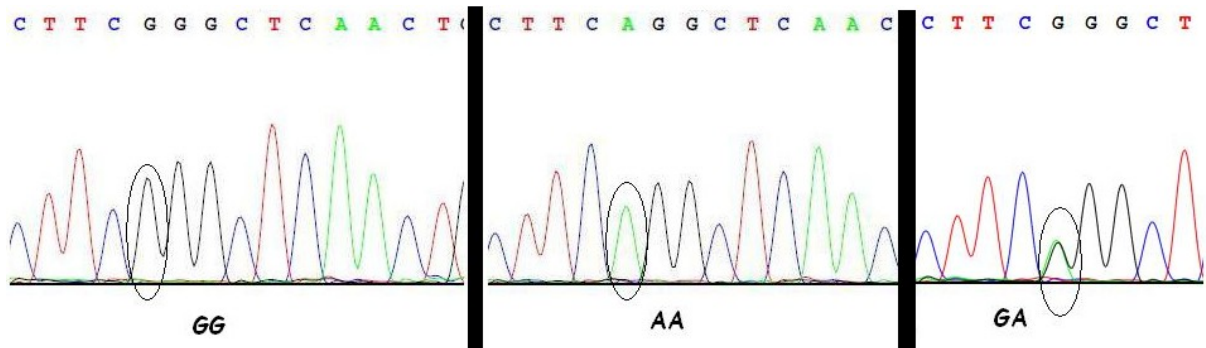
iii. *RAGE 429 T/C*

Le polymorphisme 429 T/C fait apparaître un site de coupure dans l'amplifiat reconnu par l'enzyme ALU 1 (Roche®) (5 UI d'enzyme pour 10 µL de produit PCR, coupure à 37°C pendant 12h). En cas de présence de l'Allèle C on retrouve deux fragments de 183 et 161 pb. Ainsi la présence d'un seul fragment représente les patients TT, deux fragments les patients TT, et 3 fragments les patients CT.



h. Analyse de ALOX12 par séquençage

Le polymorphisme Arg261Gln ne pouvant être détecté par digestion enzymatique, il a été réalisé un séquençage direct du produit PCR amplifié par le laboratoire Eurofin®, permettant de déterminer les spectres comme ci-dessous :



i. Statistiques

i. Calcul du nombre de sujets nécessaires

Afin de déterminer le nombre de sujets nécessaires à inclure nous pouvons nous baser sur l'étude de Hodgkinson (130). On observe dans le groupe de sujets diabétiques indemnes de toute atteinte microvasculaire ou atteint uniquement de rétinopathie 5,7 et 6,5 % de patients porteurs du phénotype TT contre 33,3 % dans le groupe néphropathie. Cependant la prévalence du polymorphisme semble plus élevée que dans la population générale. Ainsi en posant l'hypothèse faible d'avoir 10% Vs 25% pour un seuil alpha à 5% et une puissance de 85%, on obtient un nombre nécessaire de 48 sujets par groupes. La prévalence de la néphropathie étant estimée à 30%, il a été décidé de prendre ainsi 160 patients qui formeront statistiquement un groupe de 48 néphropathes contre 122 non néphropathes pour le critère primaire, 10% d'inclusion supplémentaire étaient prévus en cas d'exclusion, 170 dossiers ont été traités.

ii. Méthodes statistiques

L'ensemble des données statistiques a été analysé avec le logiciel STATA 12.0. La comparaison des variables qualitatives a été réalisée par chi2 ou test exact de Fisher selon le nombre de sujet par groupe, les données sont présentées par le nombre et le pourcentage. Pour les variables quantitatives, elles ont été comparées par test t de Student et présentées par la médiane et l'écart type en cas de distribution normale, par test de Wilcoxon en cas de distribution ne suivant pas une loi normale et représentées par la médiane et le 1ier et 3ième quartile. Les analyses de survies ont été réalisées par test du Log Rank. L'ensemble des variables avec une p value < 0,2 ont été retenues pour la création pas à pas d'un modèle de cox. La linéarité de toutes les variables a été préalablement vérifiée par le "proportional hazard ratio assumption test".

L'étude a été validée par le CPP sud est V et inscrite sur clinical trial n° NCT01371955.

11. Résultats

a. Description de la population et des variables clinico-biologiques :

i. Description générale

Nous avons inclus 170 patients, 4 ont été exclus car déjà inclus précédemment réalisant un doublon, un patient exclu car d'origine non caucasienne, et 3 patients devant une étiologie incertaine de la néphropathie, réalisant une population d'étude de 162 patients. La population globale est âgée de 48,7 +/- 12,1 ans, avec un sexe ratio proche de 1. Les patients sont plutôt dans la fourchette haute de l'IMC attendu (24.2 +/- 3,8) témoignant d'un nombre non négligeable de patients en surpoids, sans patient amaigri (table R1). La tension artérielle des patients en consultation semble équilibrée malgré des chiffres un peu élevés dans la population atteinte de néphropathie.

ii. Le diabète

Plus de la moitié des patients à une HBA1c \leq à 7,5%, et 55% bénéficient d'un traitement par pompe sous cutanée à insuline. L'ancienneté du diabète est de 33 ans en moyenne. La majeure partie de la population (58%) a développé un diabète dans l'enfance (avant 15 ans et 3 mois). Le critère d'inclusion nécessitant un recul minimum de 20 ans de la néphropathie 61% de la population a développé son diabète avant les années 1980. La prévalence du tabagisme est modérée (26 % de la population).

Table R1 Caractéristiques épidémiologiques de la population néphrodianox.
Résultats présentés en nombre (pourcentages) pour les variables qualitatives, et moyenne +/- écart type ou médiane [interquartile] pour les variables quantitatives selon leur distribution.

Caractéristiques de la population	Population globale (n=162)	Néphropathie (ND+, n=53)	Contrôle (ND-, n=109)
Age (années)	48,7 +/- 12,1	48,2 +/- 10,6	48,9 +/- 12,8
Sexe			
Homme	87 (53)	35 (66)	52 (48)
Femme	75 (46)	18 (34)	57 (52)
Durée du diabète (années)	32,9 +/- 9	33,9 +/- 7,9	32,4 +/- 9,4
Age au diagnostic du diabète			
Age moyen	15,8 +/- 10,3	14,3 +/- 9,9	16,5 +/- 10,5
< 15ans, 3 mois	94 (58)	36 (68)	58 (53)

≥ 15ans, 3 mois	68 (42)	17 (32)	51 (47)
Année diagnostic du diabète			
< 1980	99 (61)	34 (65)	65 (60)
≥ 1980	63 (39)	19 (35)	44 (40)
HAB1c (%)	7,7 [7-8,6]	8,2 [6,9-9,2]	7,7 [7-8,4]
>7.5 %	92 (57)	33 (62)	59 (54)
≤7.5 %	70 (43)	20 (38)	50 (46)
Type de traitement			
Pompe	73 (45)	18 (34)	55 (50)
Multi-injection	89 (55)	35 (66)	54 (50)
Tabagisme	42 (26)	13 (25)	29 (27)
TAS (mmHg)	130 [120-140]	135 [125-145]	130 [120-140]
TAD (mmHg)	80 [70-80]	80 [70-81]	80 [71-85]
IMC (Kg/m ²)	24,2 +/- 3,8	24 +/- 0,6	24,3 +/- 0,4

iii. Les complications

Au sein de notre étude, 53 patients sur 162 (32,7%) remplissaient les critères de survenue de la néphropathie diabétique. Ces patients ont logiquement un MDRD plus bas et une microalbuminurie significativement plus haute. A noter que parmi le groupe néphropathie il y a des patients dont la microalbuminurie a été contrôlée par le blocage du système rénine angiotensine, et des greffés (Table R2).

Les patients de néphrodianox présentent de par leur ancienneté une prévalence élevée de complications macro vasculaires (14% de coronaropathie, 8% d'ischémie périphérique), mais aussi micro vasculaires (28% de neuropathies périphériques, 17% de neuropathies végétatives et 64% de rétinopathies). Les patients porteurs d'une néphropathie ont significativement plus d'atteintes microvasculaires. Cependant malgré une prévalence plus élevée de coronaropathies et d'ischémies périphériques, il n'y a pas de différence significative entre les groupes ND+ et ND-. La présence d'ischémie du système nerveux central ou d'insuffisance cardiaque reste exceptionnelle.

*Table R2 Complications micro et macro vasculaires du diabète.
Résultats présentés en nombre (pourcentages) pour les variables qualitatives, et médiane [interquartile] pour les variables quantitatives.*

Complications du diabète	Population globale (n=162)	Néphropathie (ND+, n=53)	Contrôle (ND-, n=109)	P value ND+ Vs ND-
MDRD (ml/min/1,73 m ²)	83 [66-97]	59 [50-75]	89 [78-106]	< 10 ⁻⁵
Microalbuminurie (mg/L)	12 [7-32]	62 [26-298]	9 [5-12]	< 10 ⁻⁵
Complications macro vasculaires				
Coronaropathie	23 (14)	10 (19)	13 (12)	NS
Insuffisance cardiaque	1 (0.6)	0 (0)	1 (0,9)	NS
Ischémie neurologique	2 (1.2)	1 (1.8)	1 (0,9)	NS
Ischémie périphérique	13 (8)	6 (11)	7 (6)	NS
Complications micro vasculaires				
Neuropathie périphérique	45 (28)	26 (49)	19 (17)	< 10 ⁻⁵
Neuropathie végétative	27 (17)	14 (26)	13 (12)	0.02
Rétinopathie	105 (64)	51 (96)	54 (50)	< 10 ⁻⁵

b. Répartition des différents polymorphismes

i. Prévalence

La prévalence des différents polymorphismes étudiés est compatible avec les données attendues issues des différentes publications (cf 5c, 6c, 7c) avec une prévalence du polymorphisme à l'état hétérozygote de 13,6% (moyenne littérature : 12,1%) pour C242T, 5,56 % (moyenne littérature 7,6%) pour RAGE 374 T/A, 4,32% (moyenne littérature 4%) pour RAGE 429 T/C, et 14,38% (moyenne littérature 15,5%) pour ALOX 12 Arg261Gln.

Pour 2 patients une quantité d'ADN insuffisante n'a pas permis de réaliser l'analyse du polymorphisme d'ALOX 12, pour les autres polymorphismes l'ensemble des patients est analysable.

ii. Equilibre d'Hardy Weinberg (« Hardy Weinberg Desequilibrium »)

Pour les 4 polymorphismes nous avons vérifié s'ils respectaient l'équilibre d'Hardy Weinberg. Ce dernier teste l'équilibre de la répartition des polymorphismes au sein de la population. En cas de

déséquilibre significatif cela signifie qu'un polymorphisme est transmis de façon préférentielle dans la population diabétique.

Les 4 polymorphismes testés rejettent une différence significative qui ne respecterait pas l'équilibre. On peut donc considérer l'équilibre d'Hardy Weinberg respecté pour les quatre polymorphismes étudiés (table R3).

Table R3 répartition des polymorphismes dans la population globale de diabétique de type 1.

	C242T p22phox			374 T/A RAGE			429 T/C RAGE			Arg261Gln ALOX 12		
	TT	TC	CC	AA	TA	TT	CC	TC	CC	AA	AG	GG
Nombre	22	74	66	9	57	96	7	56	99	23	84	53
(%)	13.6	45.7	41.7	5.6	35.2	59	4.3	34.6	61.1	14.4	52.5	33
p value HWD	0,86			0,89			0,79			0,26		

c. Analyse uni-variée

Nous avons étudié l'impact de différents paramètres récoltés sur la vitesse d'apparition de la microalbuminurie. Nous avons donc construit un modèle de survie entre le diagnostic du diabète et la date de première constatation d'une microalbuminurie. L'analyse a été réalisée par test du Log Rank.

L'ensemble des paramètres testés sont résumés dans les Tables R4, R5 et R6. Les variables ayant une p value < 0,2 ont été retenues pour la construction ultérieure du modèle multi-varié. Au niveau des données épidémiologiques, le sexe (p=0,07), la tension artérielle systolique (p=0,1) et diastolique (p=0,11) ont été retenus. Au niveau diabétologique, la durée d'évolution (p=0,13), la modalité de traitement (p=0,09), l'âge au diagnostic (p=0,2) ont été retenus. Pour l'âge au diagnostic nous avons réalisé 2 classes, en séparant la cohorte diagnostiquée à l'âge pédiatrique de la cohorte diagnostiquée après. Cette distinction permettant d'être plus pertinent (p=0,09) pour la suite. Au niveau génétique les 4 polymorphismes observés selon les modèles C242T dominant, 374 T/A récessif, Arg261Gln récessif, et 429 T/C dominant sont < à 0,2. Seuls C242T et 374 T/A atteignent en uni varié un seuil < 0,05 (graphiques R1 et R2).

Table R4 Analyse uni-variée des paramètres épidémiologiques des patients avec la rapidité de survenue de la néphropathie microalbuminurique.

Variabes Epidémiologique	Age	Sexe	IMC	Tabagisme	TAS	TAD
p value	0,73	0,071	0,78	0,59	0,102	0,114

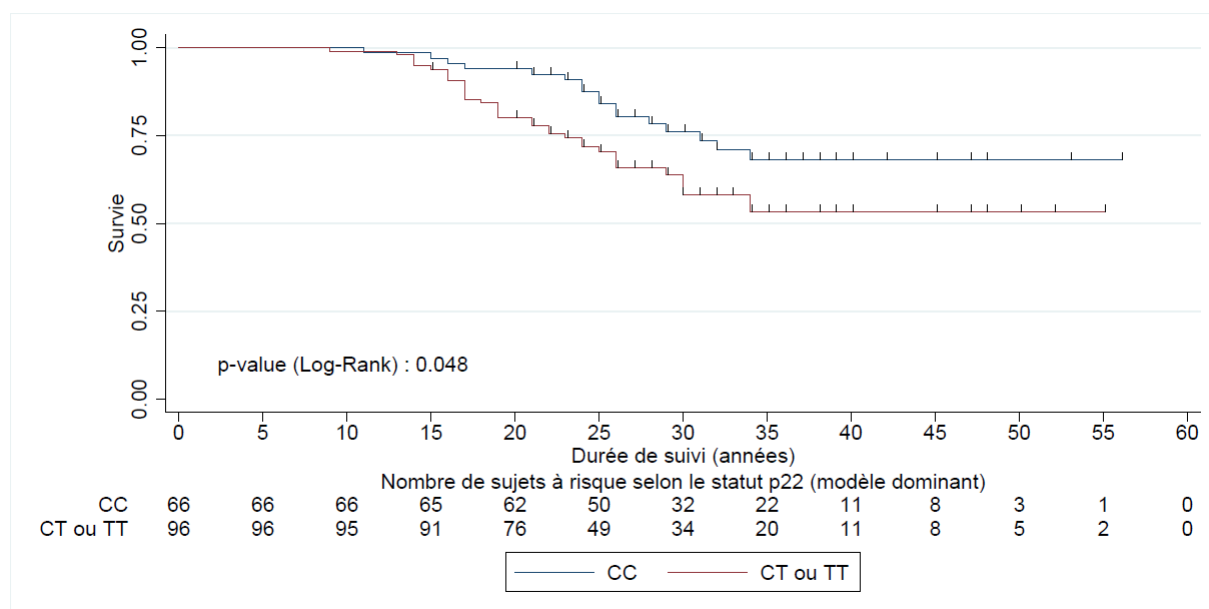
Table R5 Analyse uni-variée des paramètres diabétologiques des patients avec la rapidité de survenue de la néphropathie microalbuminurique.

Variabes Diabétologique	Durée du diabète	Diagnostic < 1980	Traitement par multi-injections	HBA1c >7,5%	HAB1c	Age au diagnostic	Age au diagnostic ≤ 15 ans 3 mois
p value	0,13	0,24	0,09	0,32	0,34	0,198	0,09

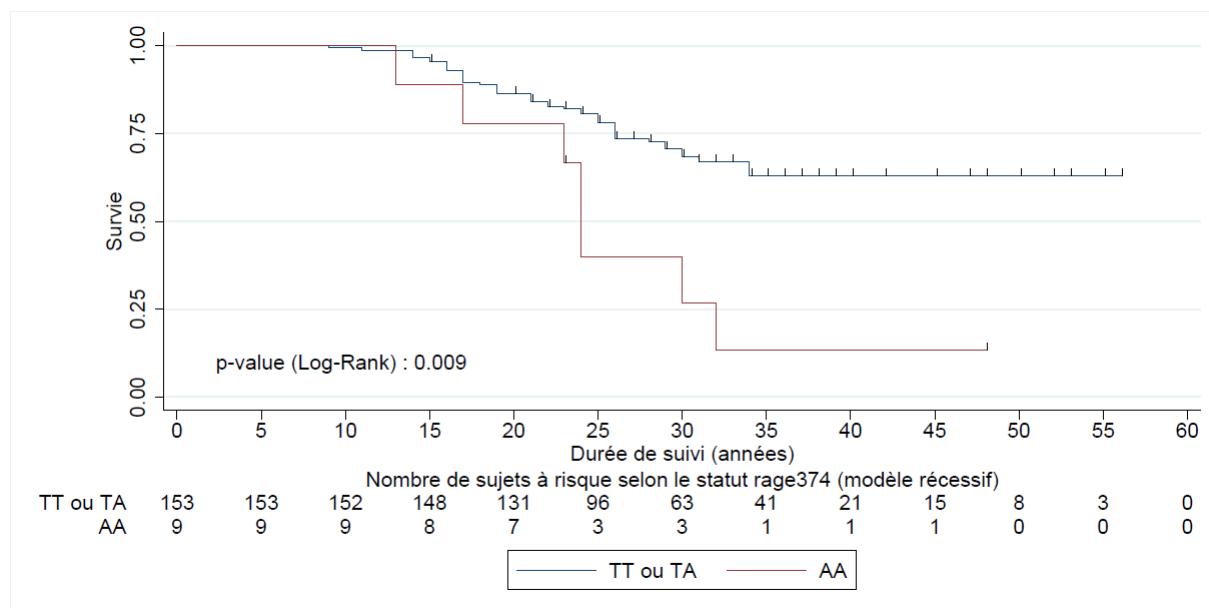
Table R6 Analyse uni-variée des paramètres génétiques des patients avec la rapidité de survenue de la néphropathie microalbuminurique.

Variabes génétiques	P22phox C242T TT+CT vs CC	RAGE 374 T/A AA vs AT+TT	RAGE 429 T/C CC+CT vs TT	ALOX 12 Arg261Gln AA vs AG+GG
p value	0,038	0,0021	0,156	0,196

Graphique R1 : Survie sans néphropathie diabétique selon le statut p22phox C242T



Graphique R2 : Survie sans néphropathie diabétique selon le statut RAGE 374 T/A



d. Modèle multi-varié

i. Création du modèle

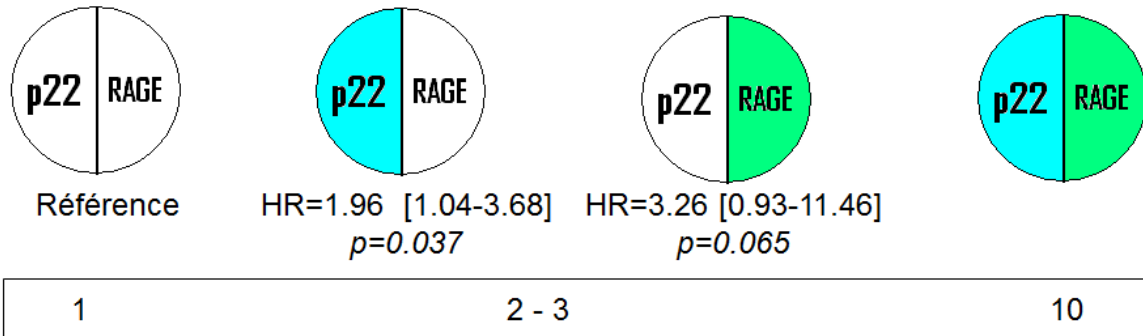
L'ensemble des variables ayant une p value $\leq 0,2$ ont été retenues pour les tester dans le modèle multi-varié. Nous avons réalisé une incrémentation pas à pas des variables dans le modèle, de la plus à la moins significative. A chaque étape nous avons observé l'apport de la nouvelle variable, en conservant cette dernière si le nouveau modèle avait une capacité de prédiction de la survenue de la néphropathie meilleure.

Ainsi les variables ayant un impact significatif sur le délai de survenue de la microalbuminurie en multi-varié dans notre population sont : le polymorphisme C242T de *p22phox* dans un modèle dominant TT+TC versus CC (HR 2,1 [1,15-3,8], $p= 0,015$) ; le polymorphisme 374 T/A de RAGE dans un modèle récessif AA versus AT+TT (HR 4,19 [1,84-9-58] $p= 0,001$). Le fait de développer un diabète à l'âge pédiatrique ou d'être de sexe masculin, sont également des facteurs de risques indépendants (HR 1,85 [1,03-3,32], $p= 0,039$ et HR 1,92 [1,07-3,43], $p= 0,028$ respectivement). L'ensemble des autres variables testées ne sont pas retrouvées comme associées à une survenue plus rapide de la néphropathie au stade microalbuminurie dans notre population.

_t	Haz. Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
rage374_rec	4.194518	1.768211	3.40	0.001	1.835928	9.583153
p22_dom	2.095049	.6357522	2.44	0.015	1.155828	3.797477
sex	1.91896	.5688837	2.20	0.028	1.073307	3.430901
age_sup15	1.850751	.5519099	2.06	0.039	1.031602	3.320348

ii. *Test d'interaction*

Nous avons également recherché des interactions de premier ordre entre : le sexe et C242T, le sexe et RAGE 374 T/A, C242T et RAGE 374. Nous n'avons trouvé aucune interaction entre le sexe et les polymorphismes. Entre les deux polymorphismes le test d'interaction est à la limite de la significativité. Pour une référence (HR=1) en cas d'haplotype p22 (CC) + RAGE (TA+TT), on retrouve dans le modèle multi-varié un HR=1.96 [1.04-3.68] ($p=0.037$) si p22 (TT+CC) + RAGE (TA+TT), HR=3.26 [0.93-11.46] ($p=0.065$) si p22 (CC) + RAGE (AA), et un HR=10.38 [3.13-34.4] ($p<0.0001$) si p22 (TT+TC) + RAGE (AA).



iii. *Vérifications des conditions d'application du modèle*

Nous avons réalisé numériquement et graphiquement la recherche de risque proportionnel (« proportional-hazards assumption test »), afin de vérifier la constance de l'association avec le temps. En cas de test significatif on retient alors l'hypothèse H0 de non linéarité. Les quatre variables du modèle ont des p value > 0,2 rejetant ainsi l'hypothèse de non linéarité. Nous pouvons donc conclure à la constance de l'association de chaque variable avec la survenue de la néphropathie au stade microalbuminurique.

	rho	chi2	df	Prob>chi2
rage374_rec	0.13307	0.99	1	0.3186
p22_dom	-0.14938	1.19	1	0.2755
age_inf15	0.01300	0.01	1	0.9238
sexe	-0.14986	1.27	1	0.2602

e. **Critères de causalité :**

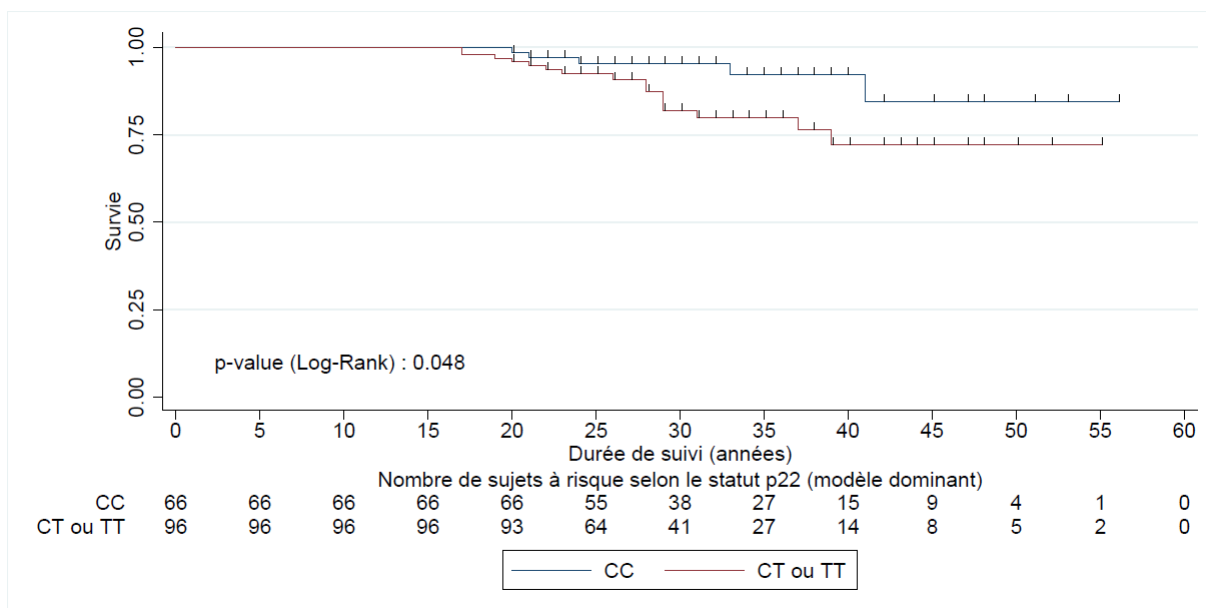
i. *Insuffisance rénale terminale*

Il existe comme attendu une relation forte entre la survenue de la néphropathie et celle de l'insuffisance rénale terminale (test exact de Fisher < 0,00001). Nous avons d'une part vérifié l'association uni-variée des facteurs de risques avec le délai de survenue de l'insuffisance rénale terminale depuis le diagnostic du diabète par un test de Log Rank. Seuls quatre facteurs ont atteint le seuil de 0.2 : 374T/A modèle récessif, C242T modèle dominant, l'âge selon la classe > ou < à 15 ans 3 mois, et la modalité de traitement. L'analyse du modèle de cox prenant en compte ces 4 variables, retrouve un seuil significatif pour les deux polymorphismes (HR 3.3 [1.09-10.04] $p=0.035$ pour

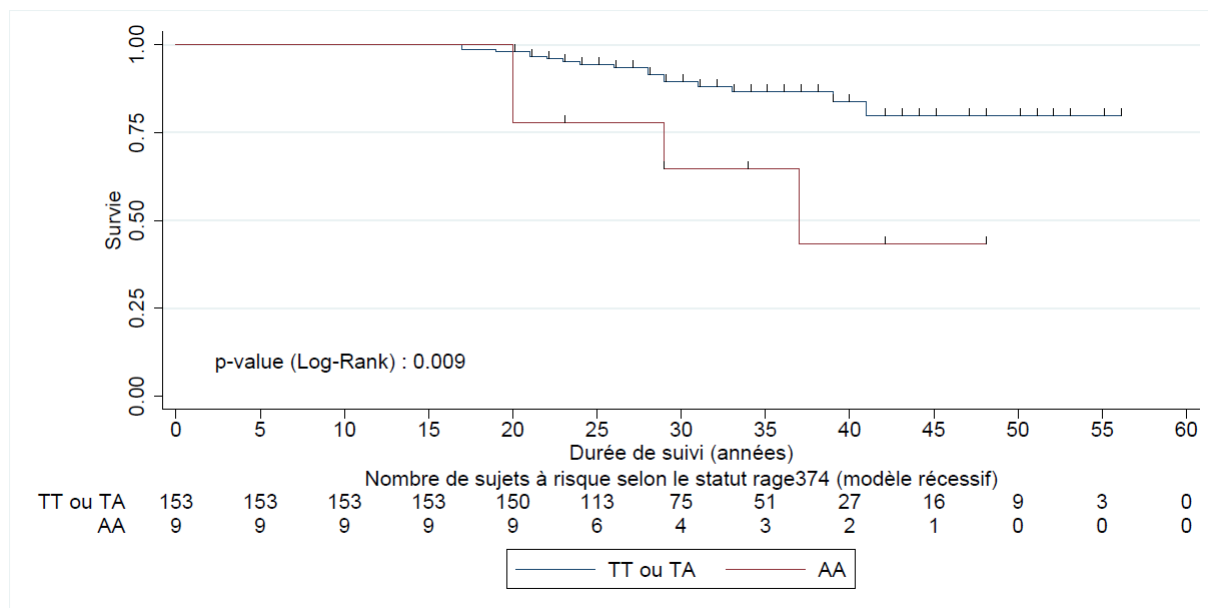
374T/A ; HR 3.1 [1.13-8.53] p=0.028 pour C242T) graphiques R3 et R4. De même la modalité de traitement est associée à un risque plus rapide de survenue de l'insuffisance rénale terminale (HR 3.34 [1.11-10.07] p=0.033 pour le traitement par multi-injections). L'âge est à la limite de la significativité (HR 2.65 [0.97-7.26] p=0.058 pour l'âge < 15 ans 3 mois). Les tests de condition d'application ne retrouvent pas de non linéarité.

_t	Haz. Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
rage374_rec	3.30465	1.873567	2.11	0.035	1.087772	10.03952
p22_dom	3.100316	1.601471	2.19	0.028	1.126464	8.532865
age_inf15	2.64948	1.362262	1.90	0.058	.9671751	7.257988
multi-inj	3.337123	1.881106	2.14	0.033	1.105498	10.07365

Graphique R3 : Survie sans insuffisance rénale terminale selon le statut p22phox C242T



Graphique R4 : Survie sans insuffisance rénale terminale selon le statut RAGE 374 T/A



ii. Rétinopathies

Afin d'approcher la spécificité rénale des facteurs de risques nous avons observé si le modèle C242T dominant était également lié à la rétinopathie. Ainsi nous avons réalisé d'une part un test de supériorité (chi2) qui n'est pas significatif ($p=0,682$). Nous avons réalisé ensuite un test de non infériorité considérant qu'une différence de survenue de la rétinopathie de 10% entre les groupes serait cliniquement significative. Ce test est positif ($p= 0,0428$). Ainsi on peut conclure que l'on n'observe pas de risque associé à C242T dans la survenue de la rétinopathie d'une part, et à l'équivalence de survenue de la rétinopathie entre les groupes d'autre part.

Pour 374 T/A le faible taux d'évènements ne nous permet pas de réaliser ces tests.

p22phox C242T	Présence d'une rétinopathie	Absence de rétinopathie
CC n (%)	44 (66,7%)	22 (33,3%)
CT+CC n (%)	61 (63,6%)	35 (36,4%)

12. Discussion

a. Justification de l'étude et des critères d'analyses :

La néphropathie diabétique reste un challenge à l'heure actuelle. L'incidence de la population de patients diabétiques arrivants en IRCT représente 56 patients par millions d'habitants, et 82 patients par millions pour les non diabétiques (registre REIN 2010). Bien que l'incidence de la néphropathie diabétique au stade terminal stagne, sa prévalence augmente du fait de l'allongement de la durée de vie de la population, faisant de cette pathologie un problème de santé publique. La mise en évidence de facteurs génétiques de prédisposition à trois buts ; - d'une part proposer des axes de recherche sur la physiopathologie de la maladie, - d'autre part elle permet d'envisager de nouvelles cibles thérapeutiques, puisque aujourd'hui en dehors du contrôle de la glycémie et de l'équilibre tensionnel, il n'existe pas de molécules prévenant sa survenue, - enfin ce travail permettra à terme d'identifier les patients à risque pour leur proposer un traitement personnalisé (ciblant le SRAA, le stress oxydant, ou les AGE ...). Bien que partageant de nombreux points communs avec le type 2, la survenue de la néphropathie diabétique chez le patient type 1 reste plus homogène. En effet la date de survenue du diabète est assez précise car bruyante, alors que dans le type 2 plusieurs années séparent le début de la maladie de son diagnostic. Ainsi pour étudier le délai de survenue de la maladie rénale le modèle type 1 s'impose. D'autre part il existe de nombreux facteurs confondants (tabagisme, HTA ...) qui restent plus fréquents chez le type 2, rendant parfois la nosologie de la néphropathie imprécise (diabétique ou néphroangiosclérose, voir autre glomérulonéphrite). Cela explique le choix de notre population.

Il existe plusieurs stades dans la néphropathie diabétique, il nous a semblé plus pertinent, au vue de l'objectif des études génétiques, de s'intéresser à la microalbuminurie comme critère principal. En effet la microalbuminurie reflète le début bioclinique de la maladie rénale. Elle reste aussi le seuil de déclenchement de la prise en charge thérapeutique spécifique. Ainsi si l'on envisage un jour d'évaluer un traitement préventif, c'est ce marqueur-là qui sera privilégié. Cependant s'en contenter est insuffisant car tous les patients microalbuminuriques n'évolueront pas vers l'insuffisance rénale terminale. Cette population de patients « évolueurs » malgré les mesures de néphroprotection, reste difficile à cerner. Hors il s'agit des patients qui subiront les complications liées à l'insuffisance rénale chronique et l'épuration extrarénale avec toute la morbidité qui y est associée. C'est dans cette optique que nous avons également vérifié la constance de l'association avec la survenue de l'insuffisance rénale chronique terminale pour être sûrs de ne pas identifier une population où la survenue est fréquente mais peu grave.

b. Facteurs spécifiques d'adaptation du modèle

Nous avons choisi d'utiliser un modèle de survie permettant d'ajuster sur de nombreux facteurs. Cependant au vue du nombre d'événements, on ne peut inclure toutes les variables dans le modèle. Ainsi la démarche pas à pas nous a permis d'évaluer l'ensemble des facteurs importants et de ne retenir que les pertinents en termes statistiques.

Les deux premiers facteurs d'adaptation conventionnels sont le sexe ainsi que l'HBA1c. Nous retrouvons l'association de la néphropathie au sexe masculin, cependant pas l'HBA1c. En effet les valeurs d'HBA1c proches de l'inclusion ne reflètent pas l'ancienneté de l'exposition glycémique sur plusieurs années (ici plus de vingt ans). De plus pour les patients ayant développé une néphropathie, les valeurs dans les 5 ans avant survenue seraient intéressantes d'une part, d'autre part l'anémie qui caractérise les insuffisants rénaux chroniques, modifie l'interprétation de l'HBA1c. De plus l'HBA1c reflète l'aire sous la courbe de l'exposition glycémique mais ne témoigne pas de l'instabilité du diabète. Or l'exposition intermittente à des taux de glucose très hauts à le même impact sur les cellules tubulaires en culture que l'exposition constante (207). Enfin l'hypoglycémie semble également un facteur d'atteinte des cellules tubulaires (données personnelles non publiées). L'absence de différence observée reste une limite à notre étude où le suivi de la survenue de la néphropathie, et en parallèle de l'HBA1c, n'est pas prospectif.

Le tabagisme a été mis en évidence dans plusieurs études comme facteur de risque de survenue de la néphropathie diabétique (208)(209). Nous avons retenu le tabagisme si ce dernier n'était pas sevré dans les 3 ans précédents la survenue de la néphropathie ou l'inclusion pour les patients indemnes de néphropathie. Cette méthode nous semble plus proche de la question que la présence à l'inclusion d'un tabagisme, étant donné qu'il a pu être sevré après la survenue de la néphropathie mais avant l'inclusion, et donc pouvait alors être un facteur explicatif. Cependant ce choix expose à un biais de mémorisation, donc un biais différentiel entre le groupe ND+ (information sur un état antérieur à la consultation) et le groupe ND- (information à l'inclusion). Au final nous ne retrouvons pas d'associations entre le statut tabagique et le délai de survenue de la néphropathie. Cela peut s'expliquer d'une part par la faible prévalence du tabagisme dans notre population par rapport à la population générale en France (210). Il s'agit probablement du reflet de l'impact du suivi médical dont font preuve les diabétiques de type 1 au vue de leurs risques cardiovasculaires. Un marqueur de l'exposition tabagique (paquet année) aurait pu être plus intéressant car permettrait de mettre en évidence un risque dose dépendant. Cependant il aurait fallu limiter la durée d'exposition aux délais diagnostic-survenue de la néphropathie, dans le groupe ayant déclaré une néphropathie. Cela aurait conduit à un biais de sous exposition de ce groupe qui aurait de toute façon limité son interprétation. L'information principale se tient cependant dans l'absence d'interaction entre l'effet de *p22phox* C242T et le tabagisme dans la survenue de la néphropathie diabétique, comme cela a pu être évoqué dans d'autres études sur d'autres pathologies (134)(145)(146).

L'âge au diagnostic nous a semblé un facteur important pour séparer les patients avec un diabète pédiatrique d'un diabète adulte. Nous retrouvons un risque accru chez les patients ayant développé le

diabète à l'âge pédiatrique. Les contraintes liées au traitement et aux représentations de la maladie peuvent influencer sur la compliance de façon différentielle entre adulte et enfant, avec une difficulté à atteindre les objectifs chez les patients pédiatriques (211). Cela peut s'expliquer par un impact important des conditions socio-culturo-scolaires (212). Enfin cette difficulté d'équilibre chez les enfants semble conduire à une exposition glycémique et aux AGE plus importante (213).

Le dernier facteur qui nous a semblé nécessaire pour le modèle est l'ancienneté du diabète, pour deux raisons. Premièrement la méthodologie de notre étude nous expose à un biais de sélection des survivants, pour les patients les plus anciens. Mais les survivants sont potentiellement les patients n'ayant pas présenté de néphropathie précoce car l'IRC reste un facteur de risque majeur de mortalité. De ce fait il est possible que l'on masque un effet en n'incluant pas (car décédés) les patients qui portent le plus d'informations sur la survie rénale. La mortalité des patients diabétiques de type 1 selon l'ancienneté du diabète reste très modeste sur les 20 premières années (95% de survie) voir sur les 30 premières (85%) (214). L'avènement des recommandations suite au DCCT en 1980 a modifié la prise en charge des patients, permettant un meilleur contrôle glycémique. D'autre part la recherche systématique de la microalbuminurie reste une pratique récente, nous exposant à un biais de censure à gauche. Nous avons donc décidé d'inclure dans le modèle l'année seuil de 1980 intégrant la donnée de mortalité différentielle et de dépistage différent.

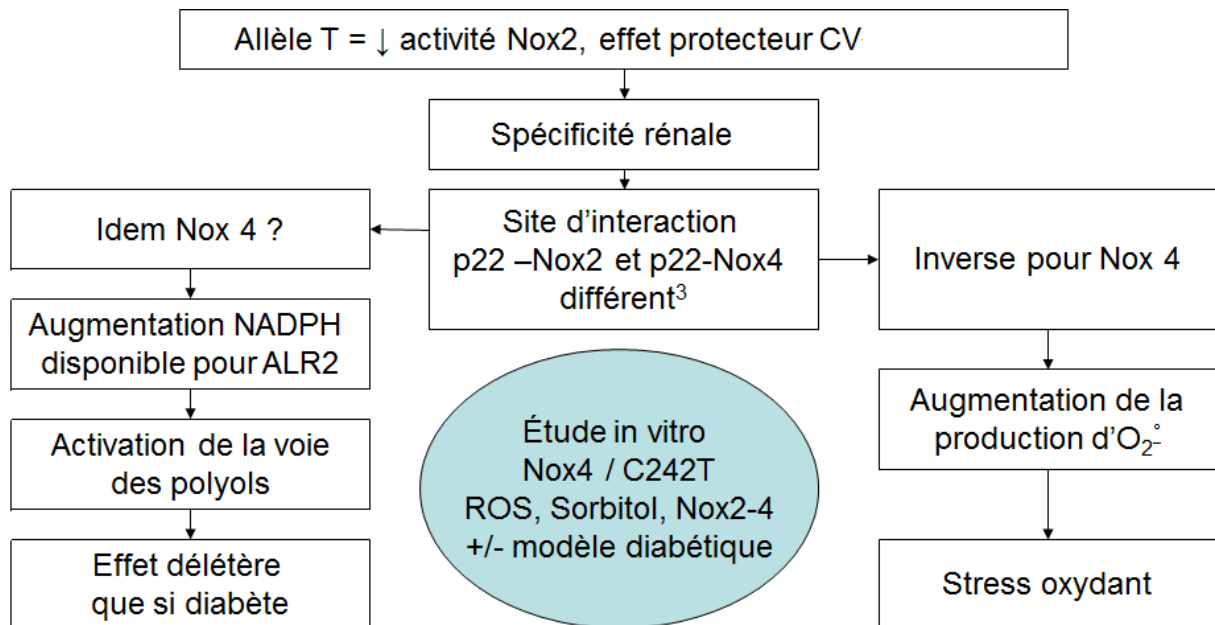
c. Discussion des résultats

i. p22phox

Nous confirmons une corrélation entre la présence du polymorphisme C242T de *p22phox* et le délai de survenue de la microalbuminurie chez le patient caucasien diabétique de type 1, avec un risque de survenue multiplié par 2 chez les porteurs du génotype TT-TC. Nous montrons également son association avec l'insuffisance rénale terminale renforçant la causalité de l'association, puisque il s'agit bien d'une population de patients évoluant vers l'IRCT. Ces données confirment celles précédemment retrouvées par Hodgkinson dans une population de type 1 (130). L'effet reste plus faible pour deux raisons : d'une part la prévalence du polymorphisme est plus faible dans notre population, se rapprochant de la prévalence moyenne observée sur l'ensemble des publications colligées. D'autre part le modèle dominant est celui le plus significatif dans notre population, et donc retenu, cependant il semble que le risque soit graduel entre les haplotypes, mais nous ne disposons pas de la puissance nécessaire pour le mettre en évidence. C242T a principalement été étudié dans la maladie athéromateuse coronarienne. Si les résultats sont discordants, il semble se dégager un profil protecteur vasculaire de l'allèle T (population asiatique) bien qu'une méta analyse récente limite cet effet (138). La fonctionnalité du polymorphisme C242T avec Nox2 reste incertaine (123)(124)(125). Cependant la néphropathie diabétique chez le patient Type 1 est probablement plus liée à la souffrance des cellules rénales qu'à l'atteinte vasculaire que l'on peut voir chez le type 2, comme en témoigne des signes d'alerte tubulaire chez le type 1 (215). De plus nos résultats laissent supposer un effet spécifique rénal et non un effet micro vasculaire global de C242T, devant l'absence

de lien avec la rétinopathie. Il est donc possible que chez le type 1, l'interaction à risque soit plus dépendante de Nox4 représentant majeur dans les cellules rénales que Nox2 l'isoforme endothéliale et leucocytaire. La portion N terminale de p22phox où se situe le polymorphisme C242T portant sur l'histidine en position 72, semble être primordiale pour l'interaction avec Nox2 et Nox4. En 2006 la séquence d'acides aminés comprise entre les résidus 66 et 90 de p22phox a été proposée comme zone d'interaction avec Nox2 (216). Récemment la portion de p22phox comprise entre les résidus 6 et 11 (et notamment un doublet de tryptophane) semble essentielle dans l'interaction fonctionnelle avec Nox4 (217). Même si les différentes régions de p22phox impliquées dans l'interaction avec Nox2 et Nox4 ne sont pas toutes découvertes, on peut supposer que le polymorphisme portant sur l'histidine 72 pourrait influencer différemment l'interaction de p22phox avec Nox2 et Nox4. Une seule étude a évalué l'impact de l'association de C242T avec Nox4 et reste non concluante (142). L'autre hypothèse concernant l'interaction entre la NADPH oxydase et la néphropathie diabétique, serait son interaction avec la voie des polyols. En effet une diminution d'activité de la NADPH oxydase conduit à l'augmentation du ratio NADPH/NADP. Or le NADPH est un des facteurs nécessaires à l'oxydation du glucose et à l'initiation de la voie des polyols. Ainsi l'augmentation du NADPH disponible pour l'aldose réductase pourrait majorer la synthèse de sorbitol et la cascade qui en découle. Cependant il semblerait que ce ne soit pas la présence d'un seul polymorphisme de p22phox mais l'association haplotypique de plusieurs polymorphismes qui soit responsable d'une modification d'activité enzymatique (218), ces données restent encore une fois valables avec Nox2. Le caractère haplotypique de plusieurs polymorphismes est actuellement une donnée fréquemment étudiée grâce aux cohortes disponibles (GoKind, Warren3) et reflète d'une part l'entière variabilité génétique. Mais elle permet également de démasquer un effet ou au contraire d'éliminer un résultat faussement positif. Cela peut également permettre d'expliquer la différence de résultats entre études issues de populations différentes, pouvant porter des haplotypes différents. L'absence d'évaluation des autres polymorphismes avec évaluation haplotypique de p22phox reste une limite à la conclusion de notre étude. Une telle étude permettrait de mieux préciser l'implication de la NADPH oxydase, et nécessiterait également l'étude complète de Nox2 et 4.

En conclusion le polymorphisme C242T de p22phox est corrélé à la survenue de la micro albuminurie et de l'IRCT chez le patient diabétique de type 1 dans un modèle dominant dans un modèle multivarié ajusté pour les facteurs de risques traditionnels. Ce polymorphisme ne porte potentiellement pas toute la variabilité génique de p22phox et une étude haplotypique serait indiquée. Enfin il n'est pas encore certain de l'effet expliquant cette association : augmentation des ROS par augmentation de l'activité de Nox4 rénale responsable de lésions locales, ou baisse d'activité conduisant à l'augmentation du NADPH disponible, responsable d'une plus grande activité de l'aldose réductase et de la voie du polyol. La recherche d'une synergie entre C242T et Z+2/Z-2 de ALR2 est également une piste intéressante pour avancer dans la compréhension du mécanisme, associée à l'étude de la fonctionnalité de C242T au sein des cellules rénales, en condition basale et diabétique, avec mesure de la voie des polyols, des ROS ainsi que de l'expression de Nox4 versus Nox2 et de l'impact de l'angio2 sur les activités NOX.



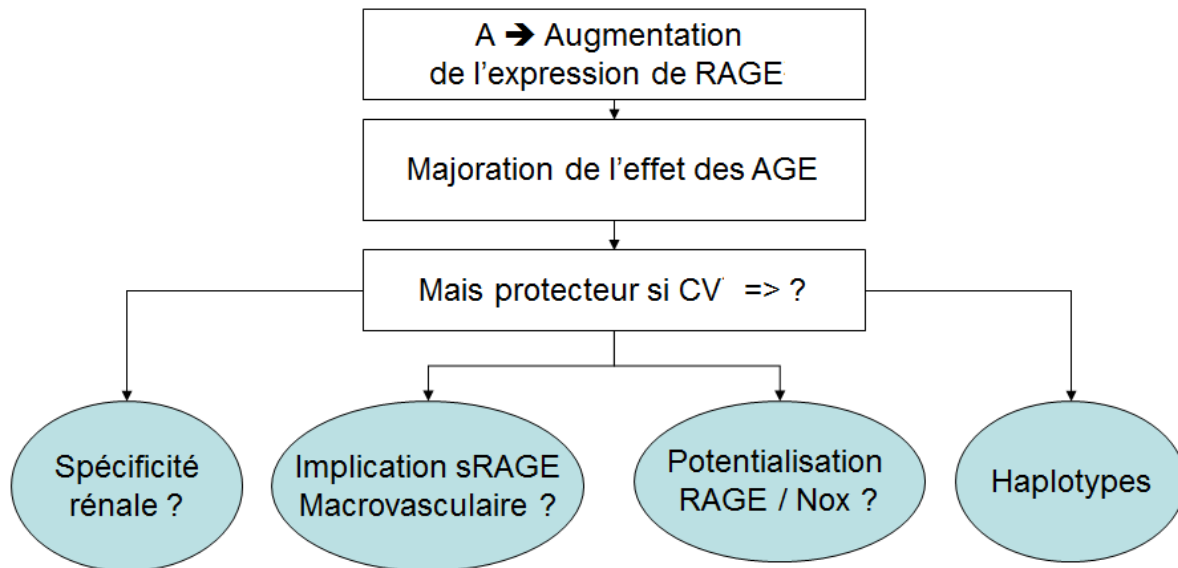
ii. RAGE

L'implication des produits avancés de glycation dans l'atteinte diabétique rénale a bien été démontrée (cf chapitre 6). Bien qu'il existe une modification locale par dépôt et glycation directe de la matrice extracellulaire, ou une activation de certains récepteurs accessoires (AGER1-2-3), le mécanisme principal semble dépendre de *RAGE*. De ce fait *RAGE* est un gène candidat idéal. Nos résultats sont concordants avec 2 des 3 études sur 374 T/A dans la survenue de la néphropathie diabétique microalbuminurique chez le type 1 (164)(174). Nos résultats apportent une preuve supplémentaire en montrant une corrélation avec la survenue de l'insuffisance rénale terminale pour la première fois, témoignant du risque rénal fort lié à ce polymorphisme. Si ces données sont discordantes avec les résultats des études vasculaires et dans la néphropathie diabétique chez le type 2, encore une fois cela laisse supposer une atteinte directe parenchymateuse plus que vasculaire de l'insuffisance rénale chez le type 1. Malheureusement le nombre limité de patients porteurs du polymorphisme à risque à l'état homozygote ne permet pas de valider son indépendance vis-à-vis de la rétinopathie. La fonctionnalité du polymorphisme 374 T/A laisse suggérer un effet majoré des AGE en cas de portage de A, avec une élévation de l'expression de *RAGE* (156)(161) et de ce fait plus de site de fixation et l'augmentation des signaux intracellulaires. Une limite à cette conclusion reste l'association avec l'élévation aussi de forme soluble potentiellement protectrice, cependant les données sont bien plus hétérogènes dans ce domaine (163)(168)(171)(219).

Le polymorphisme 429 T/C n'est pas associé à la survenue de la néphropathie microalbuminurique ou à l'insuffisance rénale que ce soit dans un modèle récessif ou dominant dans notre étude. Cela rejoint les seules autres résultats disponibles dans le DT1 (175). L'allèle C de 429 T/C semble lié à une augmentation de l'insulinoresistance (172) et donc de l'HBA1C (173) laissant supposer un mécanisme indirect dans le risque de survenue de néphropathie diabétique.

La présence d'une étude de cohorte consistante négative (175) doit faire prendre ces résultats avec précaution. Une explication peut être l'absence d'étude haplotypique complète. En effet si 374 T/A et

429 T/C sont des polymorphismes fonctionnels de RAGE ils ne sont pas les seuls, delta 63, G82S, C1152A semblent aussi des pistes intéressantes. Une interaction entre ces polymorphismes ne peut être exclue. Enfin nous ne retrouvons ces résultats que dans un modèle récessif, or les précédentes études se sont attachées à un modèle allélique principalement.



iii. Interactions entre RAGE et p22phox

Nous ne mettons pas en évidence d'interactions significatives, cependant le test d'interaction est à la limite de la significativité et on retrouve un hazard ratio très influencé par les différents haplotypes C242T – 374T/A. Une des limites à cette interprétation est le faible effectif de notre population, et de ce fait il semble difficile de rejeter l'absence d'association. Les données issues de modèles de néphropathies diabétiques semblent cependant supposer une interaction entre RAGE et la NADPH oxydase (189)(190). Ainsi la recherche d'une association entre ces deux polymorphismes semble prometteuse mais nécessite une plus grande population au vue de la prévalence basse de l'allèle A de 374T/A.

iv. ALOX

Malgré une tendance protectrice du polymorphisme Arg261Gln dans la survenue de la néphropathie cette dernière n'est pas significative dans notre population. De plus ces données semblent discordantes avec une autre étude où le polymorphisme AA semble lié à une excrétion urinaire d'albumine plus importante chez les diabétiques (200). De plus l'action d'ALOX 12 semble être liée à une action vasculaire (pro hypertensive) plus qu'une atteinte propre du parenchyme rénal (193). De ce fait l'absence de corrélation peut être expliquée par la physiopathologie différente entre type 1 et type 2 avec une part vasculaire plus marquée dans le second. Enfin notre population n'a pas été créée pour mettre en évidence une différence significative de l'effet d'ALOX 12, qui nécessiterait un effectif plus grand.

d. Perspectives :

L'analyse génétique par modèle gène candidat ou GWAS permet d'appréhender la part héritable de la néphropathie chez le patient diabétique. Cependant entre le gène porté et l'étape finale qui est la dysfonction moléculaire, de nombreuses étapes intermédiaires nécessitent d'être observées. Ainsi l'expression génique peut être influencée par les microARN. La mise en évidence de ces ARN semble un nouveau pan de recherche prometteur (220)(221)(222). Le second facteur qui peut altérer l'expression génique est la méthylation de l'ADN. Cette dernière se modifie au cours du temps et de l'exposition environnementale. Elle semble être une des raisons d'évolution parfois discordante de vrais jumeaux. Il semblerait que dans la néphropathie diabétique des profils de méthylation spécifiques apparaissent, pouvant ainsi modifier l'impact de chaque gène (223), et probablement expliquer les différences de fonctionnalités de certains polymorphismes selon le type cellulaire et le statut diabétique. Une étude de GWAS sur la méthylation de l'ADN a récemment mis en évidence plusieurs sites d'intérêts dont certains proches de polymorphismes génétiques déjà décrits (224).

La suite de l'expression génique reste l'expression protéique elle-même influençable par de nombreux facteurs (statut redox, glycosylation, translocation membranaire ...). Un des outils à haut débit est l'utilisation de la spectrométrie de masse. Cette technique a mis en évidence un ensemble de marqueurs protéiques urinaires intéressants dans le déclin de la fonction rénale (225). Cependant dans ces études seuls le sang et l'urine sont faciles d'accès, mais ils ne reflètent pas forcément l'expression protéique locale. Une étude sur la corrélation anatomoclinique et l'évaluation de marqueur protéiques in situ dans le diabète va également débuter, elle permettra d'apporter des éléments nouveaux sur RAGE et Nox (JM Halimi, CHU Tours).

Une approche complète consisterait en plusieurs étapes : la découverte de polymorphismes par GWAS, une confirmation par étude gène candidat sur une autre population associée à une étude de la méthylation de l'ADN, puis une évaluation au niveau protéique plasmatique et urinaire en cas de protéine circulante. De fait si l'on veut se donner les moyens pour définir et comprendre les populations à risque, Il faudrait envisager la réalisation d'une cohorte de patients diabétiques de type 1 nouvellement diagnostiqués, réaliser un séquençage complet du génome, un suivi longitudinal de la méthylation de l'ADN et de l'expression protéique, enfin réaliser parallèlement une évaluation annuelle de la survenue de la micro, macroalbuminurie, de l'IRCT, et de la variation du DFG sur une trentaine d'années.

13. Conclusion

THESE SOUTENUE PAR : FRANKO Benoit

Evaluation de polymorphismes de p22phox, RAGE et ALOX12 dans la survenue de la néphropathie diabétique chez le type 1 : projet NEPHRODIANOX

CONCLUSION

Nous mettons en évidence l'association du polymorphisme C242T de *p22phox* (dans un modèle dominant) et -374T/A de *RAGE* (dans un modèle récessif), dans le délai de survenue de la néphropathie diabétique microalbuminurique chez le patient caucasien diabétique de type 1. L'association significative à la survenue de l'insuffisance rénale terminale ; la force de l'association dans un modèle multi-varié ; ainsi que l'indépendance vis-à-vis de la présence d'une rétinopathie, laissent supposer un caractère causal de ces deux associations. Nos données suggèrent une association entre *p22phox* et *RAGE* à la limite de la significativité, compte tenu du nombre de sujets et de la prévalence des polymorphismes. Ces deux polymorphismes semblent donc des pistes intéressantes pour prédire la survenue de la néphropathie. Des études plus complètes de *RAGE* et *p22phox* restent cependant nécessaires pour confirmer ses résultats. Enfin nous ne retrouvons pas d'association entre les polymorphismes -429T/C de *RAGE* et Arg261Gln d'*ALOX12* et le délai de survenue de la néphropathie diabétique ou de l'insuffisance rénale terminale dans notre population.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Grenoble, le 23.09.2013

LE DOYEN

LE PRESIDENT DE LA THESE



PROFESSEUR P. ZAOUÏ

14. Annexes

a. Génétique DT1 et néphropathie diabétique

Gènes	réf	Nb patients	anomalie	effet		OR	p value	groupe	
 système rénine angiotensine aldostérone									
ACE	(226)	76	I/D	DD protecteur	Europe	0,28	0,028	n-Hyperfiltration	
	(227)	301	I/D	D à risque	Europe	5	0,03	changement de stade	
	(228)	2184	rs1800764-C	C à risque	Europe	1.11	0.060	ND	
	(229)	119	I/D	II protecteur	Europe	ND	0,006		
	(230)	111	I/D	II protecteur	Asie	ND	<0,01	n-M	
	(231)	247	I/D		Europe	Nég		n-m+	
	(232)	390	I/D		Europe	Nég		n-m+	
	(233)	59	I/D		Asie	Nég		n-m+	
	(234)	86	I/D		Europe	Nég		déclin DFG	
	(235)	360	I/D		Europe	Nég		n-m+	
	(236)	207	I/D		DD à risque	Europe	2,8	<0,05	n-m+
	(237)	494	I/D		DD à risque	Europe	1,9	0,024	n-m-M-IRCT
	(238)	45	I/D		II protecteur	Asie		0,025	n-m+
	(239)	210	I/D			Europe	Nég		n-M
	(240)	530	I/D		II protecteur	Europe		0,01	EUA
	(241)	156	PstI			USA	2,3	<0,05	n-M
	(242)	79	I/D		DD à risque	Europe	2	<0,05	n-IRCT
	(243)	59	i/D			Europe	Nég		déclin du DFG
	(244)	360	I/D			Asie	Nég		n-m-M
	(245)	257	I/D			Europe	Nég		EUA
	(246)	30	I/D		DD à risque	Europe	ND	<0,001	épaississement de la MBG
	(247)	52	I/D		DD à risque	Liban	ND	<0,05	n-m-M
	(248)	30	I/D		DD à risque	Hispanic	ND	0,035	déclin DFG
	(248)	181	I/D		DD à risque	Europe	ND	0,02	déclin DFG
	(249)	169	I/D		D a risque	Europe	1,81	0,02	changement de stade
	(250)	1365	I/D		II protecteur	Europe	0,62	0,009	n-m
	(251)	453	I/D		DD à risque	Australie	1,7	0,05	n-M
(252)	1467	nombreux variants			USA + Europe	Nég		n-M	
AGTR1	(13)	2184	A1166C		Europe	Nég			
	(253)	3561	A1166C	AA à risque chez l'homme	Europe	1,25	1,02-1,58	changement de stade	
	(254)	380	A1166C		Europe	Nég		n-m+	
	(237)	496	A1166C		Europe				
	(255)	400	A1166C		Europe	Nég		n-M	
	(256)	152	A1166C		USA	Nég		n-m+	
			t573c			Nég		n-m+	
	(257)	192	A1166C		Europe	Nég		n-M	
(245)	257	A1166C		Europe	Nég				

	(258)	169	A1166C		Europe	Nég		
	(259)	318	A1166C	AA à risque	Europe	3,04	<0,05	n-M
	(251)	453	A1166C		Australie	Nég		
	(252)	1467	nombreux variants		USA + Europe	Nég		
AGT	(260)	380	M235T		USA	Nég		n-m+
	(261)	185	M235T		Europe	Nég		n-m+
	(262)	195	M235T	TT à risque	Europe	2,37	0,025	n-M
	(263)	408	M235T		Europe	Nég		n-m+
	(264)	423	M235T		Europe	Nég		
	(237)	495	M235T	interaction ACE D et AGT T	Europe			
	(245)	257	M235T	T + ACE D à risque	Europe	3,03	<0,05	
	(258)	169	M235T		Europe	Nég		
	(251)	453	M235T	TT à risque	Australie	3,8	0,008	n-m
	(252)	1467	nombreux variants		USA + Europe	Nég		
Aldostérone synthase	(265)	901	344T/C		Europe	Nég		n-M
<u>métabolisme lipidique</u>								
APOE	(266)	494	e2/e3/e4		Europe	Nég		n-m-M
	(267)	146	e2/e3/e4		USA	Nég		n-m-M
	(268)	162	e2/e3/e4	E4 à risque	Europe	ND	< 0,05	DFG
	(269)	390	e2/e3/e4		Europe	Nég		
	(270)	419	e2/e3/e4	E2 à risque	USA	3,1	<0,05	n-m-M
	(271)	166	e2/e3/e4		Russie	Nég		
	(269)	390	e2/e3/e4		Europe	Nég		
APOD	(13)	2184	nombreux variants		Europe	Nég		
APOC	(272)	409	T455C		Europe	Nég		EUA
			Sacl					
	(273)	1467	rs4420638		USA + Europe	1,19	0,001	n-M
LPL	(266)	494	Asn 291 ser		Europe	Nég		n-m-M
INPPL1	(274)	1074	nombreux variants		Europe	Nég		n-m-M-IRCT
CETP	(266)	494	CETP taq;IB		Europe	Nég		n-m-M
	(273)	1467	B1/B2)					
	(273)	1467	rs 1532624	T à risque		0,82	0,034	
PPARgamma 2	(275)	415	Po12Ala	ala/ala à risque	Europe	2,6	0,04	n-IRCT
ADPQ	(13)	2184	11391G/A	A à risque	Europe	1,46	0,006	
	(276)	239	94T/G		Europe	Nég		n-m+
	(277)	1177	11377C/G	G à risque	USA	1,35	<0,05	n-M
			11391G/A			Nég		
			11426A/G			Nég		
	(278)	432	+45G15G(T/G)		Europe	Nég		n-m+
			276T/G			Nég		

métabolisme glucidique

transport du glucose

GLUT2	(13)	2184	16459CT		Europe	0,7	0,016	n-M
GLUT1	(279)	186	Xbal	-/- à risque	USA	2,23	<0,01	n-M
	(280)		Xbal		Europe	Nég		
	(14)	552	xbal	-/- à risque	USA	1,8	0,044	n-m+
	(281)	288	A284T	TT à risque	Europe	36	<0,00001	n-M
insuline	(282)	324	polymorphysme en 5'		USA	1,8	p<0,05	n-M
	(283)	60	ND			Nég		n-m+

voie des polyol, des hexoamine, et de la PKC

ALR2	(284)	301+494	-106 -2z et +2 z microsatellite		Europe			changement de stade
	(285)	128	BAM Hi 8,2Kb	A risque	Europe	1.38	<0.05	n-m+
	(286)	275	-106 -2z et +2z microsatellite	Z+2 protecteur	Europe	0,33	0,0001	n-m+
				Z-2 à risque	Europe	1.8	0.001	n-m+
	(287)	175	-106 -2z et +2 z microsatellite	Z-2 à risque	USA	5,25	0,005	n-m+
	(288)	ND	-106 -2z et +2 z microsatellite		Europe	Nég		ND
	(289)	414	-106 -2z et +2 z microsatellite		USA	2,1	<0,05	n-M
	(290)	71	-106 -2z et +2 z microsatellite		Australie	Nég		
	(291)	162	c106t	tt risque	Europe	2,2	0,001	n-M
	(292)	101	-106 -2z et +2 z microsatellite	Z+2 à risque	Asie	2,18	0,031	n-m+
	(293)	899	-106 -2z et +2 z microsatellite	Z+2 protecteur	Europe	0,66	0,008	n-M
GFPT1	(31)	613	6 SNP		USA	Nég		n-m+
PRKCB1	(50)	ND	1504C/T		USA	Nég		n-M
			546C/G		USA	Nég		
	(49)	451	1504C/T		USA	2,54	<0,05	n-M
			546C/G			2,45	0,002	

produit avancés de glucation

RAGE	(294)	392	C-1152A	A protecteur	Europe	0,51	0,043	n-m
			T-388A			Nég		
			A2A			Nég		
			G82S			Nég		
			G+196A			Nég		
	(175)	996	T374A	AA protecteur	Europe	Nég	0,01	n-m+
			T429C			Nég		
			G82S			Nég		
	(295)	589	delta 63		Europe	1,49	<0,05	n-m+
	(296)	487	G82S	SER à risque	Europe	3,17	0,04	n-IRCT
			Val89CTG/CTG					
			Arg77Cys					
	(174)	867	374T/A	A à risque	Europe	1,7	0,006	n-m+
	(164)	50	374T/A	A à risque	Egypte	2,36	0,01	ND

AGER1	(294)	392	G120G C+17/in4T T-16/in6C +82 I/D intron8 G+40A			Nég Nég Nég Nég Nég			
AGER2	(297) (294)	2719 392	nombreux variants C+9/in5T AA312rpt L445L I452V		Europe	Nég Nég Nég Nég			n-m-M-IRCT
AGER3	(297) (294)	2719 392	nombreux variants G-716A 698ins/del 496rpt P64H T98P		Europe	Nég Nég Nég Nég Nég			
	(297)	2719	nombreux variants		Europe	Nég			
<u>stress oxydant</u>									
SOD	(298)	1285	rs1041740	T à risque	Europe	5,75	0,004		n-m
	(299)	1362	Rs17880135	G à risque	USA	1,82	0,00005		n-M
	(300)	755	V16A	V à risque	Europe	1,7	<0,05		n-M
	(301)	238	35A/C	C à risque	Europe	4,9	0,008		n-M
	(302)	1510	V6A	VAL/Val à risque VALVAL à risque	Europe	1,32	0,049		n-M
	(303)	65	V6A		Egypte	6,68	<0,05		n-m+
NOS3	(304)	347	T-786C a-del/b-del intron 4	C à risque a-del à risque	USA	2,8	<0,05		n-M
	(305)	ND			Europe	Nég			
	(306)	1510	Glu298Asp	Glu/Glu à risque	Europe	1,46	<0,05		
	(307)	777	rs743507	TT à risque	Europe	1,43	0,035		n-M
	(308)	1467	nombreux variants CCTTT	rs1800783 A à risque	USA + Europe	1,27	0,0006		n-M
NOS2	(309)	551	répétition	à risque	Europe	0,54	0,02		n-m
	(310)	379	4-bp ins/del	del à risque	Europe	2,4	0,0023		n-m
NOS4	(311)	324	27BP repeat intron 4		Europe	Nég			n-M
	(306)	1510	27BP repeat intron 4		Europe	Nég			n-M
CYBB (Nox2)	(122)	945	rs6610650	A à risque chez la femme	Europe	1,75	0,016		n-M
CYBA (p22phox)	(312)	401	675T/A	A protecteur	Hispanic	0,38	0,00354		n-M
	(130)	268	C242T	TT à risque	Europe	8,25	<0,001		n-M
COX-2	(313)	292	765G/C		Europe	Nég			n-M

PON-1	(314)	367	T-107C		USA	Nég		n-M
			Leu54Met			Nég		
			Gln192Arg			Nég		
	(315)	372	Leu54Met	leu/leu à risque	Australie	3,34	<0,0001	n-m+
	(316)	156	Leu54Met	Leu/Leu à risque	Australie	4,1	0,27	n-m+
			A162G	AA à risque		5,9	0,34	
			A1074G	GG à risque		10	0,026	
PON-2	(315)	372	Cys311Ser	ser/ser à risque	Australi	4,75	<0,0001	n-m
cytokine , inflammation et immunologie								
HLA	(317)	508	A		Europe	Nég		n-M
			B			Nég		
			C			Nég		
			DR			Nég		
			DQA1			Nég		
			DQB1			Nég		
	(318)	1733	HLADRB1*04	04 protecteur	USA	0,8	<0,05	n-M
Groupe ABO	(319)	127	ABO		Europe	Nég		ND
Rhésus	(319)	127	+/-			Nég		
IL12A	(13)	2184			Europe	Nég		
IL1R1	(320)	125	nombreux variants	IL1RN*2 à risque	Europe	ND	<0,001	n-m+
	(321)	191			Europe	Nég		
IL-1	(322)	ND	nombreux variants		Europe	Nég		
	(321)	191	nombreux variants	IL1B*2 protecteur	Europe	0,55	0,007	n-M
	(321)	191	nombreux variants		Europe	Nég		n-M
IL1ra	(321)	191	nombreux variants		Europe	Nég		
IL6	(323)	210	147G/C	GG protecteur	Asie	0,65	0,0003	n-m+
TGF beta	(324)	269	thr263Ile	Ile à risque	Europe	5,5	0,03	n-M
	(325)	561	leu10pro		USA	Nég		n-IRCT
			arg25pro			Nég		
			thr263ile			Nég		
	(326)	830	leu10pro	Pro à risque	Europe	1,52	0,007	n-M
	(327)	639	800G/A		Europe	Nég		
			509C/T			Nég		
			72InsC			Nég		
			869T/C			Nég		
			915G/C			Nég		
	(328)	388	leu10pro	CC protecteur	Bahrain	ND	<0,005	ND
TGFBR2	(327)	639	747C/G		Europe	Nég		n-M
			1149G/A			Nég		
CCR5	(329)	794	A59029G	G à risque chez les hommes D à risque chez les hommes	Europe	1,9	<0,05	n-M
			32 I/D			2,3	<0,05	
	(330)	709	nombreux variants		Europe	Nég		

CCL5	(330)	709	nombreux variants		Europe	Nég			
TNF alpha	(331)	742	308g/A	A à risque	Europe	2,55	0,03	n-m+	
TNFSF10	(13)	2184			Europe	Nég			
LTA	(331)	742	T60N		Europe	Nég			
MIOX	(332)	420	rs761745C/T	C à risque	Europe	Nég		n-m+	
			rs2232873A/G			Nég			
			rs1055271C/G			Nég			
TLR4	(333)	246	Asp299Gly		Europe	Nég		n-m+	
			Thr399ile						
ICAM-1	(334)	662	E469K	A protecteur chez la femme	Europe	0,6	0,001	n-M	
			R241G			Nég			
<u>metaloprotéase, matrice extra cellulaire et fibrose</u>									
MMP genes	(335)	1705	1283 SNP leucine répétition	Asn357Ser ser protecteur	USA	0,5	0,00006	n-M	
CNDP1	(336)	916	leucine répétition	5L à risque%	Europe	2.19	0,03	n-IRCT	
	(337)	242	leucine répétition		Europe	Nég		n-m+	
	(338)	1269	6 SNP	aucun positif		Nég		n-M-IRCT	
CNDP2	(338)	1269	15 SNP	aucun positif				n-M-IRCT	
MBL	(339)	606	-579 A/G high versus low MBL haplotype	G à risque High MBL à risque	Europe	1,35	0,01	n-M	
		192			Europe	1,52	0,04	n-M	
	(340)	1297	19 SNP		Europe	Nég		n-M+	
CAT	(341)	238	21A/T		Europe	Nég		ND	
CTGF	(342)	639	650G/C		Europe	Nég		n-M	
			484T/C			Nég			
			247G/C			Nég			
			650G/C			Nég			
			420InsT			Nég			
			220G/C			Nég			
			289+94T/C			Nég			
			289+98T/C			Nég			
	(343)	862	C20G	GG à risque	USA	3,14	0,0001	n-m+	
	(344)	867	945G/C		Europe	Nég		n-M	
beta fibrinogene	(345)	909	G455A		USA	Nég		EUA	
CollIV	(346)	207	HindIII		Europe	Nég		n-M	
ICAM-1	(347)	432	rs281432	C à risque	Europe	1,64	0,026	n-m+	
			rs5498	A à risque		2,45	<0,001		
ACTN4	(347)	1103	rs979972	G à risque chez la femme	Europe	1,81	0,007	n-M	
			rs749701	T à risque chez la femme		1,93	0,003		
MME	(348)	1177	rs3796268	A/C à risque chez la femme	Europe	1,33	0,015	n-m-M	
			rs3773885						
decorine	(349)	311	179/183/185		Europe	Nég			
	(350)	175	179/183/185	179 variant protecteur	Europe	ND	<0,001	declin DFG	

vasculaire

VEGF	(351)	543	2578 C/A		Europe	Nég		n-M
			1499 C/T	T à risque		2,24	0,0001	
			635 G/C			Nég		
	(352)	232	I/D 2549	DD à risque	Europe	1,75	<0,05	n-M
ANP	(353)	301+494	T2238C	C à risque	Europe	1,93	0,012	changement de stade
			G663A			Nég		
			T2332C			Nég		
			ID2497			Nég		
	(354)	410	Hpall intron 2	Europe	Nég			n-M
	(355)	423	Scal	A protecteur	Europe	0,57	0,003	n-M
			C708T	TT à risque		2,25	0,039	n-m
BNP	(356)	380	381T/C		Europe	Nég		n-M
			1551G/A			Nég		
recepteur des bradikinine	(357)	175	G(-699)/C		Europe	Nég		m-IRCT
vWF	(358)	493	M+/M-		Europe	Nég		ND
			Thr789Ala			Nég		
			Ala1382Thr			Nég		
Haptoglobine	(359)	53	Hp2/Hp1	Hp2 à risque	israel	4	0,02	n-m
	(360)	509	Hp1, Hp2	Hp2 à risque	Europe	1,35	0,03	
PAI 1	(361)	583	1968_69insG		Europe	Nég		n-M
			43 G/A			Nég		
			1092-105 A/G,			Nég		
			1737 G/A			Nég		
			3711 C/T			Nég		
	(349)	311	4G/5G		Europe	Nég		n-m-M
	(269)	390	4G/5G		Europe	Nég		n-M

Autres gènes

MTHFR	(362)	250	C677T		Europe	Nég		n-m
	(363)	250	C677T		Europe	Nég		n-M
	(364)	392	C677T	TT à risque	russie	2,6	0,056	n-m
	(365)	268	C677T	TT à risque chez les femmes	Europe	ND	<0,01	n-m-M
	(366)	398	C677T		USA	Nég		n-IRCT
	(367)	480	C677T	Nég	nouvelle zélande	Nég		n-m+
			1298A/C	CC protecteur		ND	0,007	
MTRR	(367)	480	66A/G	GG protecteur		0,47	0,018	
GNB3	(368)	200	C825T		USA	Nég		n-m+
	(369)	513	C825T		Europe	Nég		n-m
	(370)	515	C825T		Russie	Nég		n-M

PC-1								
glycoproteine	(371)	97	K122Q		Europe	5,7	0,02	déclin DFG
	(280)	321	K122Q		Europe	Nég		n-m
		30	K121Q			Nég		
	(249)	181	K122Q	Q à risque	Europe	Nég	0,025	déclin DFG
	(372)	295	K122Q		Europe	Nég		déclin DFG
	(373)	ND	K121Q	Q à risque	USA	1,6	<0,05	n-M
nephrine	(374)	996	E117K		Europe	Nég		n-m-M-IRCT
			R408Q			Nég		
			N1077S			Nég		
polyneuropetide	(375)	67	rs466452		hispanic	Nég		n-m+
Y	(376)	966	Leu7Pro	pro à risque	Europe	1,54	0,006	n-M
	(377)	423	Leu7Pro	C à risque	Europe	2,6	0,011	n-M
XYLT-1	(378)	74	343G/T		Europe	Nég		n-m+
			IVS3+10C/T			Nég		
			IVS3+30G/C)			Nég		
	(379)	912	343G/T	T à risque	Europe	2,47	0,03	n-M
	(380)							
XYLT2		696	haplotype 166g/A, 177A/G, 342T/C, IVS6-9T/6, 1569C/T ,2402C/G	haplotype GATTCC protecteur	Europe	0,13	0,002	ND
beta 3AR	(381)	322	Trp64Arg		Europe	Nég		n-M
VDR	(382)	246	FOK1		Europe	Nég		n-m+
recepteur D3 à la dopamine	(383)	1329	8 SNP	rare haplobloc protecteur	USA+Europe	0,52	0,009	n-M
	(384)	996	Ala17Ala		Europe	Nég		n-m-M
			-707 G/C			Nég		
			ser9Gly			Nég		
KNG1	(13)	2184	7695CT		Europe	1,17	0,016	
PPP1R2	(13)	2184	nombreux variants		Europe	Nég		n-M
PTX3	(13)	2184	nombreux variants		Europe	Nég		n-M
THPO	(13)	2184	nombreux variants		Europe	Nég		n-M
HRG	(13)	2184	nombreux variants		Europe	Nég		n-M
ECE2	(13)	2184	nombreux variants		Europe	Nég		n-M
SST	(13)	2184	nombreux variants		Europe	Nég		n-M
EHHADH	(13)	2184	nombreux variants		Europe	Nég		n-M
UNC13B	(385)	2499	nombreux variants		Europe	1,6,	0,00002	n-M
AFF3	(101)	6691	rs7583877	à risque	Europe	1,29	1, 10 ⁻⁸	IRCT
ERBB4	(101)	6693	rs7588550	protecteur	Europe	0,66	2 10 ⁻⁷	IRCT
Prothrombine	(386)	384	20210 G to A		Europe	Nég		n-m+
alpha-adducin	(387)	371	Gly460Trp		Europe	Nég		n-M
PTP1B	(388)	288	1484 insG		Europe	Nég		n-m+
PVT1	(389)	1095	rs13447075	A à risque	USA	1,47	0,003	n-IRCT
			rs2648862	C à risque		2,66	0,008	

PLEKHH2	(390)	260	rs1368086	A à risque	USA	2,79	<0,01	n-M
			rs725238	A à risque		2,17	<0,01	
ADD2	(391)	1467	25 variants		USA	Nég		n-M
SMAD1,2,3,4,5	(392)	3645	nombreux variants		USA+ Europe	Nég		n-M
ELMO1	(393)	1705	118 SNP	rs11769038 T à risque	USA	1,24	0,0017	n-M
SOX2	(394)	1120	rs11915160	C protecteur chez la femme	USA	0,72	0,038	n-M
GREM1	(395)	709	rs1129456	T à risque	USA+ Europe	1,69	0,0003	n-M
SLC22A1 -2 - 3	(396)	1252	90 SNP		Europe	Nég		n-M
FTO	(397)	1170	rs9939609		USA	Nég		n-M
BMP 2-4-7	(397)	1808	32 SNP		USA-Europe	Nég		n-M
MCF2L2	(398)	1177	Leu359Ile	GG protecteur chez les femmes	USA	0,7	0,017	n-M
JAG1	(399)	1371	nombreux variants		USA + Europe	Nég		n-M
NOTCH3	(399)	1371	nombreux variants		USA + Europe	Nég		n-M
ADAM10	(399)	1371	nombreux variants		USA + Europe	Nég		n-M
CTNNB1	(400)	1351	nombreux variants		USA + Europe	Nég		n-M
AXIN2	(400)	1351	nombreux variants		USA + Europe	Nég		n-M
LRP5 et 6	(400)	1351	nombreux variants		USA + Europe	Nég		n-M
SUV39H2	(401)	2991	rs17353856	T protecteur	Europe	0,75	0,0001	n-m-M-IRCT
GCLC	(312)	401	129C/T	T à risque	Hispanic	2,4	0,0068	n-m
CDKN2A/B	(402)	2963	rs10811661		Europe	1,33	0,00045	n-m-M-IRCT
IGFBP2	(403)	1139	nombreux variants	rs4402960 T protecteur	USA + Europe	0,69	0,037	n-M
HIF1A	(404)	1165	Pro582Ser	T protecteur	USA	0,6	<0,05	n-M
Glo 1	(405)	209	A332C		Europe	Nég		n-M
gènes associés à WNT	(406)	1475	nombreux gènes		USA+Europe	Nég		n-M
GPX4	(122)	945	rs713041	T protecteur chez l'homme	Hispanic	0,3	0,004	n-M

b. Table p22

réf	pathologie observée	ethnie	nb	Effet	prévalence TT	prévalence allèle T
diabétique						
(130)	néphropathie diabétique DT1	Europe	207	TT à risque	18,50%	
(132)	néphropathie diabétique DT2	Asie	180	CC à risque	ND	12,00%
(134)	néphropathie diabétique DT2	hispanique	535	allèle T à risque si tabagique	ND	15,00%
(135)	néphropathie diabétique DT2	Asie	612	nég	0,50%	
(137)	diabète	Asie	383	CC à risque CT/T ↑ le LDL	ND	9,00%
(136)	dyslipidémie DT2	Asie	134	CC ↑ LDL oxydé circulant	ND	19,40%
oncologie						
(407)	néoplasie gastrique	Asie	436	pas de sur risque	1,30%	10,70%
(408)	cancer gastrique	Asie	812	neg	0,70%	8,50%
pathologies inflammatoires						
(409)	sclérodémie systémique	Europe	126	nég	15,80%	
(410)	parodontite agressive	Europe	231	T sur risque	18,10%	
(411)	colite ulcéreuse	Asie	572	nég	1,10%	
(412)	dyspepsie dans les infections	Asie	184	T protecteur	ND	

cardiovasculaire

(145)	artériopathie coronaire	Europe	341	TT à risque si tabac si TT	ND	
(413)	artériopathie coronaire	Europe	494	T à risque	ND	36,00%
(414)	artériopathie coronaire	Europe	402	T protecteur	ND	20,50%
(133)	artériopathie coronaire	usa	252	nég	16,30%	
(415)	artériopathie coronaire	usa	368	TT à risque	10,60%	
(416)	artériopathie coronaire	Asie	402	CC à risque	ND	11,00%
(417)	artériopathie coronaire	Europe	281	T protecteur	12,40%	33,00%
				TT ↑ expression de p22		
(418)	artériopathie coronaire	Europe	619	T à risque si femme	ND	38,00%
(419)	artériopathie coronaire	Iran	182	nég	19,00%	40,90%
(420)	IDM	Asie	3819	nég	ND	9,50%
	récidive artériopathies					
(421)	coronaire	Europe	213	CC sur risque CV		45,80%
(422)	mal aigue des montagnes	Europe	104	nég	14,70%	
(423)	sensibilité au sel	hispanique	119	T ↑ sensibilité au sel si femme	6,80%	
(424)	HTA	Europe	623	CC à risque	ND	
	événement coronarien post				17,1%	
(425)	IDM	usa	663	CC sur risque	(blanc)	
(142)	AVC ischémique	Asie	1055	NS pour AVC	14,4% (afro)	
(141)	AVCi	Europe	297	TT à risque	1,50%	
(426)	épaisseur intima média	Egypte	40	CC à risque	ND	
(427)	épaisseur intima media	Asie	1746	nég	1,70%	15,70%
(129)	rigidité artérielle	hispanique	1178	TT à risque	11,60%	
(140)	onde de pouls	Europe	289	nég	15,00%	41,00%
(428)	Vasodilatation artérielle	Europe	2058	CC à risque	3,80%	9,40%

fonctionnalité du polymorphisme

	activité oxydase des cellules					
(124)	endothéliales	Europe	110	allèle T : ion superoxyde	10,90%	
(123)	activité oxydase des PNN	usa	90	TT baisse l'oxydative burst	13,00%	
	AVCi			Allèle T associé à une activité		
(125)	Activité oxydase des PNN	Asie	290	augmenté		14,00%
	stress oxydant induit par					
(127)	l'activité physique	usa	52	négatif	ND	17,20%
	activité oxydase dans la					
(429)	tétralogie de Fallot	Europe	38	CC activité plus élevé	ND	
	dommage oxydatif à l'ADN en					
(128)	exercice aérobic	Asie	26	nég	7,69%	30,70%
	niveau de 8-iso-					
(430)	prostaglandine F2alpha	usa	94	TT niveau plus bas	10,60%	36,20%
				allèle T : ↑ de MDA-LDL		
				↑ de E selectine		
(126)	stress oxydant	Asie	143	↑de ICAM1	ND	
				allèle T : ↓ relargage de la		
				MPO		
(431)	réponse oxydative à l'effort	Europe	97	allèle T : ↓ FC au pic	ND	
(424)	HTA	Europe	623	CC ↑ la phagocytose	ND	
				pas d'effet sur la production		
(142)	AVC ischémique	Asie	1055	d'ion superoxyde par nox4	1,50%	
				allèle T ↑du TGF alpha sur		
(129)	rigidité artérielle	hispanique	1178	cellule musculaire lisse	11,60%	
				autres		
(432)	pré éclampsie	Europe	173	nég	ND	31,00%
	agranulocytose					
(433)	médicamenteuse	Europe	60	nég	ND	31,90%
(434)	prévention de lésion à l'ADN	Asie	72	T à risque	1,40%	13,00%
(144)	SAS	Europe	566	nég	12,10%	46,50%
(143)	SAS	Asie	176	allèle T à risque	ND	14,40%
				allèle T protecteur		
(146)	Sd métabolique	Asie	870	effet augmenté si tabagisme	ND	7,00%

c. Table rage

réf	pathologie observée	ethnie	nb patients	Effet	prévalence AA ou CC	prévalence allèle A ou C
Diabète						
(175)	néphropathie diabétique DT1	Europe	996	AA nég, protecteur si HBA1C > 9.5%	13%	
(164)	néphropathie diabétique DT1	Egypte	50	A à risque	ND	ND
(174)	néphropathie diabétique DT1	Europe	867	A à risque	6,30%	
(174)	néphropathie diabétique DT2	Europe	2467	A protecteur	6,50%	
	"	"	"	A nég	4,40%	
(435)	néphropathie diabétique DT2	Europe	647	C nég	ND	ND
(177)	néphropathie diabétique DT2	Europe	605	C à risque	10,50%	
(178)	néphropathie diabétique DT2	hispanique	703	A nég	8,70%	
	"	"	703	C nég	1,80%	
(180)	rétinopathie diabétique	Asie	513	A nég	2,10%	
	"	"	"	C nég	1%	
(181)	rétinopathie diabétique	inde	379	AA à risque	ND	9%
	"	"	"	CC nég	ND	16%
(182)	rétinopathie diabétique	inde	701	A nég	ND	1,90%
	"	"	"	C nég	ND	13,90%
(436)	Événement macrovasculaire	inde	265	A protecteur	4,10%	
				CC à risque	1,60%	
(437)	survenue du DT1	hispanique	327	CC à risque	0,60%	
	"	"		A nég	8,90%	
(438)	diabète gestationnel	hispanique	750	A nég	0,60%	
	"	"		C nég	8,80%	
(163)	mortalité chez DT1	Australie	2200	A nég	ND	ND
	"	"		C nég	ND	ND
(439)	survie des DT2 néphropathie	Asie	219	A nég	ND	ND
	"	"		C nég	ND	ND
Oncologie						
(440)	cancer pulmonaire non à petite cellule	Asie	586	A nég	23,80%	
	"	"		C nég	17,70%	
(441)	cancer du sein	Iran	164	A nég	4,80%	
	"	"		C nég	0,60%	
(442)	KC pulmonaire	Asie	1622	A nég	6,40%	
	"	"		C à risque	6,00%	
(443)	cancer de l'ovaire	Asie	400	A nég	ND	ND
	"	"		C nég	ND	ND
(444)	cancer du col HPV induit	Asie	1203	A nég	ND	ND
Pathologies inflammatoires						
(445)	ostéoartrite du genou chez l'obèse	Asie	558	A nég	27,70%	
(161)	aspergillose invasive en greffe de cellules souches	Europe	192	A à risque	ND	
(219)	maladie de Crohn	Europe USA	870 535	A protecteur	ND	52%
	"	"		C nég	ND	49%
	Lupus					56%
(446)	(dysfonction rénale et protéinurie)	Europe	640	A à risque	ND	57%
	"	"		C à risque	ND	ND
(447)	fonction pulmonaire dans la mucoviscidose	Europe	967	C à risque	2,30%	

(448)	Sclérose en plaque	Europe	304	C nég	3,90%	
	"	"		AA protecteur	11,80%	
Cardiovasculaire						
(449)	artériopathie coronaire	Turquie	169	A à risque	21%	
(450)	artériopathie coronaire	Europe	234	AA protecteur	8,90%	
(185)	artériopathie coronaire DT2	Europe	409	A nég	7,70%	
	"	"		C nég	3%	
(451)	artériopathie coronaire	Europe	259	A protecteur	ND	ND
(452)	artériopathie coronaire	Asie	700	C nég	ND	ND
(453)	artériopathie coronaire	hispanique	246	A protecteur	ND	ND
(178)	artériopathie coronaire	hispanique	703	A nég	8,70%	
	"	"	703	C nég	1,80%	
				A nég		
				T plus fréquent chez les DT2		
(454)	artériopathie coronaire	Turquie	139	T2	ND	ND
(455)	artériopathie coronaire PAS, PAD,	Asie	1027	AA protecteur	ND	ND
(186)	Epaisseur intima media	Europe	568	AA baisse PAS, PAD et rigidité	ND	ND
				AA ↑ PAS et rigidité	ND	ND
	Groupe DT2	"	725	AA plus fréquent chez les DT2	ND	ND
	événements CV post					
(456)	revascularisation	Europe	643	AA protecteur	12%	
(457)	restenose intrastent	Europe	267	AA protecteur	ND	ND
(458)	progression de l'insuffisance cardiaque	hispanique	607	A nég	10,50%	
	"	"		C nég	2,10%	
(459)	âge d'apparition de l'IDM	Europe	925	AA protecteur	ND	ND
Fonctionnalité du polymorphisme						
(160)	Expression de RAGE	cellule		A et C ↑ expression de RAGE		
	niveaux de sRAGE		51	A nég	16,2%	
(165)	chez patient DT2	Europe	34	A nég	12,7%	
	"	"		C nég	3,9%	
				C nég	7%	
(219)	maladie de Crohn	Europe	870			52%
		USA	535	A ↑ le taux de sRAGE	ND	49%
(171)	sRAGE	Europe	570	A nég	9,50%	
	"	"		C nég	0,70%	
(168)	esRAGE chez DT2	Asie	740	C ↑	9,80%	
	"	"		A nég	16,40%	
(169)	esRAGE chez DT2	Asie	419	A nég	6,40%	
	"	"		C nég	3,80%	
(173)	HBA1C chez DT1	Europe	82	CC ↑	2,40%	
(172)	insulinorésistance	Europe	537	A nég	3,20%	
	"	"		C ↑ l'insulinorésistance	1,50%	
(164)	SRAGE	Egypte	50	A ↑ sRAGE	ND	ND
(163)	sRAGE	Australie	3100	A ↑	ND	ND
	"	"		C ↓	ND	ND
(436)	Événement macrovasculaire	inde	265	C ↑ AGE	1,60%	
(162)	sarcoïdose	Europe	99	AA ↓ expression de RAGE	ND	ND
	aspergillose invasive en greffe de cellules souches			AA ↑ expression RAGE Dans les cellules mononuclée	ND	
(161)	sRAGE en hémodialyse	Europe	192			
(167)		Europe	261	CC ↑	3,70%	
				A nég	9,30%	
(460)	progression IR dans la NAS	Europe	174	A ↑ IL6, MCP1	18%	

Néphrologie

(170)	mortalité en hémodialyse	Europe	214	AA nég	9,30%	
	"	"		CC à risque	3,70%	
(461)	hyperperméabilité péritonéal en DP	Asie	30	AA protecteur	ND	16%
	"	"		CC nég	3%	10%
(460)	progression IR dans la NAS	Europe	174	A à risque	18%	
(462)	IRCT chez les DT2	inde	422	A nég	ND	ND
	"	"		C à risque	ND	12%
(463)	fonction rénale M12 de la greffe	Europe	145	C nég	1,40%	
	"	"		A nég	13,80%	

Autres

(464)	fatigue chronique	Europe	216	effet synergique de T/A et HLA	ND	
(465)	grossesse pathologique	Europe	284	A nég	3,90%	
	"	"		c nég	9,90%	
(466)	Morbi-mortalité trauma grave	Asie	728	A nég	ND	16,30%
	"	"		c à risque si sepsis	ND	12,20%

d. Table alox

Réf	pathologie observée	ethnie	Nb de patients	Effet	prévalence AA	prévalence allèle A
<u>Diabétique</u>						
(200)	Albuminurie DT2	USA	955	AA ↑ EUA	ND	42%
<u>Oncologie</u>						
(202)	cancer du sein	inde	274	AA protecteur	47%	
(203)	cancer colorectal	USA	553	nég	ND	35%
(198)	cancer de l'œsophage	Asie	2296	AA protecteur	ND	ND
<u>cardiovasculaire</u>						
(201)	HTA	Europe	366	AA protecteur	15%	
<u>fonctionnalité du polymorphisme</u>						
(199)	cinétique enzymatique différente selon le polymorphisme					
<u>Autres</u>						
(205)	DMO	USA	1702	AA à risque	ND	43%
(204)	DMO post ménopause fracture	Australie	779	AA protecteur	19,70%	
(206)	ostéoporotique	Europe	1716	nég	16%	
(467)	schizophrénie	Asie	895	AA à risque	23%	

e. Structure de p22phox

Extrait de Tylor et al. (468)

15. Références

1. Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (DCCT/EDIC) Research Group, Nathan DM, Zinman B, Cleary PA, Backlund J-YC, Genuth S, et al. Modern-day clinical course of type 1 diabetes mellitus after 30 years' duration: the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications and Pittsburgh epidemiology of diabetes complications experience (1983-2005). *Arch Intern Med.* 27 juill 2009;169(14):1307- 1316.
2. Chanard J. [Epidemiology of end-stage kidney failure: a state of national neglect]. *Nephrologie.* 2000;21(5):217- 218.
3. Krolewski M, Eggers PW, Warram JH. Magnitude of end-stage renal disease in IDDM: a 35 year follow-up study. *Kidney Int.* déc 1996;50(6):2041- 2046.
4. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature.* 13 déc 2001;414(6865):813- 820.
5. Harjutsalo V, Sund R, Knip M, Groop P-H. Incidence of type 1 diabetes in Finland. *JAMA J Am Med Assoc.* 24 juill 2013;310(4):427- 428.
6. Rossing P, Rossing K, Jacobsen P, Parving HH. Unchanged incidence of diabetic nephropathy in IDDM patients. *Diabetes.* juill 1995;44(7):739- 743.
7. Writing Team for the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Research Group. Sustained effect of intensive treatment of type 1 diabetes mellitus on development and progression of diabetic nephropathy: the Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) study. *JAMA J Am Med Assoc.* 22 oct 2003;290(16):2159- 2167.
8. Effect of intensive therapy on the development and progression of diabetic nephropathy in the Diabetes Control and Complications Trial. The Diabetes Control and Complications (DCCT) Research Group. *Kidney Int.* juin 1995;47(6):1703- 1720.
9. Kramer HJ, Nguyen QD, Curhan G, Hsu C-Y. Renal insufficiency in the absence of albuminuria and retinopathy among adults with type 2 diabetes mellitus. *JAMA J Am Med Assoc.* 25 juin 2003;289(24):3273- 3277.
10. Steinke JM, Sinaiko AR, Kramer MS, Suissa S, Chavers BM, Mauer M, et al. The early natural history of nephropathy in Type 1 Diabetes: III. Predictors of 5-year urinary albumin excretion rate patterns in initially normoalbuminuric patients. *Diabetes.* juill 2005;54(7):2164- 2171.
11. Goestemeyer AK, Marks J, Srai SK, Debnam ES, Unwin RJ. GLUT2 protein at the rat proximal tubule brush border membrane correlates with protein kinase C (PKC)-beta1 and plasma glucose concentration. *Diabetologia.* oct 2007;50(10):2209- 2217.
12. Kanai Y, Lee WS, You G, Brown D, Hediger MA. The human kidney low affinity Na⁺/glucose cotransporter SGLT2. Delineation of the major renal reabsorptive mechanism for D-glucose. *J Clin Invest.* janv 1994;93(1):397- 404.
13. Vionnet N, Tregouët D, Kazeem G, Gut I, Groop P-H, Tarnow L, et al. Analysis of 14 candidate genes for diabetic nephropathy on chromosome 3q in European populations: strongest evidence for association with a variant in the promoter region of the adiponectin gene. *Diabetes.* nov 2006;55(11):3166- 3174.
14. Ng DPK, Canani L, Araki S, Smiles A, Moczulski D, Warram JH, et al. Minor effect of GLUT1 polymorphisms on susceptibility to diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Diabetes.* juill 2002;51(7):2264- 2269.
15. Cui W, Du B, Zhou W, Jia Y, Sun G, Sun J, et al. Relationship between five GLUT1 gene single nucleotide polymorphisms and diabetic nephropathy: a systematic review and meta-analysis. *Mol Biol Rep.* août 2012;39(8):8551- 8558.

16. Greene DA, Lattimer SA, Sima AA. Sorbitol, phosphoinositides, and sodium-potassium-ATPase in the pathogenesis of diabetic complications. *N Engl J Med.* 5 mars 1987;316(10):599- 606.
17. Larkins RG, Dunlop ME. The link between hyperglycaemia and diabetic nephropathy. *Diabetologia.* juin 1992;35(6):499- 504.
18. Beyer-Mears A, Ku L, Cohen MP. Glomerular polyol accumulation in diabetes and its prevention by oral sorbinil. *Diabetes.* juin 1984;33(6):604- 607.
19. A randomized trial of sorbinil, an aldose reductase inhibitor, in diabetic retinopathy. Sorbinil Retinopathy Trial Research Group. *Arch Ophthalmol.* sept 1990;108(9):1234- 1244.
20. Iso K, Tada H, Kuboki K, Inokuchi T. Long-term effect of epalrestat, an aldose reductase inhibitor, on the development of incipient diabetic nephropathy in Type 2 diabetic patients. *J Diabetes Complications.* oct 2001;15(5):241- 244.
21. Derylo B, Babazono T, Glogowski E, Kapor-Drezgic J, Hohman T, Whiteside C. High glucose-induced mesangial cell altered contractility: role of the polyol pathway. *Diabetologia.* mai 1998;41(5):507- 515.
22. Keogh RJ, Dunlop ME, Larkins RG. Effect of inhibition of aldose reductase on glucose flux, diacylglycerol formation, protein kinase C, and phospholipase A2 activation. *Metabolism.* janv 1997;46(1):41- 47.
23. Stevens MJ, Dananberg J, Feldman EL, Lattimer SA, Kamijo M, Thomas TP, et al. The linked roles of nitric oxide, aldose reductase and, (Na⁺,K⁺)-ATPase in the slowing of nerve conduction in the streptozotocin diabetic rat. *J Clin Invest.* août 1994;94(2):853- 859.
24. Xu M, Chen X, Yan L, Cheng H, Chen W. Association between (AC)_n dinucleotide repeat polymorphism at the 5'-end of the aldose reductase gene and diabetic nephropathy: a meta-analysis. *J Mol Endocrinol.* mai 2008;40(5):243- 251.
25. Hart GW. Dynamic O-linked glycosylation of nuclear and cytoskeletal proteins. *Annu Rev Biochem.* 1997;66:315- 335.
26. Weigert C, Friess U, Brodbeck K, Häring HU, Schleicher ED. Glutamine:fructose-6-phosphate aminotransferase enzyme activity is necessary for the induction of TGF-beta1 and fibronectin expression in mesangial cells. *Diabetologia.* juin 2003;46(6):852- 855.
27. Kolm-Litty V, Sauer U, Nerlich A, Lehmann R, Schleicher ED. High glucose-induced transforming growth factor beta1 production is mediated by the hexosamine pathway in porcine glomerular mesangial cells. *J Clin Invest.* 1 janv 1998;101(1):160- 169.
28. Zheng J-M, Zhu J-M, Li L-S, Liu Z-H. Rhein reverses the diabetic phenotype of mesangial cells over-expressing the glucose transporter (GLUT1) by inhibiting the hexosamine pathway. *Br J Pharmacol.* avr 2008;153(7):1456- 1464.
29. Goldberg H, Whiteside C, Fantus IG. O-linked β -N-acetylglucosamine supports p38 MAPK activation by high glucose in glomerular mesangial cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* oct 2011;301(4):E713- 726.
30. Goldberg HJ, Scholey J, Fantus IG. Glucosamine activates the plasminogen activator inhibitor 1 gene promoter through Sp1 DNA binding sites in glomerular mesangial cells. *Diabetes.* mai 2000;49(5):863- 871.
31. Ng DPK, Walker WH, Chia K-S, Choo S, Warram JH, Krolewski AS. Scrutiny of the glutamine-fructose-6-phosphate transaminase 1 (GFPT1) locus reveals conserved haplotype block structure not associated with diabetic nephropathy. *Diabetes.* mars 2004;53(3):865- 869.
32. Elbein SC, Zheng H, Jia Y, Chu W, Cooper JJ, Hale T, et al. Molecular screening of the human glutamine-fructose-6-phosphate amidotransferase 1 (GFPT1) gene and association studies with diabetes and diabetic nephropathy. *Mol Genet Metab.* août 2004;82(4):321- 328.
33. Zhang H, Jia Y, Cooper JJ, Hale T, Zhang Z, Elbein SC. Common variants in glutamine:fructose-6-phosphate amidotransferase 2 (GFPT2) gene are associated with type 2

- diabetes, diabetic nephropathy, and increased GFPT2 mRNA levels. *J Clin Endocrinol Metab.* févr 2004;89(2):748- 755.
34. Newton AC. Protein kinase C: structure, function, and regulation. *J Biol Chem.* 1 déc 1995;270(48):28495- 28498.
35. Osicka TM, Yu Y, Panagiotopoulos S, Clavant SP, Kiriazis Z, Pike RN, et al. Prevention of albuminuria by aminoguanidine or ramipril in streptozotocin-induced diabetic rats is associated with the normalization of glomerular protein kinase C. *Diabetes.* janv 2000;49(1):87- 93.
36. Xia P, Aiello LP, Ishii H, Jiang ZY, Park DJ, Robinson GS, et al. Characterization of vascular endothelial growth factor's effect on the activation of protein kinase C, its isoforms, and endothelial cell growth. *J Clin Invest.* 1 nov 1996;98(9):2018- 2026.
37. Rui L, Archer SF, Argetsinger LS, Carter-Su C. Platelet-derived growth factor and lysophosphatidic acid inhibit growth hormone binding and signaling via a protein kinase C-dependent pathway. *J Biol Chem.* 28 janv 2000;275(4):2885- 2892.
38. Koya D, King GL. Protein kinase C activation and the development of diabetic complications. *Diabetes.* juin 1998;47(6):859- 866.
39. Koya D, Haneda M, Kikkawa R, King GL. d-alpha-tocopherol treatment prevents glomerular dysfunctions in diabetic rats through inhibition of protein kinase C-diacylglycerol pathway. *BioFactors Oxf Engl.* 1998;7(1-2):69- 76.
40. Koya D, Jirousek MR, Lin YW, Ishii H, Kuboki K, King GL. Characterization of protein kinase C beta isoform activation on the gene expression of transforming growth factor-beta, extracellular matrix components, and prostanoids in the glomeruli of diabetic rats. *J Clin Invest.* 1 juill 1997;100(1):115- 126.
41. Kitada M, Koya D, Sugimoto T, Isono M, Araki S, Kashiwagi A, et al. Translocation of glomerular p47phox and p67phox by protein kinase C-beta activation is required for oxidative stress in diabetic nephropathy. *Diabetes.* oct 2003;52(10):2603- 2614.
42. Wei XF, Zhou QG, Hou FF, Liu BY, Liang M. Advanced oxidation protein products induce mesangial cell perturbation through PKC-dependent activation of NADPH oxidase. *Am J Physiol Renal Physiol.* févr 2009;296(2):F427- 437.
43. Koya D, Haneda M, Nakagawa H, Isshiki K, Sato H, Maeda S, et al. Amelioration of accelerated diabetic mesangial expansion by treatment with a PKC beta inhibitor in diabetic db/db mice, a rodent model for type 2 diabetes. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol.* mars 2000;14(3):439- 447.
44. Ishii H, Jirousek MR, Koya D, Takagi C, Xia P, Clermont A, et al. Amelioration of vascular dysfunctions in diabetic rats by an oral PKC beta inhibitor. *Science.* 3 mai 1996;272(5262):728- 731.
45. Menne J, Shushakova N, Bartels J, Kiyani Y, Laudeley R, Haller H, et al. Dual inhibition of classical protein kinase C- α and protein kinase C- β isoforms protects against experimental murine diabetic nephropathy. *Diabetes.* avr 2013;62(4):1167- 1174.
46. PKC-DRS2 Group, Aiello LP, Davis MD, Girach A, Kles KA, Milton RC, et al. Effect of ruboxistaurin on visual loss in patients with diabetic retinopathy. *Ophthalmology.* déc 2006;113(12):2221- 2230.
47. Tuttle KR, Bakris GL, Toto RD, McGill JB, Hu K, Anderson PW. The effect of ruboxistaurin on nephropathy in type 2 diabetes. *Diabetes Care.* nov 2005;28(11):2686- 2690.
48. Ma RCW, Tam CHT, Wang Y, Luk AO, Hu C, Yang X, et al. Genetic variants of the protein kinase C-beta 1 gene and development of end-stage renal disease in patients with type 2 diabetes. *JAMA J Am Med Assoc.* 25 août 2010;304(8):881- 889.
49. Araki S-I, Ng DPK, Krolewski B, Wyrwicz L, Rogus JJ, Canani L, et al. Identification of a common risk haplotype for diabetic nephropathy at the protein kinase C-beta1 (PRKCB1) gene locus. *J Am Soc Nephrol JASN.* août 2003;14(8):2015- 2024.

50. Pettigrew KA, McKnight AJ, Martin RJ, Patterson CC, Kilner J, Sadlier D, et al. No support for association of protein kinase C, beta 1 (PRKCB1) gene promoter polymorphisms c.-1504C>T and c.-546C>G with diabetic nephropathy in Type 1 diabetes. *Diabet Med J Br Diabet Assoc.* sept 2008;25(9):1127- 1129.
51. Zhang N, Yao L, Zhuang M, Wang G, Chen T, Yang Y, et al. [Association between mannose-binding lectin 2 gene and protein kinase C-beta 1 gene polymorphisms and type 2 diabetic macrovascular complications in northern Chinese Han population]. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi Zhonghua Yixue Yichuanxue Zazhi Chin J Med Genet.* déc 2012;29(6):709- 714.
52. Uthra S, Raman R, Mukesh BN, Rajkumar SA, Kumari PR, Lakshmipathy P, et al. Protein kinase C beta (PRKCB1) and pigment epithelium derived factor (PEDF) gene polymorphisms and diabetic retinopathy in a south Indian cohort. *Ophthalmic Genet.* mars 2010;31(1):18- 23.
53. Nakamura K, Yamagishi SI, Matsui T, Adachi H, Takeuchi M, Imaizumi T. Serum levels of soluble form of receptor for advanced glycation end products (sRAGE) are correlated with AGEs in both diabetic and non-diabetic subjects. *Clin Exp Med.* déc 2007;7(4):188- 190.
54. Papanastasiou P, Grass L, Rodela H, Patrikarea A, Oreopoulos D, Diamandis EP. Immunological quantification of advanced glycosylation end-products in the serum of patients on hemodialysis or CAPD. *Kidney Int.* juill 1994;46(1):216- 222.
55. Jakus V, Rietbrock N. Advanced glycation end-products and the progress of diabetic vascular complications. *Physiol Res Acad Sci Bohemoslov.* 2004;53(2):131- 142.
56. Cooper ME, Thallas V, Forbes J, Scalbert E, Sastra S, Darby I, et al. The cross-link breaker, N-phenacylthiazolium bromide prevents vascular advanced glycation end-product accumulation. *Diabetologia.* mai 2000;43(5):660- 664.
57. Miyazaki A, Nakayama H, Horiuchi S. Scavenger receptors that recognize advanced glycation end products. *Trends Cardiovasc Med.* août 2002;12(6):258- 262.
58. Newsholme P, Haber EP, Hirabara SM, Rebelato ELO, Procopio J, Morgan D, et al. Diabetes associated cell stress and dysfunction: role of mitochondrial and non-mitochondrial ROS production and activity. *J Physiol.* 15 août 2007;583(Pt 1):9- 24.
59. Ha H, Hwang I-A, Park JH, Lee HB. Role of reactive oxygen species in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Diabetes Res Clin Pract.* 13 nov 2008;82 Suppl 1:S42- 45.
60. Bursell SE, Clermont AC, Aiello LP, Aiello LM, Schlossman DK, Feener EP, et al. High-dose vitamin E supplementation normalizes retinal blood flow and creatinine clearance in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care.* août 1999;22(8):1245- 1251.
61. Yusuf S, Dagenais G, Pogue J, Bosch J, Sleight P. Vitamin E supplementation and cardiovascular events in high-risk patients. The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med.* 20 janv 2000;342(3):154- 160.
62. Pergola PE, Krauth M, Huff JW, Ferguson DA, Ruiz S, Meyer CJ, et al. Effect of bardoxolone methyl on kidney function in patients with T2D and Stage 3b-4 CKD. *Am J Nephrol.* 2011;33(5):469- 476.
63. Tian C, Fang S, Du X, Jia C. Association of the C47T polymorphism in SOD2 with diabetes mellitus and diabetic microvascular complications: a meta-analysis. *Diabetologia.* avr 2011;54(4):803- 811.
64. Zeng Z, Li L, Zhang Z, Li Y, Wei Z, Huang K, et al. A meta-analysis of three polymorphisms in the endothelial nitric oxide synthase gene (NOS3) and their effect on the risk of diabetic nephropathy. *Hum Genet.* avr 2010;127(4):373- 381.
65. Tojo A, Asaba K, Onozato ML. Suppressing renal NADPH oxidase to treat diabetic nephropathy. *Expert Opin Ther Targets.* août 2007;11(8):1011- 1018.

66. Pickup JC, Mattock MB, Chusney GD, Burt D. NIDDM as a disease of the innate immune system: association of acute-phase reactants and interleukin-6 with metabolic syndrome X. *Diabetologia*. nov 1997;40(11):1286- 1292.
67. Devaraj S, Cheung AT, Jialal I, Griffen SC, Nguyen D, Glaser N, et al. Evidence of increased inflammation and microcirculatory abnormalities in patients with type 1 diabetes and their role in microvascular complications. *Diabetes*. nov 2007;56(11):2790- 2796.
68. Galkina E, Ley K. Leukocyte Recruitment and Vascular Injury in Diabetic Nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 1 janv 2006;17(2):368- 377.
69. Ha H, Yu MR, Choi YJ, Kitamura M, Lee HB. Role of high glucose-induced nuclear factor-kappaB activation in monocyte chemoattractant protein-1 expression by mesangial cells. *J Am Soc Nephrol JASN*. avr 2002;13(4):894- 902.
70. Kanamori H, Matsubara T, Mima A, Sumi E, Nagai K, Takahashi T, et al. Inhibition of MCP-1/CCR2 pathway ameliorates the development of diabetic nephropathy. *Biochem Biophys Res Commun*. 7 sept 2007;360(4):772- 777.
71. Kamal F, Yanakieva-Georgieva N, Piao H, Morioka T, Oite T. Local delivery of angiotensin II receptor blockers into the kidney passively attenuates inflammatory reactions during the early phases of streptozotocin-induced diabetic nephropathy through inhibition of calpain activity. *Nephron Exp Nephrol*. 2010;115(3):e69- 79.
72. Yang Y, Wang J, Qin L, Shou Z, Zhao J, Wang H, et al. Rapamycin prevents early steps of the development of diabetic nephropathy in rats. *Am J Nephrol*. 2007;27(5):495- 502.
73. Harmankaya O, Seber S, Yilmaz M. Combination of pentoxifylline with angiotensin converting enzyme inhibitors produces an additional reduction in microalbuminuria in hypertensive type 2 diabetic patients. *Ren Fail*. mai 2003;25(3):465- 470.
74. Jia H, Yu L, Gao B, Ji Q. Association between the T869C polymorphism of transforming growth factor-beta 1 and diabetic nephropathy: a meta-analysis. *Endocrine*. déc 2011;40(3):372- 378.
75. Wolf G, Mueller E, Stahl RA, Ziyadeh FN. Angiotensin II-induced hypertrophy of cultured murine proximal tubular cells is mediated by endogenous transforming growth factor-beta. *J Clin Invest*. sept 1993;92(3):1366- 1372.
76. Mezzano S, Droguett A, Burgos ME, Ardiles LG, Flores CA, Aros CA, et al. Renin-angiotensin system activation and interstitial inflammation in human diabetic nephropathy. *Kidney Int Suppl*. oct 2003;(86):S64- 70.
77. Haller H, Ito S, Izzo JL Jr, Januszewicz A, Katayama S, Menne J, et al. Olmesartan for the delay or prevention of microalbuminuria in type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 10 mars 2011;364(10):907- 917.
78. Ding W, Wang F, Fang Q, Zhang M, Chen J, Gu Y. Association between two genetic polymorphisms of the renin-angiotensin-aldosterone system and diabetic nephropathy: a meta-analysis. *Mol Biol Rep*. févr 2012;39(2):1293- 1303.
79. Quinn M, Angelico MC, Warram JH, Krolewski AS. Familial factors determine the development of diabetic nephropathy in patients with IDDM. *Diabetologia*. août 1996;39(8):940- 945.
80. Seaquist ER, Goetz FC, Rich S, Barbosa J. Familial clustering of diabetic kidney disease. Evidence for genetic susceptibility to diabetic nephropathy. *N Engl J Med*. 4 mai 1989;320(18):1161- 1165.
81. Borch-Johnsen K, Nørgaard K, Hommel E, Mathiesen ER, Jensen JS, Deckert T, et al. Is diabetic nephropathy an inherited complication? *Kidney Int*. avr 1992;41(4):719- 722.
82. Harjutsalo V, Katoh S, Sarti C, Tajima N, Tuomilehto J. Population-based assessment of familial clustering of diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Diabetes*. sept 2004;53(9):2449- 2454.

83. Monti MC, Lonsdale JT, Montomoli C, Montross R, Schlag E, Greenberg DA. Familial risk factors for microvascular complications and differential male-female risk in a large cohort of American families with type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* déc 2007;92(12):4650- 4655.
84. Canani LH, Gerchman F, Gross JL. Familial clustering of diabetic nephropathy in Brazilian type 2 diabetic patients. *Diabetes.* avr 1999;48(4):909- 913.
85. Strojek K, Grzeszczak W, Morawin E, Adamski M, Lacka B, Rudzki H, et al. Nephropathy of type II diabetes: evidence for hereditary factors? *Kidney Int.* mai 1997;51(5):1602- 1607.
86. Fioretto P, Steffes MW, Barbosa J, Rich SS, Miller ME, Mauer M. Is diabetic nephropathy inherited? Studies of glomerular structure in type 1 diabetic sibling pairs. *Diabetes.* avr 1999;48(4):865- 869.
87. Roglic G, Colhoun HM, Stevens LK, Lemkes HH, Manes C, Fuller JH. Parental history of hypertension and parental history of diabetes and microvascular complications in insulin-dependent diabetes mellitus: the EURODIAB IDDM Complications Study. *Diabet Med J Br Diabet Assoc.* mai 1998;15(5):418- 426.
88. Tarnow L, Rossing P, Nielsen FS, Fagerudd JA, Poirier O, Parving HH. Cardiovascular morbidity and early mortality cluster in parents of type 1 diabetic patients with diabetic nephropathy. *Diabetes Care.* janv 2000;23(1):30- 33.
89. Krolewski AS, Warram JH, Christlieb AR, Busick EJ, Kahn CR. The changing natural history of nephropathy in type I diabetes. *Am J Med.* mai 1985;78(5):785- 794.
90. Fogarty DG, Hanna LS, Wantman M, Warram JH, Krolewski AS, Rich SS. Segregation analysis of urinary albumin excretion in families with type 2 diabetes. *Diabetes.* juin 2000;49(6):1057- 1063.
91. Imperatore G, Knowler WC, Pettitt DJ, Kobes S, Bennett PH, Hanson RL. Segregation analysis of diabetic nephropathy in Pima Indians. *Diabetes.* juin 2000;49(6):1049- 1056.
92. Krolewski AS. Genetics of diabetic nephropathy: evidence for major and minor gene effects. *Kidney Int.* avr 1999;55(4):1582- 1596.
93. Lewis CM. Genetic association studies: design, analysis and interpretation. *Brief Bioinform.* juin 2002;3(2):146- 153.
94. Mooyaart AL, Valk EJJ, van Es LA, Bruijn JA, de Heer E, Freedman BI, et al. Genetic associations in diabetic nephropathy: a meta-analysis. *Diabetologia.* mars 2011;54(3):544- 553.
95. A haplotype map of the human genome. *Nature.* 27 oct 2005;437(7063):1299- 1320.
96. Hirschhorn JN, Daly MJ. Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. *Nat Rev Genet.* févr 2005;6(2):95- 108.
97. Reich DE, Lander ES. On the allelic spectrum of human disease. *Trends Genet TIG.* sept 2001;17(9):502- 510.
98. Bush WS, Moore JH. Chapter 11: Genome-Wide Association Studies. *PLoS Comput Biol* [Internet]. déc 2012 [cité 9 août 2013];8(12). Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3531285/>
99. Distefano JK, Taverna DM. Technological issues and experimental design of gene association studies. *Methods Mol Biol Clifton NJ.* 2011;700:3- 16.
100. Moczulski DK, Rogus JJ, Antonellis A, Warram JH, Krolewski AS. Major susceptibility locus for nephropathy in type 1 diabetes on chromosome 3q: results of novel discordant sib-pair analysis. *Diabetes.* juill 1998;47(7):1164- 1169.
101. Sandholm N, Salem RM, McKnight AJ, Brennan EP, Forsblom C, Isakova T, et al. New susceptibility loci associated with kidney disease in type 1 diabetes. *PLoS Genet.* sept 2012;8(9):e1002921.

102. Pezzolesi MG, Poznik GD, Mychaleckyj JC, Paterson AD, Barati MT, Klein JB, et al. Genome-wide association scan for diabetic nephropathy susceptibility genes in type 1 diabetes. *Diabetes*. juin 2009;58(6):1403- 1410.
103. Williams WW, Salem RM, McKnight AJ, Sandholm N, Forsblom C, Taylor A, et al. Association testing of previously reported variants in a large case-control meta-analysis of diabetic nephropathy. *Diabetes*. août 2012;61(8):2187- 2194.
104. Savage DA, Patterson CC, Deloukas P, Whittaker P, McKnight AJ, Morrison J, et al. Genetic association analyses of non-synonymous single nucleotide polymorphisms in diabetic nephropathy. *Diabetologia*. nov 2008;51(11):1998- 2002.
105. Imperatore G, Hanson RL, Pettitt DJ, Kobes S, Bennett PH, Knowler WC. Sib-pair linkage analysis for susceptibility genes for microvascular complications among Pima Indians with type 2 diabetes. Pima Diabetes Genes Group. *Diabetes*. mai 1998;47(5):821- 830.
106. Vardarli I, Baier LJ, Hanson RL, Akkoyun I, Fischer C, Rohmeiss P, et al. Gene for susceptibility to diabetic nephropathy in type 2 diabetes maps to 18q22.3-23. *Kidney Int*. déc 2002;62(6):2176- 2183.
107. Bowden DW, Colicigno CJ, Langefeld CD, Sale MM, Williams A, Anderson PJ, et al. A genome scan for diabetic nephropathy in African Americans. *Kidney Int*. oct 2004;66(4):1517- 1526.
108. Klupa T, Malecki MT, Pezzolesi M, Ji L, Curtis S, Langefeld CD, et al. Further evidence for a susceptibility locus for type 2 diabetes on chromosome 20q13.1-q13.2. *Diabetes*. déc 2000;49(12):2212- 2216.
109. Stasia MJ, Li XJ. Genetics and immunopathology of chronic granulomatous disease. *Semin Immunopathol*. juill 2008;30(3):209- 235.
110. Bedard K, Krause K-H. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev*. janv 2007;87(1):245- 313.
111. Babelova A, Avaniadi D, Jung O, Fork C, Beckmann J, Kosowski J, et al. Role of Nox4 in murine models of kidney disease. *Free Radic Biol Med*. 15 août 2012;53(4):842- 853.
112. Inoguchi T, Li P, Umeda F, Yu HY, Kakimoto M, Imamura M, et al. High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C--dependent activation of NAD(P)H oxidase in cultured vascular cells. *Diabetes*. nov 2000;49(11):1939- 1945.
113. Lee HB, Yu M-R, Yang Y, Jiang Z, Ha H. Reactive oxygen species-regulated signaling pathways in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol JASN*. août 2003;14(8 Suppl 3):S241- 245.
114. Gill PS, Wilcox CS. NADPH oxidases in the kidney. *Antioxidants Redox Signal*. oct 2006;8(9-10):1597- 1607.
115. Sedeek M, Callera G, Montezano A, Gutsol A, Heitz F, Szyndralewicz C, et al. Critical role of Nox4-based NADPH oxidase in glucose-induced oxidative stress in the kidney: implications in type 2 diabetic nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol*. déc 2010;299(6):F1348- 1358.
116. Etoh T, Inoguchi T, Kakimoto M, Sonoda N, Kobayashi K, Kuroda J, et al. Increased expression of NAD(P)H oxidase subunits, NOX4 and p22phox, in the kidney of streptozotocin-induced diabetic rats and its reversibility by interventional insulin treatment. *Diabetologia*. oct 2003;46(10):1428- 1437.
117. Sedeek M, Gutsol A, Montezano AC, Burger D, Nguyen Dinh Cat A, Kennedy CRJ, et al. Renoprotective effects of a novel Nox1/4 inhibitor in a mouse model of Type 2 diabetes. *Clin Sci Lond Engl* 1979. févr 2013;124(3):191- 202.

118. Susztak K, Raff AC, Schiffer M, Böttinger EP. Glucose-induced reactive oxygen species cause apoptosis of podocytes and podocyte depletion at the onset of diabetic nephropathy. *Diabetes*. janv 2006;55(1):225- 233.
119. Iglesias-De La Cruz MC, Ruiz-Torres P, Alcamí J, Díez-Marqués L, Ortega-Velázquez R, Chen S, et al. Hydrogen peroxide increases extracellular matrix mRNA through TGF-beta in human mesangial cells. *Kidney Int*. janv 2001;59(1):87- 95.
120. Ha H, Lee HB. Reactive oxygen species as glucose signaling molecules in mesangial cells cultured under high glucose. *Kidney Int Suppl*. sept 2000;77:S19- 25.
121. Gorin Y, Block K, Hernandez J, Bhandari B, Wagner B, Barnes JL, et al. Nox4 NAD(P)H oxidase mediates hypertrophy and fibronectin expression in the diabetic kidney. *J Biol Chem*. 25 nov 2005;280(47):39616- 39626.
122. Monteiro MB, Patente TA, Mohammedi K, Queiroz MS, Azevedo MJ, Canani LH, et al. Sex-specific associations of variants in regulatory regions of NADPH oxidase-2 (CYBB) and glutathione peroxidase 4 (GPX4) genes with kidney disease in type 1 diabetes. *Free Radic Res*. 19 août 2013;
123. Wyche KE, Wang SS, Griendling KK, Dikalov SI, Austin H, Rao S, et al. C242T CYBA polymorphism of the NADPH oxidase is associated with reduced respiratory burst in human neutrophils. *Hypertension*. juin 2004;43(6):1246- 1251.
124. Guzik TJ, West NE, Black E, McDonald D, Ratnatunga C, Pillai R, et al. Functional effect of the C242T polymorphism in the NAD(P)H oxidase p22phox gene on vascular superoxide production in atherosclerosis. *Circulation*. 10 oct 2000;102(15):1744- 1747.
125. Shimo-Nakanishi Y, Hasebe T, Suzuki A, Mochizuki H, Nomiyama T, Tanaka Y, et al. Functional effects of NAD(P)H oxidase p22(phox) C242T mutation in human leukocytes and association with thrombotic cerebral infarction. *Atherosclerosis*. juill 2004;175(1):109- 115.
126. Ueno T, Watanabe H, Fukuda N, Tsunemi A, Tahira K, Matsumoto T, et al. Influence of genetic polymorphisms in oxidative stress related genes and smoking on plasma MDA-LDL, soluble CD40 ligand, E-selectin and soluble ICAM1 levels in patients with coronary artery disease. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res*. juill 2009;15(7):CR341- 348.
127. Park J-Y, Ferrell RE, Park J-J, Hagberg JM, Phares DA, Jones JM, et al. NADPH oxidase p22phox gene variants are associated with systemic oxidative stress biomarker responses to exercise training. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. nov 2005;99(5):1905- 1911.
128. Paik I-Y, Jin C-H, Jin H-E, Kim Y-I, Cho S-Y, Roh H-T, et al. Effects of the NADPH oxidase p22phox C242T polymorphism on endurance exercise performance and oxidative DNA damage in response to aerobic exercise training. *Mol Cells*. 31 mai 2009;27(5):557- 562.
129. De Oliveira Alvim R, Santos PCJL, Dias RG, Rodrigues MV, de Sa Cunha R, Mill JG, et al. Association between the C242T polymorphism in the p22phox gene with arterial stiffness in the Brazilian population. *Physiol Genomics*. 1 mai 2012;44(10):587- 592.
130. Hodgkinson AD, Millward BA, Demaine AG. Association of the p22phox component of NAD(P)H oxidase with susceptibility to diabetic nephropathy in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. nov 2003;26(11):3111- 3115.
131. Ewens KG, George RA, Sharma K, Ziyadeh FN, Spielman RS. Assessment of 115 candidate genes for diabetic nephropathy by transmission/disequilibrium test. *Diabetes*. nov 2005;54(11):3305- 3318.
132. Matsunaga-Irie S, Maruyama T, Yamamoto Y, Motohashi Y, Hirose H, Shimada A, et al. Relation between development of nephropathy and the p22phox C242T and receptor for advanced glycation end product G1704T gene polymorphisms in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. févr 2004;27(2):303- 307.

133. Li A, Prasad A, Mincemoyer R, Satorius C, Epstein N, Finkel T, et al. Relationship of the C242T p22phox gene polymorphism to angiographic coronary artery disease and endothelial function. *Am J Med Genet.* 1999;86(1):57- 61.
134. Santos KG, Canani LH, Gross JL, Tschiedel B, Souto KE, Roisenberg I. Relationship of p22phox C242T polymorphism with nephropathy in type 2 diabetic patients. *J Nephrol. déc 2005;18(6):733- 738.*
135. Lim SC, Goh SK, Lai YR, Tee WW, Koh A, Xu XH, et al. Relationship between common functional polymorphisms of the p22phox gene (-930A > G and +242C > T) and nephropathy as a result of Type 2 diabetes in a Chinese population. *Diabet Med J Br Diabet Assoc. sept 2006;23(9):1037- 1041.*
136. Nakano T, Matsunaga S, Nagata A, Maruyama T. NAD(P)H oxidase p22phox Gene C242T polymorphism and lipoprotein oxidation. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem. sept 2003;335(1-2):101- 107.*
137. Nomiyama T, Tanaka Y, Piao L, Hattori N, Uchino H, Watada H, et al. Accumulation of somatic mutation in mitochondrial DNA and atherosclerosis in diabetic patients. *Ann N Y Acad Sci. avr 2004;1011:193- 204.*
138. Gu L, Su L, Liang B, Tang N, Long J, Tan J, et al. Association between the C242T polymorphism of p22phox gene and ischemic stroke: a meta-analysis. *J Neurol Sci. 15 juill 2013;330(1-2):100- 110.*
139. Fang S, Wang L, Jia C. Association of p22phox gene C242T polymorphism with coronary artery disease: a meta-analysis. *Thromb Res. mai 2010;125(5):e197- 201.*
140. Vlachopoulos C, Xaplanteris P, Baou K, Vassiliadou C, Dima I, Ioakeimidis N, et al. Common single nucleotide polymorphisms of the p22phox NADPH oxidase subunit do not influence aortic stiffness in young, healthy adults. *Hell J Cardiol HJC Hellēnikē Kardiologikē Epitheōrēsē. oct 2012;53(5):352- 356.*
141. Genius J, Grau AJ, Lichy C. The C242T polymorphism of the NAD(P)H oxidase p22phox subunit is associated with an enhanced risk for cerebrovascular disease at a young age. *Cerebrovasc Dis Basel Switz. 2008;26(4):430- 433.*
142. Kuroda J, Kitazono T, Ago T, Ninomiya T, Ooboshi H, Kamouchi M, et al. NAD(P)H oxidase p22phox C242T polymorphism and ischemic stroke in Japan: the Fukuoka Stroke Registry and the Hisayama study. *Eur J Neurol Off J Eur Fed Neurol Soc. oct 2007;14(10):1091- 1097.*
143. Liu H-G, Liu K, Zhou Y-N, Xu Y-J. Relationship between reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase subunit p22phox gene polymorphism and obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome in the Chinese Han population. *Chin Med J (Engl). 20 juin 2009;122(12):1369- 1374.*
144. Piérola J, Alemany A, Yañez A, de-la-Peña M, Sánchez-de-la-Torre M, Esquinas C, et al. NADPH oxidase p22phox polymorphisms and oxidative stress in patients with obstructive sleep apnoea. *Respir Med. nov 2011;105(11):1748- 1754.*
145. Niemiec P, Zak I, Wita K. The 242T variant of the CYBA gene polymorphism increases the risk of coronary artery disease associated with cigarette smoking and hypercholesterolemia. *Coron Artery Dis. août 2007;18(5):339- 346.*
146. Ge J, Ding Z, Song Y, Wang F. Smoking dose modifies the association between C242T polymorphism and prevalence of metabolic syndrome in a Chinese population. *PloS One. 2012;7(3):e31926.*
147. Ishibashi Y, Matsui T, Takeuchi M, Yamagishi S. Beneficial effects of metformin and irbesartan on advanced glycation end products (AGEs)-RAGE-induced proximal tubular cell injury. *Pharmacol Res Off J Ital Pharmacol Soc. mars 2012;65(3):297- 302.*

148. Scivittaro V, Ganz MB, Weiss MF. AGEs induce oxidative stress and activate protein kinase C-beta(II) in neonatal mesangial cells. *Am J Physiol Renal Physiol.* avr 2000;278(4):F676- 683.
149. Chen S, Cohen MP, Lautenslager GT, Shearman CW, Ziyadeh FN. Glycated albumin stimulates TGF-beta 1 production and protein kinase C activity in glomerular endothelial cells. *Kidney Int.* févr 2001;59(2):673- 681.
150. Maeda S, Matsui T, Takeuchi M, Yoshida Y, Yamakawa R, Fukami K, et al. Pigment epithelium-derived factor (PEDF) inhibits proximal tubular cell injury in early diabetic nephropathy by suppressing advanced glycation end products (AGEs)-receptor (RAGE) axis. *Pharmacol Res Off J Ital Pharmacol Soc.* mars 2011;63(3):241- 248.
151. Tang SCW, Chan LYY, Leung JCK, Cheng AS, Lin M, Lan HY, et al. Differential effects of advanced glycation end-products on renal tubular cell inflammation. *Nephrol Carlton Vic.* mai 2011;16(4):417- 425.
152. Tanji N, Markowitz GS, Fu C, Kislinger T, Taguchi A, Pischetsrieder M, et al. Expression of advanced glycation end products and their cellular receptor RAGE in diabetic nephropathy and nondiabetic renal disease. *J Am Soc Nephrol JASN.* sept 2000;11(9):1656- 1666.
153. Wendt TM, Tanji N, Guo J, Kislinger TR, Qu W, Lu Y, et al. RAGE drives the development of glomerulosclerosis and implicates podocyte activation in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Am J Pathol.* avr 2003;162(4):1123- 1137.
154. Jensen LNJ, Denner L, Schrijvers BF, Tilton RG, Rasch R, Flyvbjerg A. Renal effects of a neutralising RAGE-antibody in long-term streptozotocin-diabetic mice. *J Endocrinol.* mars 2006;188(3):493- 501.
155. Reiniger N, Lau K, McCalla D, Eby B, Cheng B, Lu Y, et al. Deletion of the receptor for advanced glycation end products reduces glomerulosclerosis and preserves renal function in the diabetic OVE26 mouse. *Diabetes.* août 2010;59(8):2043- 2054.
156. Chung ACK, Zhang H, Kong Y-Z, Tan J-J, Huang XR, Kopp JB, et al. Advanced glycation end-products induce tubular CTGF via TGF-beta-independent Smad3 signaling. *J Am Soc Nephrol JASN.* févr 2010;21(2):249- 260.
157. Ruster C, Franke S, Wenzel U, Schmidhaupt R, Fraune C, Krebs C, et al. Podocytes of AT2 receptor knockout mice are protected from angiotensin II-mediated RAGE induction. *Am J Nephrol.* 2011;34(4):309- 317.
158. Bolton WK, Catran DC, Williams ME, Adler SG, Appel GB, Cartwright K, et al. Randomized trial of an inhibitor of formation of advanced glycation end products in diabetic nephropathy. *Am J Nephrol.* févr 2004;24(1):32- 40.
159. Kang P, Tian C, Jia C. Association of RAGE gene polymorphisms with type 2 diabetes mellitus, diabetic retinopathy and diabetic nephropathy. *Gene.* 25 mai 2012;500(1):1- 9.
160. Hudson BI, Stickland MH, Futers TS, Grant PJ. Effects of novel polymorphisms in the RAGE gene on transcriptional regulation and their association with diabetic retinopathy. *Diabetes.* juin 2001;50(6):1505- 1511.
161. Cunha C, Giovannini G, Pierini A, Bell AS, Sorci G, Riuzzi F, et al. Genetically-determined hyperfunction of the S100B/RAGE axis is a risk factor for aspergillosis in stem cell transplant recipients. *PloS One.* 2011;6(11):e27962.
162. Campo I, Morbini P, Zorzetto M, Tinelli C, Brunetta E, Villa C, et al. Expression of receptor for advanced glycation end products in sarcoid granulomas. *Am J Respir Crit Care Med.* 1 mars 2007;175(5):498- 506.
163. Thomas MC, Söderlund J, Lehto M, Mäkinen V-P, Moran JL, Cooper ME, et al. Soluble receptor for AGE (RAGE) is a novel independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in type 1 diabetes. *Diabetologia.* oct 2011;54(10):2669- 2677.

164. Abdel-Azeez HA, El-Okely AM. Association of the receptor for advanced glycation end products (RAGE) -374 T/A gene polymorphism and circulating soluble RAGE with nephropathy in type 1 diabetic patients. *Egypt J Immunol Egypt Assoc Immunol.* 2009;16(1):95- 106.
165. Krechler T, Jáchymová M, Mestek O, Zák A, Zima T, Kalousová M. Soluble receptor for advanced glycation end-products (sRAGE) and polymorphisms of RAGE and glyoxalase I genes in patients with pancreas cancer. *Clin Biochem.* juill 2010;43(10-11):882- 886.
166. Gaens KHJ, van Der Kallen CJH, van Greevenbroek MMJ, Feskens EJ, Stehouwer CDA, Schalkwijk CG. Receptor for advanced glycation end product polymorphisms and type 2 diabetes: the CODAM study. *Ann N Y Acad Sci.* avr 2008;1126:162- 165.
167. Kalousová M, Jáchymová M, Mestek O, Hodková M, Kazderová M, Tesar V, et al. Receptor for advanced glycation end products--soluble form and gene polymorphisms in chronic haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* juill 2007;22(7):2020- 2026.
168. Peng WH, Lu L, Wang LJ, Yan XX, Chen QJ, Zhang Q, et al. RAGE gene polymorphisms are associated with circulating levels of endogenous secretory RAGE but not with coronary artery disease in Chinese patients with type 2 diabetes mellitus. *Arch Med Res.* juill 2009;40(5):393- 398.
169. Lu L, Jin Pu L, Chen QJ, Wang L, Peng W, Yan X, et al. Increased glycated albumin and decreased esRAGE concentrations are associated with in-stent restenosis in Chinese diabetic patients. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem.* oct 2008;396(1-2):33- 37.
170. Kalousová M, Jáchymová M, Germanová A, Kubena AA, Tesar V, Zima T. Genetic predisposition to advanced glycation end products toxicity is related to prognosis of chronic hemodialysis patients. *Kidney Blood Press Res.* 2010;33(1):30- 36.
171. Gaens KHJ, Ferreira I, van der Kallen CJH, van Greevenbroek MMJ, Blaak EE, Feskens EJM, et al. Association of polymorphism in the receptor for advanced glycation end products (RAGE) gene with circulating RAGE levels. *J Clin Endocrinol Metab.* déc 2009;94(12):5174- 5180.
172. Sullivan CM, Futers TS, Barrett JH, Hudson BI, Freeman MS, Grant PJ. RAGE polymorphisms and the heritability of insulin resistance: the Leeds family study. *Diabetes Vasc Dis Res Off J Int Soc Diabetes Vasc Dis.* févr 2005;2(1):42- 44.
173. Laki J, Kiszal P, Vatay A, Blaskó B, Kovács M, Körner A, et al. The HLA 8.1 ancestral haplotype is strongly linked to the C allele of -429T>C promoter polymorphism of receptor of the advanced glycation endproduct (RAGE) gene. Haplotype-independent association of the -429C allele with high hemoglobinA1C levels in diabetic patients. *Mol Immunol.* janv 2007;44(4):648- 655.
174. Lindholm E, Bakhtadze E, Sjögren M, Cilio CM, Agardh E, Groop L, et al. The -374 T/A polymorphism in the gene encoding RAGE is associated with diabetic nephropathy and retinopathy in type 1 diabetic patients. *Diabetologia.* nov 2006;49(11):2745- 2755.
175. Pettersson-Fernholm K, Forsblom C, Hudson BI, Perola M, Grant PJ, Groop P-H, et al. The functional -374 T/A RAGE gene polymorphism is associated with proteinuria and cardiovascular disease in type 1 diabetic patients. *Diabetes.* mars 2003;52(3):891- 894.
176. Kang P, Tian C, Jia C. Association of RAGE gene polymorphisms with type 2 diabetes mellitus, diabetic retinopathy and diabetic nephropathy. *Gene.* 25 mai 2012;500(1):1- 9.
177. Kanková K, Stejskalová A, Hertlová M, Znojil V. Haplotype analysis of the RAGE gene: identification of a haplotype marker for diabetic nephropathy in type 2 diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* juin 2005;20(6):1093- 1102.

178. Dos Santos KG, Canani LH, Gross JL, Tschiedel B, Pires Souto KE, Roisenberg I. The -374A allele of the receptor for advanced glycation end products gene is associated with a decreased risk of ischemic heart disease in African-Brazilians with type 2 diabetes. *Mol Genet Metab.* juin 2005;85(2):149- 156.
179. Niu W, Qi Y, Wu Z, Liu Y, Zhu D, Jin W. A meta-analysis of receptor for advanced glycation end products gene: four well-evaluated polymorphisms with diabetes mellitus. *Mol Cell Endocrinol.* 6 juill 2012;358(1):9- 17.
180. Ng ZX, Kuppusamy UR, Tajunisah I, Fong KCS, Chua KH. Association analysis of -429T/C and -374T/A polymorphisms of receptor of advanced glycation end products (RAGE) gene in Malaysian with type 2 diabetic retinopathy. *Diabetes Res Clin Pract.* mars 2012;95(3):372- 377.
181. Ramprasad S, Radha V, Mathias RA, Majumder PP, Rao MRS, Rema M. Rage gene promoter polymorphisms and diabetic retinopathy in a clinic-based population from South India. *Eye Lond Engl.* mars 2007;21(3):395- 401.
182. Balasubbu S, Sundaresan P, Rajendran A, Ramasamy K, Govindarajan G, Perumalsamy N, et al. Association analysis of nine candidate gene polymorphisms in Indian patients with type 2 diabetic retinopathy. *BMC Med Genet.* 2010;11:158.
183. Lu W, Feng B. The -374A allele of the RAGE gene as a potential protective factor for vascular complications in type 2 diabetes: a meta-analysis. *Tohoku J Exp Med.* avr 2010;220(4):291- 297.
184. Wang J, Zou L, Song Z, Lang X, Huang S, Lu F, et al. Meta-analysis of RAGE gene polymorphism and coronary heart disease risk. *PloS One.* 2012;7(12):e50790.
185. Kirbis J, Milutinović A, Steblovnik K, Teran N, Terzić R, Zorc M. The -429 T/C and -374 T/A gene polymorphisms of the receptor of advanced glycation end products gene (RAGE) are not risk factors for coronary artery disease in Slovene population with type 2 diabetes. *Coll Antropol.* déc 2004;28(2):611- 616.
186. Engelen L, Ferreira I, Gaens KHJ, Henry RMA, Dekker JM, Nijpels G, et al. The association between the -374T/A polymorphism of the receptor for advanced glycation endproducts gene and blood pressure and arterial stiffness is modified by glucose metabolism status: the Hoorn and CoDAM studies. *J Hypertens.* févr 2010;28(2):285- 293.
187. Li Y, Wang S. Glycated albumin activates NADPH oxidase in rat mesangial cells through up-regulation of p47phox. *Biochem Biophys Res Commun.* 18 juin 2010;397(1):5- 11.
188. Yoo CW, Song CY, Kim BC, Hong HK, Lee HS. Glycated albumin induces superoxide generation in mesangial cells. *Cell Physiol Biochem Int J Exp Cell Physiol Biochem Pharmacol.* 2004;14(4-6):361- 368.
189. Wautier MP, Chappay O, Corda S, Stern DM, Schmidt AM, Wautier JL. Activation of NADPH oxidase by AGE links oxidant stress to altered gene expression via RAGE. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* mai 2001;280(5):E685- 694.
190. Thallas-Bonke V, Thorpe SR, Coughlan MT, Fukami K, Yap FYT, Sourris KC, et al. Inhibition of NADPH oxidase prevents advanced glycation end product-mediated damage in diabetic nephropathy through a protein kinase C-alpha-dependent pathway. *Diabetes.* févr 2008;57(2):460- 469.
191. Schwartzman ML, Balazy M, Masferrer J, Abraham NG, McGiff JC, Murphy RC. 12(R)-hydroxyicosatetraenoic acid: a cytochrome-P450-dependent arachidonate metabolite that inhibits Na⁺,K⁺-ATPase in the cornea. *Proc Natl Acad Sci U S A.* nov 1987;84(22):8125- 8129.
192. Ma YH, Harder DR, Clark JE, Roman RJ. Effects of 12-HETE on isolated dog renal arcuate arteries. *Am J Physiol.* août 1991;261(2 Pt 2):H451- 456.

193. Stern N, Kisch ES, Knoll E. Platelet lipoxygenase in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*. mai 1996;27(5):1149- 1152.
194. Nozawa K, Tuck ML, Golub M, Eggena P, Nadler JL, Stern N. Inhibition of lipoxygenase pathway reduces blood pressure in renovascular hypertensive rats. *Am J Physiol*. déc 1990;259(6 Pt 2):H1774- 1780.
195. Nadler JL, Natarajan R, Stern N. Specific action of the lipoxygenase pathway in mediating angiotensin II-induced aldosterone synthesis in isolated adrenal glomerulosa cells. *J Clin Invest*. déc 1987;80(6):1763- 1769.
196. Jim K, Hassid A, Sun F, Dunn MJ. Lipoxygenase activity in rat kidney glomeruli, glomerular epithelial cells, and cortical tubules. *J Biol Chem*. 10 sept 1982;257(17):10294- 10299.
197. Hatley ME, Srinivasan S, Reilly KB, Bolick DT, Hedrick CC. Increased production of 12/15 lipoxygenase eicosanoids accelerates monocyte/endothelial interactions in diabetic db/db mice. *J Biol Chem*. 11 juill 2003;278(28):25369- 25375.
198. Guo Y, Zhang X, Tan W, Miao X, Sun T, Zhao D, et al. Platelet 12-lipoxygenase Arg261Gln polymorphism: functional characterization and association with risk of esophageal squamous cell carcinoma in combination with COX-2 polymorphisms. *Pharmacogenet Genomics*. mars 2007;17(3):197- 205.
199. Aleem AM, Wells L, Jankun J, Walther M, Kühn H, Reinartz J, et al. Human platelet 12-lipoxygenase: naturally occurring Q261/R261 variants and N544L mutant show altered activity but unaffected substrate binding and membrane association behavior. *Int J Mol Med*. déc 2009;24(6):759- 764.
200. Liu Y, Freedman BI, Burdon KP, Langefeld CD, Howard T, Herrington D, et al. Association of arachidonate 12-lipoxygenase genotype variation and glycemic control with albuminuria in type 2 diabetes. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. août 2008;52(2):242- 250.
201. Quintana LF, Guzmán B, Collado S, Clària J, Poch E. A coding polymorphism in the 12-lipoxygenase gene is associated to essential hypertension and urinary 12(S)-HETE. *Kidney Int*. févr 2006;69(3):526- 530.
202. Prasad VVTS, Kolli P, Moganti D. Association of a functional polymorphism (Gln261Arg) in 12-lipoxygenase with breast cancer. *Exp Ther Med*. 2011;2(2):317- 323.
203. Goodman JE, Bowman ED, Chanock SJ, Alberg AJ, Harris CC. Arachidonate lipoxygenase (ALOX) and cyclooxygenase (COX) polymorphisms and colon cancer risk. *Carcinogenesis*. déc 2004;25(12):2467- 2472.
204. Mullin BH, Spector TD, Curtis CC, Ong GN, Hart DJ, Hakim AJ, et al. Polymorphisms in ALOX12, but not ALOX15, are significantly associated with BMD in postmenopausal women. *Calcif Tissue Int*. juill 2007;81(1):10- 17.
205. Ichikawa S, Koller DL, Johnson ML, Lai D, Xuei X, Edenberg HJ, et al. Human ALOX12, but not ALOX15, is associated with BMD in white men and women. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. avr 2006;21(4):556- 564.
206. Harsløf T, Husted LB, Nyegaard M, Carstens M, Stenkjær L, Brixen K, et al. Polymorphisms in the ALOX12 gene and osteoporosis. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA*. août 2011;22(8):2249- 2259.
207. Samikkannu T, Thomas JJ, Bhat GJ, Wittman V, Thekkumkara TJ. Acute effect of high glucose on long-term cell growth: a role for transient glucose increase in proximal tubule cell injury. *Am J Physiol Renal Physiol*. juill 2006;291(1):F162- 175.
208. Rossing P, Hougaard P, Parving H-H. Risk factors for development of incipient and overt diabetic nephropathy in type 1 diabetic patients: a 10-year prospective observational study. *Diabetes Care*. mai 2002;25(5):859- 864.

209. Chaturvedi N, Stephenson JM, Fuller JH. The relationship between smoking and microvascular complications in the EURODIAB IDDM Complications Study. *Diabetes Care*. juin 1995;18(6):785- 792.
210. beck français, guignard romain. prévalence du tabagisme en france et comparaisons internationales. INPES; 2012.
211. Amed S, Nuernberger K, McCrea P, Reimer K, Krueger H, Aydede SK, et al. Adherence to clinical practice guidelines in the management of children, youth, and young adults with type 1 diabetes-a prospective population cohort study. *J Pediatr*. août 2013;163(2):543- 548.e1.
212. Demirel F, Tepe D, Esen I, Buber N, Boztepe H. Individual and Familial Factors Associated with Metabolic Control in Children with Type 1 Diabetes. *Pediatr Int Off J Jpn Pediatr Soc*. 6 août 2013;
213. Shah S, Baez EA, Felipe DL, Maynard JD, Hempe JM, Chalew SA. Advanced Glycation Endproducts in Children with Diabetes. *J Pediatr*. 3 août 2013;
214. Secrest AM, Becker DJ, Kelsey SF, LaPorte RE, Orchard TJ. All-cause mortality trends in a large population-based cohort with long-standing childhood-onset type 1 diabetes: the Allegheny County type 1 diabetes registry. *Diabetes Care*. déc 2010;33(12):2573- 2579.
215. Möllsten A, Torffvit O. Tamm-Horsfall protein gene is associated with distal tubular dysfunction in patients with type 1 diabetes. *Scand J Urol Nephrol*. déc 2010;44(6):438- 444.
216. Zhu Y, Marchal CC, Casbon A-J, Stull N, von Löhneysen K, Knaus UG, et al. Deletion mutagenesis of p22phox subunit of flavocytochrome b558: identification of regions critical for gp91phox maturation and NADPH oxidase activity. *J Biol Chem*. 13 oct 2006;281(41):30336- 30346.
217. Von Löhneysen K, Noack D, Jesaitis AJ, Dinauer MC, Knaus UG. Mutational analysis reveals distinct features of the Nox4-p22 phox complex. *J Biol Chem*. 12 déc 2008;283(50):35273- 35282.
218. Bedard K, Attar H, Bonnefont J, Jaquet V, Borel C, Plastre O, et al. Three common polymorphisms in the CYBA gene form a haplotype associated with decreased ROS generation. *Hum Mutat*. 2009;30(7):1123- 33.
219. Däbritz J, Friedrichs F, Weinhage T, Hampe J, Kucharzik T, Lügering A, et al. The functional -374T/A polymorphism of the receptor for advanced glycation end products may modulate Crohn's disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. mai 2011;300(5):G823- 832.
220. DiStefano JK, Taila M, Alvarez ML. Emerging roles for miRNAs in the development, diagnosis, and treatment of diabetic nephropathy. *Curr Diab Rep*. août 2013;13(4):582- 591.
221. Li JY, Yong TY, Michael MZ, Gleadle JM. Review: The role of microRNAs in kidney disease. *Nephrol Carlton Vic*. sept 2010;15(6):599- 608.
222. Liang M, Liu Y, Mladinov D, Cowley AW Jr, Trivedi H, Fang Y, et al. MicroRNA: a new frontier in kidney and blood pressure research. *Am J Physiol Renal Physiol*. sept 2009;297(3):F553- 558.
223. Brennan EP, Ehrich M, O'Donovan H, Brazil DP, Crean JK, Murphy M, et al. DNA methylation profiling in cell models of diabetic nephropathy. *Epigenetics Off J DNA Methylation Soc*. 1 juill 2010;5(5):396- 401.
224. Bell CG, Teschendorff AE, Rakyan VK, Maxwell AP, Beck S, Savage DA. Genome-wide DNA methylation analysis for diabetic nephropathy in type 1 diabetes mellitus. *BMC Med Genomics*. 2010;3:33.
225. Merchant ML, Perkins BA, Boratyn GM, Ficociello LH, Wilkey DW, Barati MT, et al. Urinary peptidome may predict renal function decline in type 1 diabetes and microalbuminuria. *J Am Soc Nephrol JASN*. sept 2009;20(9):2065- 2074.

226. Bouhanick B, Gallois Y, Hadjadj S, Boux de Casson F, Limal JM, Marre M. Relationship between glomerular hyperfiltration and ACE insertion/deletion polymorphism in type 1 diabetic children and adolescents. *Diabetes Care*. avr 1999;22(4):618- 622.
227. Hadjadj S, Belloum R, Bouhanick B, Gallois Y, Guilloteau G, Chatellier G, et al. Prognostic value of angiotensin-I converting enzyme I/D polymorphism for nephropathy in type 1 diabetes mellitus: a prospective study. *J Am Soc Nephrol JASN*. mars 2001;12(3):541- 549.
228. Hadjadj S, Tarnow L, Forsblom C, Kazeem G, Marre M, Groop P-H, et al. Association between angiotensin-converting enzyme gene polymorphisms and diabetic nephropathy: case-control, haplotype, and family-based study in three European populations. *J Am Soc Nephrol JASN*. avr 2007;18(4):1284- 1291.
229. Marre M, Bernadet P, Gallois Y, Savagner F, Guyene TT, Hallab M, et al. Relationships between angiotensin I converting enzyme gene polymorphism, plasma levels, and diabetic retinal and renal complications. *Diabetes*. mars 1994;43(3):384- 388.
230. Mizuiri S, Hemmi H, Inoue A, Yoshikawa H, Tanegashima M, Fushimi T, et al. Angiotensin-converting enzyme polymorphism and development of diabetic nephropathy in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Nephron*. 1995;70(4):455- 459.
231. Schmidt S, Schöne N, Ritz E. Association of ACE gene polymorphism and diabetic nephropathy? The Diabetic Nephropathy Study Group. *Kidney Int*. avr 1995;47(4):1176- 1181.
232. Tarnow L, Cambien F, Rossing P, Nielsen FS, Hansen BV, Lecerf L, et al. Lack of relationship between an insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene and diabetic nephropathy and proliferative retinopathy in IDDM patients. *Diabetes*. mai 1995;44(5):489- 494.
233. Oh TG, Shin CS, Park KS, Kim SY, Cho BY, Lee HK, et al. Relationships between angiotensin I converting enzyme gene polymorphism and renal complications in Korean IDDM patients. *Korean J Intern Med*. juin 1996;11(2):133- 137.
234. Björck S, Blohmé G, Sylvén C, Mulec H. Deletion insertion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene and progression of diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. 1997;12 Suppl 2:67- 70.
235. Ringel J, Beige J, Kunz R, Distler A, Sharma AM. Genetic variants of the renin-angiotensin system, diabetic nephropathy and hypertension. *Diabetologia*. févr 1997;40(2):193- 199.
236. Barnas U, Schmidt A, Illievich A, Kiener HP, Rabensteiner D, Kaider A, et al. Evaluation of risk factors for the development of nephropathy in patients with IDDM: insertion/deletion angiotensin converting enzyme gene polymorphism, hypertension and metabolic control. *Diabetologia*. mars 1997;40(3):327- 331.
237. Marre M, Jeunemaitre X, Gallois Y, Rodier M, Chatellier G, Sert C, et al. Contribution of genetic polymorphism in the renin-angiotensin system to the development of renal complications in insulin-dependent diabetes: Genetique de la Nephropathie Diabetique (GENEDIAB) study group. *J Clin Invest*. 1 avr 1997;99(7):1585- 1595.
238. Hanyu O, Hanawa H, Nakagawa O, Tani N, Andou N, Aizawa Y, et al. Polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene in diabetic nephropathy in type II diabetic patients with proliferative retinopathy. *Ren Fail*. janv 1998;20(1):125- 133.
239. Pfohl M, Frost D, Koch M, Clemens P, Patzies A, Schmülling RM, et al. Lack of association between the insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting-enzyme gene and diabetic nephropathy in IDDM patients. *Horm Metab Res Horm-Stoffwechselforschung Horm Métabolisme*. mai 1998;30(5):276- 280.
240. Penno G, Chaturvedi N, Talmud PJ, Cotroneo P, Manto A, Nannipieri M, et al. Effect of angiotensin-converting enzyme (ACE) gene polymorphism on progression of renal disease

- and the influence of ACE inhibition in IDDM patients: findings from the EUCLID Randomized Controlled Trial. EURODIAB Controlled Trial of Lisinopril in IDDM. *Diabetes*. sept 1998;47(9):1507- 1511.
241. Freire MB, van Dijk DJ, Erman A, Boner G, Warram JH, Krolewski AS. DNA polymorphisms in the ACE gene, serum ACE activity and the risk of nephropathy in insulin-dependent diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. oct 1998;13(10):2553- 2558.
242. Vleming LJ, van der Pijl JW, Lemkes HH, Westendorp RG, Maassen JA, Daha MR, et al. The DD genotype of the ACE gene polymorphism is associated with progression of diabetic nephropathy to end stage renal failure in IDDM. *Clin Nephrol*. mars 1999;51(3):133- 140.
243. Jacobsen P, Rossing K, Tarnow L, Rossing P, Mallet C, Poirier O, et al. Progression of diabetic nephropathy in normotensive type 1 diabetic patients. *Kidney Int Suppl*. juill 1999;71:S101- 105.
244. Miura J, Uchigata Y, Yokoyama H, Omori Y, Iwamoto Y. Genetic polymorphism of renin-angiotensin system is not associated with diabetic vascular complications in Japanese subjects with long-term insulin dependent diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*. août 1999;45(1):41- 49.
245. Van Ittersum FJ, de Man AM, Thijssen S, de Knijff P, Slagboom E, Smulders Y, et al. Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin system and complications of insulin-dependent diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. juill 2000;15(7):1000- 1007.
246. Rudberg S, Rasmussen LM, Bangstad HJ, Osterby R. Influence of insertion/deletion polymorphism in the ACE-I gene on the progression of diabetic glomerulopathy in type 1 diabetic patients with microalbuminuria. *Diabetes Care*. avr 2000;23(4):544- 548.
247. Azar ST, Zalloua PA, Medlej R, Halabi G. The DD genotype of the ACE gene polymorphism is associated with diabetic nephropathy in the type-1 diabetics. *Endocr Res*. mai 2001;27(1-2):99- 108.
248. De Azevedo MJ, Dalmáz CA, Caramori MLA, Pecis M, Esteves JF, Maia AL, et al. ACE and PC-1 gene polymorphisms in normoalbuminuric Type 1 diabetic patients: a 10-year prospective study. *J Diabetes Complications*. août 2002;16(4):255- 262.
249. De Cosmo S, Miscio G, Zucaro L, Margaglione M, Argiolas A, Thomas S, et al. The role of PC-1 and ACE genes in diabetic nephropathy in type 1 diabetic patients: evidence for a polygenic control of kidney disease progression. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. août 2002;17(8):1402- 1407.
250. Boright AP, Paterson AD, Mirea L, Bull SB, Mowjoodi A, Scherer SW, et al. Genetic variation at the ACE gene is associated with persistent microalbuminuria and severe nephropathy in type 1 diabetes: the DCCT/EDIC Genetics Study. *Diabetes*. avr 2005;54(4):1238- 1244.
251. Gallego PH, Shephard N, Bulsara MK, van Bockxmeer FM, Powell BL, Beilby JP, et al. Angiotensinogen gene T235 variant: a marker for the development of persistent microalbuminuria in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications*. juin 2008;22(3):191- 198.
252. Currie D, McKnight AJ, Patterson CC, Sadlier DM, Maxwell AP, UK Warren 3/GoKinD Study Group. Investigation of ACE, ACE2 and AGTR1 genes for association with nephropathy in Type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med J Br Diabet Assoc*. oct 2010;27(10):1188- 1194.
253. Möllsten A, Vionnet N, Forsblom C, Parkkonen M, Tarnow L, Hadjadj S, et al. A polymorphism in the angiotensin II type 1 receptor gene has different effects on the risk of diabetic nephropathy in men and women. *Mol Genet Metab*. mai 2011;103(1):66- 70.

254. Tarnow L, Cambien F, Rossing P, Nielsen FS, Hansen BV, Ricard S, et al. Angiotensin-II type 1 receptor gene polymorphism and diabetic microangiopathy. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* juin 1996;11(6):1019- 1023.
255. Chowdhury TA, Dyer PH, Kumar S, Gough SC, Gibson SP, Rowe BR, et al. Lack of association of angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism with diabetic nephropathy in insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabet Med J Br Diabet Assoc.* oct 1997;14(10):837- 840.
256. Doria A, Onuma T, Warram JH, Krolewski AS. Synergistic effect of angiotensin II type 1 receptor genotype and poor glycaemic control on risk of nephropathy in IDDM. *Diabetologia.* nov 1997;40(11):1293- 1299.
257. Savage DA, Feeney SA, Fogarty DG, Maxwell AP. Risk of developing diabetic nephropathy is not associated with synergism between the angiotensin II (type 1) receptor C1166 allele and poor glycaemic control. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* avr 1999;14(4):891- 894.
258. Jacobsen P, Tarnow L, Carstensen B, Hovind P, Poirier O, Parving H-H. Genetic variation in the Renin-Angiotensin system and progression of diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol JASN.* nov 2003;14(11):2843- 2850.
259. Möllsten A, Kockum I, Svensson M, Rudberg S, Ugarph-Morawski A, Brismar K, et al. The effect of polymorphisms in the renin-angiotensin-aldosterone system on diabetic nephropathy risk. *J Diabetes Complications.* déc 2008;22(6):377- 383.
260. Doria A, Onuma T, Gearin G, Freire MB, Warram JH, Krolewski AS. Angiotensinogen polymorphism M235T, hypertension, and nephropathy in insulin-dependent diabetes. *Hypertension.* mai 1996;27(5):1134- 1139.
261. Tarnow L, Cambien F, Rossing P, Nielsen FS, Hansen BV, Ricard S, et al. Angiotensinogen gene polymorphisms in IDDM patients with diabetic nephropathy. *Diabetes.* mars 1996;45(3):367- 369.
262. Fogarty DG, Harron JC, Hughes AE, Nevin NC, Doherty CC, Maxwell AP. A molecular variant of angiotensinogen is associated with diabetic nephropathy in IDDM. *Diabetes.* sept 1996;45(9):1204- 1208.
263. Chowdhury TA, Dronsfield MJ, Kumar S, Gough SL, Gibson SP, Khatoon A, et al. Examination of two genetic polymorphisms within the renin-angiotensin system: no evidence for an association with nephropathy in IDDM. *Diabetologia.* sept 1996;39(9):1108- 1114.
264. Schmidt S, Giessel R, Bergis KH, Strojek K, Grzeszczak W, Ganten D, et al. Angiotensinogen gene M235T polymorphism is not associated with diabetic nephropathy. The Diabetic Nephropathy Study Group. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* sept 1996;11(9):1755- 1761.
265. Lajer M, Schjoedt KJ, Jacobsen P, Tarnow L, Parving H-H. Aldosterone synthase (CYP11B2) -344T/C polymorphism is not associated with the initiation and progression of diabetic nephropathy in Caucasian Type 1 diabetic patients. *Diabet Med J Br Diabet Assoc.* juin 2006;23(6):675- 680.
266. Hadjadj S, Gallois Y, Simard G, Bouhanick B, Passa P, Grimaldi A, et al. Lack of relationship in long-term type 1 diabetic patients between diabetic nephropathy and polymorphisms in apolipoprotein epsilon, lipoprotein lipase and cholesteryl ester transfer protein. *Genétique de la Néphropathie Diabétique Study Group. Données Epidémiologiques sur le Syndrome d'Insulino-Résistance Study Group.* *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* déc 2000;15(12):1971- 1976.
267. Onuma T, Laffel LM, Angelico MC, Krolewski AS. Apolipoprotein E genotypes and risk of diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol JASN.* juill 1996;7(7):1075- 1078.

268. Werle E, Fiehn W, Hasslacher C. Apolipoprotein E polymorphism and renal function in German type 1 and type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. juin 1998;21(6):994- 998.
269. Tarnow L, Stehouwer CD, Emeis JJ, Poirier O, Cambien F, Hansen BV, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 and apolipoprotein E gene polymorphisms and diabetic angiopathy. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. mai 2000;15(5):625- 630.
270. Araki S, Moczulski DK, Hanna L, Scott LJ, Warram JH, Krolewski AS. APOE polymorphisms and the development of diabetic nephropathy in type 1 diabetes: results of case-control and family-based studies. *Diabetes*. déc 2000;49(12):2190- 2195.
271. Shcherbak NS. Apolipoprotein E gene polymorphism is not a strong risk factor for diabetic nephropathy and retinopathy in Type I diabetes: case-control study. *BMC Med Genet*. 2001;2:8.
272. Klein RL, McHenry MB, Lok KH, Hunter SJ, Le N-A, Jenkins AJ, et al. Apolipoprotein C-III protein concentrations and gene polymorphisms in Type 1 diabetes: associations with microvascular disease complications in the DCCT/EDIC cohort. *J Diabetes Complications*. févr 2005;19(1):18- 25.
273. McKay GJ, Savage DA, Patterson CC, Lewis G, McKnight AJ, Maxwell AP, et al. Association analysis of dyslipidemia-related genes in diabetic nephropathy. *PloS One*. 2013;8(3):e58472.
274. Hyvönen ME, Ihalmo P, Forsblom C, Thorn L, Sandholm N, Lehtonen S, et al. INPPL1 is associated with the metabolic syndrome in men with Type 1 diabetes, but not with diabetic nephropathy. *Diabet Med J Br Diabet Assoc*. déc 2012;29(12):1589- 1595.
275. Jorsal A, Tarnow L, Lajer M, Ek J, Hansen T, Pedersen O, et al. The PPAR gamma 2 Pro12Ala variant predicts ESRD and mortality in patients with type 1 diabetes and diabetic nephropathy. *Mol Genet Metab*. juill 2008;94(3):347- 351.
276. Rudofsky G Jr, Schlimme M, Schlotterer A, von Eynatten M, Reismann P, Tafel J, et al. No association of the 94T/G polymorphism in the adiponectin gene with diabetic complications. *Diabetes Obes Metab*. juill 2005;7(4):455- 459.
277. Zhang D, Ma J, Brismar K, Efendic S, Gu HF. A single nucleotide polymorphism alters the sequence of SP1 binding site in the adiponectin promoter region and is associated with diabetic nephropathy among type 1 diabetic patients in the Genetics of Kidneys in Diabetes Study. *J Diabetes Complications*. août 2009;23(4):265- 272.
278. Ma J, Möllsten A, Falhammar H, Brismar K, Dahlquist G, Efendic S, et al. Genetic association analysis of the adiponectin polymorphisms in type 1 diabetes with and without diabetic nephropathy. *J Diabetes Complications*. févr 2007;21(1):28- 33.
279. Hodgkinson AD, Millward BA, Demaine AG. Polymorphisms of the glucose transporter (GLUT1) gene are associated with diabetic nephropathy. *Kidney Int*. mars 2001;59(3):985- 989.
280. Tarnow L, Grarup N, Hansen T, Parving HH, Pedersen O. Diabetic microvascular complications are not associated with two polymorphisms in the GLUT-1 and PC-1 genes regulating glucose metabolism in Caucasian type 1 diabetic patients. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. août 2001;16(8):1653- 1656.
281. Hodgkinson AD, Page T, Millward BA, Demaine AG. A novel polymorphism in the 5' flanking region of the glucose transporter (GLUT1) gene is strongly associated with diabetic nephropathy in patients with Type 1 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications*. avr 2005;19(2):65- 69.
282. Raffel LJ, Vadheim CM, Roth MP, Klein R, Moss SE, Rotter JJ. The 5' insulin gene polymorphism and the genetics of vascular complications in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*. sept 1991;34(9):680- 683.

283. Rønningen KS, Bangstad HJ, Undlien DE, Thorsby E. Influence of genetic factors (HLA class II genes, insulin-gene region polymorphisms) and metabolic control on the development of diabetic nephropathy. *Diabetes Res Edinb Scotl.* 1993;23(1):31-40.
284. Fanelli A, Hadjadj S, Gallois Y, Fumeron F, Betoule D, Grandchamp B, et al. [Polymorphism of aldose reductase gene and susceptibility to retinopathy and nephropathy in Caucasians with type 1 diabetes]. *Arch Mal Coeur Vaiss.* août 2002;95(7-8):701-708.
285. Patel A, Hibberd ML, Millward BA, Demaine AG. Chromosome 7q35 and susceptibility to diabetic microvascular complications. *J Diabetes Complications.* avr 1996;10(2):62-67.
286. Heesom AE, Hibberd ML, Millward A, Demaine AG. Polymorphism in the 5'-end of the aldose reductase gene is strongly associated with the development of diabetic nephropathy in type I diabetes. *Diabetes.* févr 1997;46(2):287-291.
287. Shah VO, Scavini M, Nikolic J, Sun Y, Vai S, Griffith JK, et al. Z-2 microsatellite allele is linked to increased expression of the aldose reductase gene in diabetic nephropathy. *J Clin Endocrinol Metab.* août 1998;83(8):2886-2891.
288. Dyer PH, Chowdhury TA, Dronsfield MJ, Dunger D, Barnett AH, Bain SC. The 5'-end polymorphism of the aldose reductase gene is not associated with diabetic nephropathy in Caucasian type I diabetic patients. *Diabetologia.* août 1999;42(8):1030-1031.
289. Moczulski DK, Scott L, Antonellis A, Rogus JJ, Rich SS, Warram JH, et al. Aldose reductase gene polymorphisms and susceptibility to diabetic nephropathy in Type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med J Br Diabet Assoc.* févr 2000;17(2):111-118.
290. Ng DP, Conn J, Chung SS, Larkins RG. Aldose reductase (AC)(n) microsatellite polymorphism and diabetic microvascular complications in Caucasian Type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract.* avr 2001;52(1):21-27.
291. Neamat-Allah M, Feeney SA, Savage DA, Maxwell AP, Hanson RL, Knowler WC, et al. Analysis of the association between diabetic nephropathy and polymorphisms in the aldose reductase gene in Type 1 and Type 2 diabetes mellitus. *Diabet Med J Br Diabet Assoc.* nov 2001;18(11):906-914.
292. Yamamoto T, Sato T, Hosoi M, Yoshioka K, Tanaka S, Tahara H, et al. Aldose reductase gene polymorphism is associated with progression of diabetic nephropathy in Japanese patients with type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab.* janv 2003;5(1):51-57.
293. Lajer M, Tarnow L, Fleckner J, Hansen BV, Edwards DG, Parving H-H, et al. Association of aldose reductase gene Z+2 polymorphism with reduced susceptibility to diabetic nephropathy in Caucasian Type 1 diabetic patients. *Diabet Med J Br Diabet Assoc.* août 2004;21(8):867-873.
294. Poirier O, Nicaud V, Vionnet N, Raoux S, Tarnow L, Vlassara H, et al. Polymorphism screening of four genes encoding advanced glycation end-product putative receptors. Association study with nephropathy in type 1 diabetic patients. *Diabetes.* mai 2001;50(5):1214-1218.
295. Rudofsky G Jr, Isermann B, Schilling T, Schiekofer S, Andrassy M, Schneider JG, et al. A 63bp deletion in the promoter of rage correlates with a decreased risk for nephropathy in patients with type 2 diabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes Off J Ger Soc Endocrinol Ger Diabetes Assoc.* mars 2004;112(3):135-141.
296. Prevost G, Fajardy I, Besmond C, Balkau B, Tichet J, Fontaine P, et al. Polymorphisms of the receptor of advanced glycation endproducts (RAGE) and the development of nephropathy in type 1 diabetic patients. *Diabetes Metab.* févr 2005;31(1):35-39.
297. Hoverfelt A, Sallinen R, Söderlund JM, Forsblom C, Pettersson-Fernholm K, Parkkonen M, et al. DDOST, PRKCSH and LGALS3, which encode AGE-receptors 1, 2 and

- 3, respectively, are not associated with diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Diabetologia*. sept 2010;53(9):1903- 1907.
298. Mohammedi K, Maimaitiming S, Emery N, Bellili-Muñoz N, Roussel R, Fumeron F, et al. Allelic variations in superoxide dismutase-1 (SOD1) gene are associated with increased risk of diabetic nephropathy in type 1 diabetic subjects. *Mol Genet Metab*. déc 2011;104(4):654- 660.
299. Al-Kateb H, Boright AP, Mirea L, Xie X, Sutradhar R, Mowjoodi A, et al. Multiple superoxide dismutase 1/splicing factor serine alanine 15 variants are associated with the development and progression of diabetic nephropathy: the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Genetics study. *Diabetes*. janv 2008;57(1):218- 228.
300. Möllsten A, Jorsal A, Lajer M, Vionnet N, Tarnow L. The V16A polymorphism in SOD2 is associated with increased risk of diabetic nephropathy and cardiovascular disease in type 1 diabetes. *Diabetologia*. déc 2009;52(12):2590- 2593.
301. Panduru NM, Cimponeriu D, Cruce M, Ion DA, Moța E, Moța M, et al. Association of +35A/C (intron3/exon3) polymorphism in SOD1-gene with diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Romanian J Morphol Embryol Rev Roum Morphol Embryol*. 2010;51(1):37- 41.
302. Möllsten A, Marklund SL, Wessman M, Svensson M, Forsblom C, Parkkonen M, et al. A functional polymorphism in the manganese superoxide dismutase gene and diabetic nephropathy. *Diabetes*. janv 2007;56(1):265- 269.
303. el-Masry TM, Zahra MAMA, el-Tawil MM, Khalifa RA. Manganese superoxide dismutase alanine to valine polymorphism and risk of neuropathy and nephropathy in Egyptian type 1 diabetic patients. *Rev Diabet Stud RDS*. 2005;2(2):70- 74.
304. Zanchi A, Moczulski DK, Hanna LS, Wantman M, Warram JH, Krolewski AS. Risk of advanced diabetic nephropathy in type 1 diabetes is associated with endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism. *Kidney Int*. févr 2000;57(2):405- 413.
305. Rippin JD, Patel A, Belyaev ND, Gill GV, Barnett AH, Bain SC. Nitric oxide synthase gene polymorphisms and diabetic nephropathy. *Diabetologia*. mars 2003;46(3):426- 428.
306. Möllsten A, Wessman M, Svensson M, Forsblom C, Parkkonen M, Brismar K, et al. Glu298Asp and NOS4ab polymorphisms in diabetic nephropathy. *Ann Med*. 2006;38(7):522- 528.
307. Möllsten A, Lajer M, Jorsal A, Tarnow L. The endothelial nitric oxide synthase gene and risk of diabetic nephropathy and development of cardiovascular disease in type 1 diabetes. *Mol Genet Metab*. mai 2009;97(1):80- 84.
308. McKnight AJ, Patterson CC, Sandholm N, Kilner J, Buckham TA, Parkkonen M, et al. Genetic polymorphisms in nitric oxide synthase 3 gene and implications for kidney disease: a meta-analysis. *Am J Nephrol*. 2010;32(5):476- 481.
309. Johannesen J, Tarnow L, Parving HH, Nerup J, Pociot F. CCTTT-repeat polymorphism in the human NOS2-promoter confers low risk of diabetic nephropathy in type 1 diabetic patients. *Diabetes Care*. avr 2000;23(4):560- 562.
310. Morris BJ, Markus A, Glenn CL, Adams DJ, Colagiuri S, Wang L. Association of a functional inducible nitric oxide synthase promoter variant with complications in type 2 diabetes. *J Mol Med Berl Ger*. févr 2002;80(2):96- 104.
311. Degen B, Schmidt S, Ritz E. A polymorphism in the gene for the endothelial nitric oxide synthase and diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. janv 2001;16(1):185.
312. Vieira SM, Monteiro MB, Marques T, Luna AM, Fortes MA, Nery M, et al. Association of genetic variants in the promoter region of genes encoding p22phox (CYBA) and glutamate cysteine ligase catalytic subunit (GCLC) and renal disease in patients with type 1 diabetes mellitus. *BMC Med Genet*. 2011;12:129.

313. Hubáček JA, Pelikánová T, Lánská V, Komers R. A polymorphism in the cyclooxygenase 2 gene in type 1 diabetic patients with nephropathy. *Physiol Res Acad Sci Bohemoslov.* 2011;60(2):377- 380.
314. Araki S, Makita Y, Canani L, Ng D, Warram JH, Krolewski AS. Polymorphisms of human paraoxonase 1 gene (PON1) and susceptibility to diabetic nephropathy in type I diabetes mellitus. *Diabetologia.* déc 2000;43(12):1540- 1543.
315. Kao Y, Donaghue KC, Chan A, Bennetts BH, Knight J, Silink M. Paraoxonase gene cluster is a genetic marker for early microvascular complications in type 1 diabetes. *Diabet Med J Br Diabet Assoc.* mars 2002;19(3):212- 215.
316. Hofer SE, Bennetts B, Chan AK, Holloway B, Karschimkus C, Jenkins AJ, et al. Association between PON 1 polymorphisms, PON activity and diabetes complications. *J Diabetes Complications.* oct 2006;20(5):322- 328.
317. Chowdhury TA, Dyer PH, Mijovic CH, Dunger DB, Barnett AH, Bain SC. Human leucocyte antigen and insulin gene regions and nephropathy in type I diabetes. *Diabetologia.* août 1999;42(8):1017- 1020.
318. Cordovado SK, Zhao Y, Warram JH, Gong H, Anderson KL, Hendrix MM, et al. Nephropathy in type 1 diabetes is diminished in carriers of HLA-DRB1*04: the genetics of kidneys in diabetes (GoKinD) study. *Diabetes.* févr 2008;57(2):518- 522.
319. Pontiroli AE, Calderara A, Bonisolli L, Maffi P, De Pasqua A, Margonato A, et al. Genetic and metabolic risk factors for the development of late complications in type I (insulin-dependent) diabetes. *Acta Diabetol Lat.* déc 1986;23(4):351- 366.
320. Blakemore AI, Cox A, Gonzalez AM, Maskil JK, Hughes ME, Wilson RM, et al. Interleukin-1 receptor antagonist allele (IL1RN*2) associated with nephropathy in diabetes mellitus. *Hum Genet.* mars 1996;97(3):369- 374.
321. Loughrey BV, Maxwell AP, Fogarty DG, Middleton D, Harron JC, Patterson CC, et al. An interleukin 1B allele, which correlates with a high secretor phenotype, is associated with diabetic nephropathy. *Cytokine.* déc 1998;10(12):984- 988.
322. Tarnow L, Pociot F, Hansen PM, Rossing P, Nielsen FS, Hansen BV, et al. Polymorphisms in the interleukin-1 gene cluster do not contribute to the genetic susceptibility of diabetic nephropathy in Caucasian patients with IDDM. *Diabetes.* juin 1997;46(6):1075- 1076.
323. Myśliwska J, Zorena K, Myśliwiec M, Malinowska E, Raczyńska K, Balcerska A. The -174GG interleukin-6 genotype is protective from retinopathy and nephropathy in juvenile onset type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Res.* sept 2009;66(3):341- 345.
324. Pociot F, Hansen PM, Karlsen AE, Langdahl BL, Johannesen J, Nerup J. TGF-beta1 gene mutations in insulin-dependent diabetes mellitus and diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol JASN.* déc 1998;9(12):2302- 2307.
325. Ng DPK, Warram JH, Krolewski AS. TGF-beta 1 as a genetic susceptibility locus for advanced diabetic nephropathy in type 1 diabetes mellitus: an investigation of multiple known DNA sequence variants. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* janv 2003;41(1):22- 28.
326. Patel A, Scott WR, Lympany PA, Rippin JD, Gill GV, Barnett AH, et al. The TGF-beta 1 gene codon 10 polymorphism contributes to the genetic predisposition to nephropathy in Type 1 diabetes. *Diabet Med J Br Diabet Assoc.* janv 2005;22(1):69- 73.
327. McKnight AJ, Savage DA, Patterson CC, Sadlier D, Maxwell AP. Resequencing of genes for transforming growth factor beta1 (TGFB1) type 1 and 2 receptors (TGFB1, TGFB2), and association analysis of variants with diabetic nephropathy. *BMC Med Genet.* 2007;8:5.
328. Jahromi MM, Millward BA, Demaine AG. Significant correlation between association of polymorphism in codon 10 of transforming growth factor-beta1 T (29) C with type 1

- diabetes and patients with nephropathy disorder. *J Interf Cytokine Res Off J Int Soc Interf Cytokine Res.* févr 2010;30(2):59- 66.
329. Mlynarski WM, Placha GP, Wolkow PP, Bochenski JP, Warram JH, Krolewski AS. Risk of diabetic nephropathy in type 1 diabetes is associated with functional polymorphisms in RANTES receptor gene (CCR5): a sex-specific effect. *Diabetes.* nov 2005;54(11):3331- 3335.
330. Pettigrew KA, McKnight AJ, Patterson CC, Kilner J, Sadlier DM, Maxwell AP. Resequencing of the CCL5 and CCR5 genes and investigation of variants for association with diabetic nephropathy. *J Hum Genet.* avr 2010;55(4):248- 251.
331. Lindholm E, Bakhtadze E, Cilio C, Agardh E, Groop L, Agardh C-D. Association between LTA, TNF and AGER polymorphisms and late diabetic complications. *PloS One.* 2008;3(6):e2546.
332. Yang B, Hodgkinson A, Millward BA, Demaine AG. Polymorphisms of myo-inositol oxygenase gene are associated with Type 1 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications.* déc 2010;24(6):404- 408.
333. Rudofsky G Jr, Reismann P, Witte S, Humpert PM, Isermann B, Chavakis T, et al. Asp299Gly and Thr399Ile genotypes of the TLR4 gene are associated with a reduced prevalence of diabetic neuropathy in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* janv 2004;27(1):179- 183.
334. Ma J, Zhang D, Brismar K, Efendic S, Gu HF. Evaluation of the association between the common E469K polymorphism in the ICAM-1 gene and diabetic nephropathy among type 1 diabetic patients in GoKinD population. *BMC Med Genet.* 2008;9:47.
335. Kure M, Pezzolesi MG, Poznik GD, Katavetin P, Skupien J, Dunn JS, et al. Genetic variation in the matrix metalloproteinase genes and diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Mol Genet Metab.* mai 2011;103(1):60- 65.
336. Alkhalaf A, Bakker SJL, Bilo HJG, Gans ROB, Navis GJ, Postmus D, et al. A polymorphism in the gene encoding carnosinase (CNDP1) as a predictor of mortality and progression from nephropathy to end-stage renal disease in type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia.* déc 2010;53(12):2562- 2568.
337. Janssen B, Hohenadel D, Brinkkoetter P, Peters V, Rind N, Fischer C, et al. Carnosine as a protective factor in diabetic nephropathy: association with a leucine repeat of the carnosinase gene CNDP1. *Diabetes.* août 2005;54(8):2320- 2327.
338. Wanic K, Placha G, Dunn J, Smiles A, Warram JH, Krolewski AS. Exclusion of polymorphisms in carnosinase genes (CNDP1 and CNDP2) as a cause of diabetic nephropathy in type 1 diabetes: results of large case-control and follow-up studies. *Diabetes.* sept 2008;57(9):2547- 2551.
339. Conway BR, Maxwell AP, Savage DA, Patterson CC, Doran PP, Murphy M, et al. Association between variation in the actin-binding gene caldesmon and diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Diabetes.* avr 2004;53(4):1162- 1165.
340. Kaunisto MA, Sjölin L, Sallinen R, Pettersson-Fernholm K, Saraheimo M, Fröjdö S, et al. Elevated MBL concentrations are not an indication of association between the MBL2 gene and type 1 diabetes or diabetic nephropathy. *Diabetes.* juill 2009;58(7):1710- 1714.
341. Panduru NM, Moța E, Moța M, Cimponeriu D, Serafinceanu C, Cheța DM. Polymorphism of catalase gene promoter in Romanian patients with diabetic kidney disease and type 1 diabetes. *Romanian J Intern Med Rev Roum Médecine Interne.* 2010;48(1):81- 88.
342. McKnight AJ, Savage DA, Patterson CC, Brady HR, Maxwell AP. Resequencing of the characterised CTGF gene to identify novel or known variants, and analysis of their association with diabetic nephropathy. *J Hum Genet.* 2006;51(4):383- 386.

343. Wang B, Carter RE, Jaffa MA, Nakerakanti S, Lackland D, Lopes-Virella M, et al. Genetic variant in the promoter of connective tissue growth factor gene confers susceptibility to nephropathy in type 1 diabetes. *J Med Genet.* juin 2010;47(6):391- 397.
344. Dendooven A, Nguyen TQ, Brosens L, Li D, Tarnow L, Parving H-H, et al. The CTGF -945GC polymorphism is not associated with plasma CTGF and does not predict nephropathy or outcome in type 1 diabetes. *J Negat Results Biomed.* 2011;10:4.
345. Klein RL, Hunter SJ, Jenkins AJ, Zheng D, Semler AJ, Clore J, et al. Fibrinogen is a marker for nephropathy and peripheral vascular disease in type 1 diabetes: studies of plasma fibrinogen and fibrinogen gene polymorphism in the DCCT/EDIC cohort. *Diabetes Care.* mai 2003;26(5):1439- 1448.
346. Chen JW, Hansen PM, Tarnow L, Hellgren A, Deckert T, Pociot F. Genetic variation of a collagen IV alpha 1-chain gene polymorphism in Danish insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) patients: lack of association to nephropathy and proliferative retinopathy. *Diabet Med J Br Diabet Assoc.* févr 1997;14(2):143- 147.
347. Ma J, Möllsten A, Prázny M, Falhammar H, Brismar K, Dahlquist G, et al. Genetic influences of the intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) gene polymorphisms in development of Type 1 diabetes and diabetic nephropathy. *Diabet Med J Br Diabet Assoc.* oct 2006;23(10):1093- 1099.
348. Zhang D, Gu T, Forsberg E, Efendic S, Brismar K, Gu HF. Genetic and functional effects of membrane metalloendopeptidase on diabetic nephropathy development. *Am J Nephrol.* 2011;34(5):483- 490.
349. De Cosmo S, Margaglione M, Tassi V, Garrubba M, Thomas S, Olivetti C, et al. ACE, PAI-1, decorin and Werner helicase genes are not associated with the development of renal disease in European patients with type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev.* août 1999;15(4):247- 253.
350. De Cosmo S, Tassi V, Thomas S, Piras GP, Trevisan R, Cavallo Perin P, et al. The Decorin gene 179 allelic variant is associated with a slower progression of renal disease in patients with type 1 diabetes. *Nephron.* sept 2002;92(1):72- 76.
351. McKnight A-J, Maxwell AP, Patterson CC, Brady HR, Savage DA. Association of VEGF-1499C-->T polymorphism with diabetic nephropathy in type 1 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications.* août 2007;21(4):242- 245.
352. Yang B, Cross DF, Ollerenshaw M, Millward BA, Demaine AG. Polymorphisms of the vascular endothelial growth factor and susceptibility to diabetic microvascular complications in patients with type 1 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications.* févr 2003;17(1):1- 6.
353. Roussel R, Trégouët D-A, Hadjadj S, Jeunemaître X, Marre M. Investigation of the human ANP gene in type 1 diabetic nephropathy: case-control and follow-up studies. *Diabetes.* mai 2004;53(5):1394- 1398.
354. Schmidt S, Blüthner M, Giessel R, Strojek K, Bergis KH, Grzeszczak W, et al. A polymorphism in the gene for the atrial natriuretic peptide and diabetic nephropathy. Diabetic Nephropathy Study Group. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* juill 1998;13(7):1807- 1810.
355. Nannipieri M, Manganiello M, Pezzatini A, De Bellis A, Seghieri G, Ferrannini E. Polymorphisms in the hANP (human atrial natriuretic peptide) gene, albuminuria, and hypertension. *Hypertension.* juin 2001;37(6):1416- 1422.
356. Lajer M, Tarnow L, Jorsal A, Parving H-H. Polymorphisms in the B-type natriuretic peptide (BNP) gene are associated with NT-proBNP levels but not with diabetic nephropathy or mortality in type 1 diabetic patients. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* nov 2007;22(11):3235- 3239.

357. Knigge H, Blüthner M, Brüntgens A, Sator H, Ritz E. G(-699)/C polymorphism in the bradykinin-1 receptor gene in patients with renal failure. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* mai 2000;15(5):586- 588.
358. Lacquemant C, Gaucher C, Delorme C, Chatellier G, Gallois Y, Rodier M, et al. Association between high von willebrand factor levels and the Thr789Ala vWF gene polymorphism but not with nephropathy in type I diabetes. The GENEDIAB Study Group and the DESIR Study Group. *Kidney Int.* avr 2000;57(4):1437- 1443.
359. Levy AP, Roguin A, Hochberg I, Herer P, Marsh S, Nakhoul FM, et al. Haptoglobin phenotype and vascular complications in patients with diabetes. *N Engl J Med.* 28 sept 2000;343(13):969- 970.
360. Conway BR, Savage DA, Brady HR, Maxwell AP. Association between haptoglobin gene variants and diabetic nephropathy: haptoglobin polymorphism in nephropathy susceptibility. *Nephron Exp Nephrol.* 2007;105(3):e75- 79.
361. Martin RJL, Savage DA, Patterson CC, Brady HR, Maxwell AP. Common polymorphisms of the PAII gene do not play a major role in the development of diabetic nephropathy in Type 1 diabetes. *Diabet Med J Br Diabet Assoc.* mars 2007;24(3):259- 265.
362. Blüthner M, Brüntgens A, Schmidt S, Strojek K, Grzeszczak W, Ritz E. Association of methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and diabetic nephropathy in type 2 diabetes? *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* janv 1999;14(1):56- 57.
363. Smyth JS, Savage DA, Maxwell AP. MTHFR gene polymorphism and diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Lancet.* 3 avr 1999;353(9159):1156- 1157.
364. Shcherbak NS, Shutskaya ZV, Sheidina AM, Larionova VI, Schwartz EI. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism as a risk factor for diabetic nephropathy in IDDM patients. *Mol Genet Metab.* nov 1999;68(3):375- 378.
365. Lauszus FF, Grøn PL, Klebe JG. Association of polymorphism of methylene-tetrahydro-folate-reductase with urinary albumin excretion rate in type 1 diabetes mellitus but not with preeclampsia, retinopathy, and preterm delivery. *Acta Obstet Gynecol Scand.* sept 2001;80(9):803- 806.
366. Makita Y, Moczulski DK, Bochenski J, Smiles AM, Warram JH, Krolewski AS. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and susceptibility to diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* juin 2003;41(6):1189- 1194.
367. Wiltshire EJ, Mohsin F, Chan A, Donaghue KC. Methylenetetrahydrofolate reductase and methionine synthase reductase gene polymorphisms and protection from microvascular complications in adolescents with type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes.* août 2008;9(4 Pt 2):348- 353.
368. Fogarty DG, Zychma MJ, Scott LJ, Warram JH, Krolewski AS. The C825T polymorphism in the human G-protein beta3 subunit gene is not associated with diabetic nephropathy in Type I diabetes mellitus. *Diabetologia.* nov 1998;41(11):1304- 1308.
369. Beige J, Ringel J, Distler A, Sharma AM. G-protein beta(3)-subunit C825T genotype and nephropathy in diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* sept 2000;15(9):1384- 1387.
370. Shcherbak NS, Schwartz EI. The C825T polymorphism in the G-protein beta3 subunit gene and diabetic complications in IDDM patients. *J Hum Genet.* 2001;46(4):188- 191.
371. De Cosmo S, Argiolas A, Miscio G, Thomas S, Piras GP, Trevisan R, et al. A PC-1 amino acid variant (K121Q) is associated with faster progression of renal disease in patients with type 1 diabetes and albuminuria. *Diabetes.* mars 2000;49(3):521- 524.
372. Jacobsen P, Grarup N, Tarnow L, Parving H-H, Pedersen O. PC-1 amino acid variant (K121Q) has no impact on progression of diabetic nephropathy in type 1 diabetic patients.

- Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc. août 2002;17(8):1408-1412.
373. Canani LH, Ng DPK, Smiles A, Rogus JJ, Warram JH, Krolewski AS. Polymorphism in ecto-nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 1 gene (ENPP1/PC-1) and early development of advanced diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Diabetes*. avr 2002;51(4):1188-1193.
374. Pettersson-Fernholm K, Forsblom C, Perola M, Groop P-H, FinnDiane Study Group. Polymorphisms in the nephrin gene and diabetic nephropathy in type 1 diabetic patients. *Kidney Int*. avr 2003;63(4):1205-1210.
375. González R, Tirado A, Rojas LA, Ossandón FJ, Alvo M, Wolff C, et al. Analysis of the intronic single nucleotide polymorphism rs#466452 of the nephrin gene in patients with diabetic nephropathy. *Biol Res*. 2009;42(2):189-198.
376. Pettersson-Fernholm K, Karvonen MK, Kallio J, Forsblom CM, Koulu M, Pesonen U, et al. Leucine 7 to proline 7 polymorphism in the preproneuropeptide Y is associated with proteinuria, coronary heart disease, and glycemic control in type 1 diabetic patients. *Diabetes Care*. févr 2004;27(2):503-509.
377. Ma J, Nordman S, Möllsten A, Falhammar H, Brismar K, Dahlquist G, et al. Distribution of neuropeptide Y Leu7Pro polymorphism in patients with type 1 diabetes and diabetic nephropathy among Swedish and American populations. *Eur J Endocrinol Eur Fed Endocr Soc*. nov 2007;157(5):641-645.
378. Bahr C, Schön S, Kuhn J, Groop PH, Parkkonen M, Wessman M, et al. Novel sequence variants in the human xylosyltransferase I gene and their role in diabetic nephropathy. *Diabet Med J Br Diabet Assoc*. juin 2006;23(6):681-684.
379. Schön S, Prante C, Bahr C, Tarnow L, Kuhn J, Kleesiek K, et al. The xylosyltransferase I gene polymorphism c.343G>T (p.A125S) is a risk factor for diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Diabetes Care*. oct 2006;29(10):2295-2299.
380. Hendig D, Tarnow L, Kuhn J, Kleesiek K, Götting C. Identification of a xylosyltransferase II gene haplotype marker for diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. déc 2008;398(1-2):90-94.
381. Tarnow L, Urhammer SA, Mottlau B, Hansen BV, Pedersen O, Parving HH. The Trp64Arg amino acid polymorphism of the beta3-adrenergic receptor gene does not contribute to the genetic susceptibility of diabetic microvascular complications in Caucasian type 1 diabetic patients. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. avr 1999;14(4):895-897.
382. Capoluongo E, Pitocco D, Concolino P, Santonocito C, Di Stasio E, d' Onofrio G, et al. Slight association between type 1 diabetes and « ff » VDR FokI genotype in patients from the Italian Lazio Region. Lack of association with diabetes complications. *Clin Biochem*. sept 2006;39(9):888-892.
383. Martin RJL, McKnight AJ, Patterson CC, Sadlier DM, Maxwell AP, Warren 3/UK GoKinD Study Group. A rare haplotype of the vitamin D receptor gene is protective against diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. févr 2010;25(2):497-503.
384. Pettersson-Fernholm KJ, Forsblom CM, Perola M, Fagerudd JA, Groop P-H, FinnDiane Study Group. Dopamine D3 receptor gene polymorphisms, blood pressure and nephropathy in type 1 diabetic patients. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. juin 2004;19(6):1432-1436.
385. Trégouet D-A, Groop P-H, McGinn S, Forsblom C, Hadjadj S, Marre M, et al. G/T substitution in intron 1 of the UNC13B gene is associated with increased risk of nephropathy in patients with type 1 diabetes. *Diabetes*. oct 2008;57(10):2843-2850.

386. Humpert PM, Isermann B, Rudofsky G, Ziegler R, Bierhaus A, Ritz E, et al. The 20210 G to A prothrombin polymorphism and late complications in type 1 diabetes mellitus. *Thromb Haemost.* janv 1999;81(1):164.
387. Conway BR, Martin R, McKnight A-J, Savage DA, Brady HR, Maxwell AP. Role of alpha-adducin DNA polymorphisms in the genetic predisposition to diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* août 2004;19(8):2019- 2024.
388. De Cosmo S, Marucci A, Ciociola E, Di Paola R, Pucci L, Penno G, et al. Lack of evidence for the 1484insG variant at the 3'-UTR of the protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) gene as a genetic determinant of diabetic nephropathy development in type 1 diabetic patients. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* sept 2004;19(9):2419- 2420.
389. Millis MP, Bowen D, Kingsley C, Watanabe RM, Wolford JK. Variants in the plasmacytoma variant translocation gene (PVT1) are associated with end-stage renal disease attributed to type 1 diabetes. *Diabetes.* déc 2007;56(12):3027- 3032.
390. Greene CN, Keong LM, Cordovado SK, Mueller PW. Sequence variants in the PLEKHH2 region are associated with diabetic nephropathy in the GoKinD study population. *Hum Genet.* oct 2008;124(3):255- 262.
391. Currie D, Maxwell AP, Sadlier D, McKnight AJ, Warren 3/UK GoKinD Study Group. Investigation of Adducin 2 (beta) DNA polymorphisms in genetic predisposition to diabetic nephropathy in Type 1 diabetes. *Diabet Med J Br Diabet Assoc.* août 2008;25(8):1001 - 1005.
392. McKnight AJ, Woodman AM, Parkkonen M, Patterson CC, Savage DA, Forsblom C, et al. Investigation of DNA polymorphisms in SMAD genes for genetic predisposition to diabetic nephropathy in patients with type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia.* mai 2009;52(5):844- 849.
393. Pezzolesi MG, Katavetin P, Kure M, Poznik GD, Skupien J, Mychaleckyj JC, et al. Confirmation of genetic associations at ELMO1 in the GoKinD collection supports its role as a susceptibility gene in diabetic nephropathy. *Diabetes.* nov 2009;58(11):2698- 2702.
394. Gu HF, Alvarsson A, Efendic S, Brismar K. SOX2 has gender-specific genetic effects on diabetic nephropathy in samples from patients with type 1 diabetes mellitus in the GoKinD study. *Gend Med.* déc 2009;6(4):555- 564.
395. McKnight AJ, Patterson CC, Pettigrew KA, Savage DA, Kilner J, Murphy M, et al. A GREM1 gene variant associates with diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol JASN.* mai 2010;21(5):773- 781.
396. Sallinen R, Kaunisto MA, Forsblom C, Thomas M, Fagerudd J, Pettersson-Fernholm K, et al. Association of the SLC22A1, SLC22A2, and SLC22A3 genes encoding organic cation transporters with diabetic nephropathy and hypertension. *Ann Med.* 6 mai 2010;42(4):296- 304.
397. Gu HF, Alvarsson A, Brismar K. The Common FTO Genetic Polymorphism rs9939609 is Associated with Increased BMI in Type 1 Diabetes but not with Diabetic Nephropathy. *Biomark Insights.* 2010;5:29- 32.
398. Zhang D, Efendic S, Brismar K, Gu HF. Effects of MCF2L2, ADIPOQ and SOX2 genetic polymorphisms on the development of nephropathy in type 1 Diabetes Mellitus. *BMC Med Genet.* 2010;11:116.
399. Kavanagh D, McKay GJ, Patterson CC, McKnight AJ, Maxwell AP, Savage DA, et al. Association analysis of Notch pathway signalling genes in diabetic nephropathy. *Diabetologia.* févr 2011;54(2):334- 338.
400. Kavanagh DH, Savage DA, Patterson CC, McKnight AJ, Crean JK, Maxwell AP, et al. Association analysis of canonical Wnt signalling genes in diabetic nephropathy. *PloS One.* 2011;6(8):e23904.

401. Syreeni A, El-Osta A, Forsblom C, Sandholm N, Parkkonen M, Tarnow L, et al. Genetic examination of SETD7 and SUV39H1/H2 methyltransferases and the risk of diabetes complications in patients with type 1 diabetes. *Diabetes*. nov 2011;60(11):3073- 3080.
402. Fagerholm E, Ahlqvist E, Forsblom C, Sandholm N, Syreeni A, Parkkonen M, et al. SNP in the genome-wide association study hotspot on chromosome 9p21 confers susceptibility to diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Diabetologia*. sept 2012;55(9):2386- 2393.
403. Gu T, Horová E, Möllsten A, Seman NA, Falhammar H, Prázný M, et al. IGF2BP2 and IGF2 genetic effects in diabetes and diabetic nephropathy. *J Diabetes Complications*. oct 2012;26(5):393- 398.
404. Gu HF, Zheng X, Abu Seman N, Gu T, Botusan IR, Sunkari VG, et al. Impact of the hypoxia-inducible factor-1 α (HIF1A) Pro582Ser polymorphism on diabetes nephropathy. *Diabetes Care*. févr 2013;36(2):415- 421.
405. Groener JB, Reismann P, Fleming T, Kalscheuer H, Lehnhoff D, Hamann A, et al. C332C genotype of glyoxalase 1 and its association with late diabetic complications. *Exp Clin Endocrinol Diabetes Off J Ger Soc Endocrinol Ger Diabetes Assoc*. juill 2013;121(7):436- 439.
406. Kavanagh DH, Savage DA, Patterson CC, McKnight AJ, Crean JK, Maxwell AP, et al. Haplotype association analysis of genes within the WNT signalling pathways in diabetic nephropathy. *BMC Nephrol*. 2013;14:126.
407. Tahara T, Shibata T, Wang F, Nakamura M, Okubo M, Yoshioka D, et al. Association of polymorphism of the p22PHOX component of NADPH oxidase in gastroduodenal diseases in Japan. *Scand J Gastroenterol*. 2009;44(3):296- 300.
408. Tahara T, Arisawa T, Shibata T, Nakamura M, Wang F, Yoshioka D, et al. Genetic variant of the p22PHOX component of NADPH oxidase C242T and the incidence of gastric cancer in Japan. *Hepatogastroenterology*. déc 2008;55(88):2273- 2276.
409. Allanore Y, Borderie D, Lemaréchal H, Ekindjian OG, Kahan A. Lack of association of eNOS (G894T) and p22phox NADPH oxidase subunit (C242T) polymorphisms with systemic sclerosis in a cohort of French Caucasian patients. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. déc 2004;350(1-2):51- 55.
410. Nibali L, Parkar M, Brett P, Knight J, Tonetti MS, Griffiths GS. NADPH oxidase (CYBA) and FcgammaR polymorphisms as risk factors for aggressive periodontitis: a case-control association study. *J Clin Periodontol*. août 2006;33(8):529- 539.
411. Tahara T, Arisawa T, Fujita H, Kamiya Y, Nagasaka M, Iwata M, et al. No association between a genetic variant of the p22PHOX component of NADPH oxidase C242T and ulcerative colitis. *Hepatogastroenterology*. oct 2008;55(86-87):1573- 1577.
412. Tahara T, Shibata T, Wang F, Nakamura M, Sakata M, Nakano H, et al. A genetic variant of the p22PHOX component of NADPH oxidase C242T is associated with reduced risk of functional dyspepsia in Helicobacter pylori-infected Japanese individuals. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. déc 2009;21(12):1363- 1368.
413. Nasti S, Spallarossa P, Altieri P, Garibaldi S, Fabbi P, Polito L, et al. C242T polymorphism in CYBA gene (p22phox) and risk of coronary artery disease in a population of Caucasian Italians. *Dis Markers*. 2006;22(3):167- 173.
414. Fan M, Kähönen M, Rontu R, Lehtinen R, Viik J, Niemi M, et al. The p22phox C242T gene polymorphism is associated with a reduced risk of angiographically verified coronary artery disease in a high-risk Finnish Caucasian population. *The Finnish Cardiovascular Study*. *Am Heart J*. sept 2006;152(3):538- 542.
415. Cahilly C, Ballantyne CM, Lim DS, Gotto A, Marian AJ. A variant of p22(phox), involved in generation of reactive oxygen species in the vessel wall, is associated with progression of coronary atherosclerosis. *Circ Res*. 3 mars 2000;86(4):391- 395.

416. Inoue N, Kawashima S, Kanazawa K, Yamada S, Akita H, Yokoyama M. Polymorphism of the NADH/NADPH oxidase p22 phox gene in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 20 janv 1998;97(2):135- 137.
417. Narne P, Ponnaluri KC, Singh S, Siraj M, Ishaq M. Relationship between NADPH oxidase p22phox C242T, PARP-1 Val762Ala polymorphisms, angiographically verified coronary artery disease and myocardial infarction in South Indian patients with type 2 diabetes mellitus. *Thromb Res*. nov 2012;130(5):e259- 265.
418. Macías-Reyes A, Rodríguez-Esparragón F, Caballero-Hidalgo A, Hernández-Trujillo Y, Medina A, Rodríguez-Pérez JC. Insight into the role of CYBA A640G and C242T gene variants and coronary heart disease risk. A case-control study. *Free Radic Res*. janv 2008;42(1):82- 92.
419. Najafi M, Alipoor B, Shabani M, Amirfarhangi A, Ghasemi H. Association between rs4673 (C/T) and rs13306294 (A/G) haplotypes of NAD(P)H oxidase p22phox gene and severity of stenosis in coronary arteries. *Gene*. 10 mai 2012;499(1):213- 217.
420. Katakami N, Kaneto H, Matsuoka T, Takahara M, Imamura K, Ishibashi F, et al. Accumulation of gene polymorphisms related to oxidative stress is associated with myocardial infarction in Japanese type 2 diabetic patients. *Atherosclerosis*. oct 2010;212(2):534- 538.
421. Arca M, Conti B, Montali A, Pignatelli P, Campagna F, Barillà F, et al. C242T polymorphism of NADPH oxidase p22phox and recurrence of cardiovascular events in coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. avr 2008;28(4):752- 757.
422. Weiss J, Haefeli WE, Gasse C, Hoffmann MM, Weyman J, Gibbs S, et al. Lack of evidence for association of high altitude pulmonary edema and polymorphisms of the NO pathway. *High Alt Med Biol*. 2003;4(3):355- 366.
423. Castejon AM, Bracero J, Hoffmann IS, Alfieri AB, Cubeddu LX. NAD(P)H oxidase p22phox gene C242T polymorphism, nitric oxide production, salt sensitivity and cardiovascular risk factors in Hispanics. *J Hum Hypertens*. oct 2006;20(10):772- 779.
424. Moreno MU, San José G, Fortuño A, Beloqui O, Díez J, Zalba G. The C242T CYBA polymorphism of NADPH oxidase is associated with essential hypertension. *J Hypertens*. juill 2006;24(7):1299- 1306.
425. Corsetti JP, Ryan D, Moss AJ, Zareba W, Sparks CE. NAD(P)H oxidase polymorphism (C242T) and high HDL cholesterol associate with recurrent coronary events in postinfarction patients. *Atherosclerosis*. janv 2008;196(1):461- 468.
426. Farrag W, Eid M. Association of the C242T polymorphism of the p22 phox gene with advanced carotid atherosclerosis in type 2 diabetes. *Mol Med Reports*. oct 2008;1(5):679- 684.
427. Katakami N, Sakamoto K, Kaneto H, Matsuhisa M, Shimizu I, Ishibashi F, et al. Combined effect of oxidative stress-related gene polymorphisms on atherosclerosis. *Biochem Biophys Res Commun*. 20 févr 2009;379(4):861- 865.
428. Fan M, Raitakari OT, Kähönen M, Juonala M, Hutri-Kähönen N, Marniemi J, et al. CYBA C242T gene polymorphism and flow-mediated vasodilation in a population of young adults: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *J Hypertens*. juill 2007;25(7):1381- 1387.
429. Guerra A, Rego C, Coelho C, Guimarães N, Thiran C, Aguiar A, et al. Polymorphism C242T of the gene of the p22phox subunit for nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase, and erythrocytic antioxidant enzymes, in patients with tetralogy of Fallot. *Cardiol Young*. juin 2007;17(3):295- 300.
430. Fearheller DL, Brown MD, Park J-Y, Brinkley TE, Basu S, Hagberg JM, et al. Exercise training, NADPH oxidase p22phox gene polymorphisms, and hypertension. *Med Sci Sports Exerc*. juill 2009;41(7):1421- 1428.

431. Izzicupo P, Di Valerio V, D' Amico MA, Di Mauro M, Pennelli A, Falone S, et al. NAD(P)H oxidase and pro-inflammatory response during maximal exercise: role of C242T polymorphism of the P22PHOX subunit. *Int J Immunopathol Pharmacol.* mars 2010;23(1):203- 211.
432. Raijmakers MTM, Roes EM, Steegers EAP, Peters WHM. The C242T-polymorphism of the NADPH/NADH oxidase gene p22phox subunit is not associated with pre-eclampsia. *J Hum Hypertens.* juin 2002;16(6):423- 425.
433. Mosyagin I, Dettling M, Roots I, Mueller-Oerlinghausen B, Cascorbi I. Impact of myeloperoxidase and NADPH-oxidase polymorphisms in drug-induced agranulocytosis. *J Clin Psychopharmacol.* déc 2004;24(6):613- 617.
434. Shin M-J, Cho EY, Jang Y, Lee JH, Shim W-H, Cho S-Y, et al. A beneficial effect of simvastatin on DNA damage in 242T allele of the NADPH oxidase p22phox in hypercholesterolemic patients. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem.* oct 2005;360(1-2):46- 51.
435. Kanková K, Stejskalová A, Pácal L, Tschoplová S, Hertlová M, Krusová D, et al. Genetic risk factors for diabetic nephropathy on chromosomes 6p and 7q identified by the set-association approach. *Diabetologia.* mai 2007;50(5):990- 999.
436. Bansal S, Chawla D, Banerjee BD, Madhu SV, Tripathi AK. Association of RAGE gene polymorphism with circulating AGEs level and paraoxonase activity in relation to macro-vascular complications in Indian type 2 diabetes mellitus patients. *Gene.* 27 mai 2013;
437. Picheth G, Heidemann M, Pedrosa FO, Chautard-Freire-Maia EA, Costantini CO, da Rocha Martinez TL, et al. The -429 T>C polymorphism of the receptor for advanced glycation end products (RAGE) is associated with type 1 diabetes in a Brazilian population. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem.* août 2007;383(1-2):163- 164.
438. Santos ICR, Daga DR, Frigeri HR, Réa RR, Almeida ACR, Souza EM, et al. The functional polymorphisms -429T>C and -374T>A of the RAGE gene promoter are not associated with gestational diabetes in Euro-Brazilians. *Genet Mol Res GMR.* 2010;9(2):1130- 1135.
439. Poon PY-K, Szeto C-C, Chow K-M, Kwan BC-H, Li PK-T, D. Relation between polymorphisms of receptor for advanced glycation end products (RAGE) and cardiovascular diseases in Chinese patients with diabetic nephropathy. *Clin Nephrol.* janv 2010;73(1):44- 50.
440. Wang X, Cui E, Zeng H, Hua F, Wang B, Mao W, et al. RAGE genetic polymorphisms are associated with risk, chemotherapy response and prognosis in patients with advanced NSCLC. *PloS One.* 2012;7(10):e43734.
441. Hashemi M, Moazeni-Roodi A, Arbabi F, Fazaeli A, Nasab EE, Taheri M, et al. Genotyping of -374A/T, -429A/G, and 63 bp Ins/del polymorphisms of RAGE by rapid one-step hexaprimer amplification refractory mutation system polymerase chain reaction in breast cancer patients. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* mai 2012;31(5):401- 410.
442. Pan H, Niu W, He L, Wang B, Cao J, Zhao F, et al. Contributory Role of Five Common Polymorphisms of RAGE and APE1 Genes in Lung Cancer among Han Chinese. *PloS One.* 2013;8(7):e69018.
443. Zhang S, Hou X, Zi S, Wang Y, Chen L, Kong B. Polymorphisms of receptor for advanced glycation end products and risk of epithelial ovarian cancer in Chinese patients. *Cell Physiol Biochem Int J Exp Cell Physiol Biochem Pharmacol.* 2013;31(4-5):525- 531.
444. Xu Q, Xue F, Yuan B, Zhang L, Li J, He Z. The interaction between RAGE gene polymorphisms and HPV infection in determining the susceptibility of cervical cancer in a Chinese population. *Cancer Biomarkers Sect Dis Markers.* 2012;11(4):147- 153.
445. Han Z, Liu Q, Sun C, Li Y. The interaction between obesity and RAGE polymorphisms on the risk of knee osteoarthritis in Chinese population. *Cell Physiol Biochem Int J Exp Cell Physiol Biochem Pharmacol.* 2012;30(4):898- 904.

446. Martens HA, Nienhuis HLA, Gross S, van der Steege G, Brouwer E, Berden JHM, et al. Receptor for advanced glycation end products (RAGE) polymorphisms are associated with systemic lupus erythematosus and disease severity in lupus nephritis. *Lupus*. août 2012;21(9):959- 968.
447. Beucher J, Boëlle P-Y, Busson P-F, Muselet-Charlier C, Clement A, Corvol H, et al. AGER -429T/C is associated with an increased lung disease severity in cystic fibrosis. *PLoS One*. 2012;7(7):e41913.
448. Tizslavicz Z, Gyulai Z, Bencsik K, Szolnoki Z, Kocsis AK, Somogyvári F, et al. RAGE gene polymorphisms in patients with multiple sclerosis. *J Mol Neurosci MN*. nov 2009;39(3):360- 365.
449. Kucukhuseyin O, Aydogan HY, Isbir CS, Isbir T. Associations of -374T/A polymorphism of receptor for advanced glycation end products (RAGE) gene in Turkish diabetic and non-diabetic patients with coronary artery disease. *Vivo Athens Greece*. déc 2009;23(6):949- 954.
450. Falcone C, Campo I, Emanuele E, Buzzi MP, Geroldi D, Belvito C, et al. -374T/A polymorphism of the RAGE gene promoter in relation to severity of coronary atherosclerosis. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. avr 2005;354(1-2):111- 116.
451. Falcone C, Campo I, Emanuele E, Buzzi MP, Zorzetto M, Sbarsi I, et al. Relationship between the -374T/A RAGE gene polymorphism and angiographic coronary artery disease. *Int J Mol Med*. déc 2004;14(6):1061- 1064.
452. Gao J, Shao Y, Lai W, Ren H, Xu D. Association of polymorphisms in the RAGE gene with serum CRP levels and coronary artery disease in the Chinese Han population. *J Hum Genet*. oct 2010;55(10):668- 675.
453. Picheth G, Costantini CO, Pedrosa FO, Leme da Rocha Martinez T, Maltempi de Souza E. The -374A allele of the receptor for advanced glycation end products (RAGE) gene promoter is a protective factor against cardiovascular lesions in type 2 diabetes mellitus patients. *Clin Chem Lab Med CCLM FESCC*. 2007;45(10):1268- 1272.
454. Aydoğan HY, Küçüküseyin O, Tekeli A, Isbir T. Associations of receptor for advanced glycation end products -374 T/A and Gly82 Ser and peroxisome proliferator-activated receptor gamma Pro12Ala polymorphisms in Turkish coronary artery disease patients. *Genet Test Mol Biomarkers*. févr 2012;16(2):134- 137.
455. Falcone C, Bozzini S, Matrone B, Colonna A, Falcone R, Calcagnino M, et al. RAGE gene polymorphism in heart failure patients with and without angiographic evidence of significant coronary atherosclerosis. *Int J Immunopathol Pharmacol*. mars 2013;26(1):199- 206.
456. Falcone C, Geroldi D, Buzzi MP, Emanuele E, Yilmaz Y, Fontana JM, et al. The -374T/A RAGE polymorphism protects against future cardiac events in nondiabetic patients with coronary artery disease. *Arch Med Res*. avr 2008;39(3):320- 325.
457. Falcone C, Emanuele E, Buzzi MP, Ballerini L, Repetto A, Canosi U, et al. The -374T/A variant of the rage gene promoter is associated with clinical restenosis after coronary stent placement. *Int J Immunopathol Pharmacol*. déc 2007;20(4):771- 777.
458. Cohen CR, Diel VBN, La Porta VL, Rohde LE, Biolo A, Clausell N, et al. Association study of polymorphisms in the receptor for advanced glycation end-products (RAGE) gene with susceptibility and prognosis of heart failure. *Gene*. 15 nov 2012;510(1):7- 13.
459. Boiocchi C, Bozzini S, Buzzi MP, Schirinzi S, Zorzetto M, Pelissero G, et al. Age of onset of myocardial infarction: is promoter polymorphism of the RAGE gene implicated? *Rejuvenation Res*. févr 2011;14(1):67- 73.
460. Baragetti I, Norata GD, Sarcina C, Baragetti A, Rastelli F, Buzzi L, et al. -374 T/A RAGE polymorphism is associated with chronic kidney disease progression in subjects affected by nephrocardiovascular disease. *PLoS One*. 2013;8(4):e60089.

461. Maruyama Y, Numata M, Nakayama M, Matsuo N, Nordfors L, Hosoya T, et al. Relationship between the -374T/A receptor of advanced glycation end products gene polymorphism and peritoneal solute transport status at the initiation of peritoneal dialysis. *Ther Apher Dial Off Peer-Rev J Int Soc Apher Jpn Soc Apher Jpn Soc Dial Ther.* août 2007;11(4):301- 305.
462. Prasad P, Tiwari AK, Kumar KMP, Ammini AC, Gupta A, Gupta R, et al. Association analysis of ADPRT1, AKR1B1, RAGE, GFPT2 and PAI-1 gene polymorphisms with chronic renal insufficiency among Asian Indians with type-2 diabetes. *BMC Med Genet.* 2010;11:52.
463. Kalousová M, Brabcová I, Germanová A, Jáchymová M, Matl I, Mestek O, et al. RAGE polymorphisms, renal function and histological finding at 12 months after renal transplantation. *Clin Biochem.* mars 2009;42(4-5):347- 352.
464. Carlo-Stella N, Bozzini S, De Silvestri A, Sbarsi I, Pizzochero C, Lorusso L, et al. Molecular study of receptor for advanced glycation endproduct gene promoter and identification of specific HLA haplotypes possibly involved in chronic fatigue syndrome. *Int J Immunopathol Pharmacol.* sept 2009;22(3):745- 754.
465. Germanová A, Muravská A, Jáchymová M, Hájek Z, Koucký M, Mestek O, et al. Receptor for advanced glycation end products (RAGE) and glyoxalase I gene polymorphisms in pathological pregnancy. *Clin Biochem.* nov 2012;45(16-17):1409- 1414.
466. Zeng L, Zhang A-Q, Gu W, Zhou J, Zhang L-Y, Du D-Y, et al. Identification of haplotype tag single nucleotide polymorphisms within the receptor for advanced glycation end products gene and their clinical relevance in patients with major trauma. *Crit Care Lond Engl.* 24 juill 2012;16(4):R131.
467. Kim T, Kim H-J, Park JK, Kim JW, Chung J-H. Association between polymorphisms of arachidonate 12-lipoxygenase (ALOX12) and schizophrenia in a Korean population. *Behav Brain Funct BBF.* 2010;6:44.
468. Taylor RM, Burritt JB, Baniulis D, Foubert TR, Lord CI, Dinauer MC, et al. Site-specific inhibitors of NADPH oxidase activity and structural probes of flavocytochrome b: characterization of six monoclonal antibodies to the p22phox subunit. *J Immunol Baltim Md* 1950. 15 déc 2004;173(12):7349- 7357.

16. Article en anglais pour soumission

Title: RAGE and NOX polymorphisms are major predictors of microalbuminuria and end-stage renal disease in a cohort of type 1 diabetic patients over 20 years of follow up

Authors

Benoit Franko^{1,2}, Joris Gai³, Thomas Jouve¹, Pierre-yves Benhamou⁴, Marie José Stasia^{2,5,*} and Philippe Zaoui^{1,*}

* contributed equally to the work

1. Nephrology Clinic, Grenoble University Hospital, Grenoble, France, F-38043, France

2. Chronic Granulomatous Disease Diagnosis and Research Centre, Theres-TIMC/Imag, UMR CNRS 5525, UJF-Grenoble 1, Université Grenoble Alpes, F-38041, France

3. UJF-Grenoble 1/CNRS/Clinical Research Centre-Inserm CIC03/TIMC-IMAG UMR 5525/Themas, Grenoble University Hospital, Grenoble, France

4. Department of Endocrinology, Grenoble University Hospital, Grenoble 38043, France.

5. Centre CGD, DBTP/Pôle Biologie, CHU de Grenoble, Grenoble, F-38043, France

Abstract

Background: Oxidative stress is a key component of type 1 diabetic nephropathy. Therefore, we investigated the association between polymorphisms of three genes implicated in this pathway: C242T of *CYBA* (p22*phox*), -374T/A and -429T/C of *RAGE*, as Arg261Gln of *ALOX 12*, in the delay of microalbuminuria onset in type 1 diabetic patients.

Methods: 162 diabetic type 1 patients with 32.9 +/- 9 years of diabetes duration were included at the Grenoble University Hospital. 53 presented a history of persistent microalbuminuria (> 30 mg/l) and 109 did not. Delay between microalbuminuria and diabetes diagnosis, as end stage renal disease (ESRD) onset and bio-clinical data, were recorded. Polymorphism status was determined and its association to microalbuminuria was assessed with a Cox regression model.

Results: All polymorphisms respect the Hardy Weinberg equilibrium. At univariate level, C242T dominant model (13.6% TT, 45.7% TC, 41.7% CC) and -374T/A (5.6% AA, 35.2% TA, 59% TT) were significantly correlated with microalbuminuria (p=0.038, 0.0021 respectively). The Cox regression model validated four significant variables: *RAGE* 374AA (HR 4.19 [1.84-9.58] (p=0.001)), p22*phox* TT+TC (HR 2.1 [1.16-3.8], p= 0.015), associated with male sex (HR 1.92 [1.07-3.43], p=0.028) and diabetes diagnosis at pediatric age (HR 1.85 [1.03-3.32], p=0.039). The same association was found with ESRD (p= 0.028 for p22*phox* TC+TT, and p=0.033 for *RAGE* 374AA). The C242T polymorphism was independent of retinopathy onset (66.7% of CC patients versus 63.6% of CT+TT p=0.6 for superiority and p=0.043 for non inferiority). Finally we suspected an increasing risk with polymorphism associations but it did not reach significant level.

Conclusions: *p22phox* C242T, and RAGE-374T/A correlate with microalbuminuria onset in a type 1 diabetic French population. The same correlation with ESRD onset provides argument for the involvement of a genetic predisposition involving renal oxidative stress for diabetic nephropathy independently of retinopathy for C242T.

Introduction

Diabetic nephropathy is a leading cause of end stage renal disease (ESRD) (1) in industrial countries as a consequence of gene-environment interactions. Type 1 diabetic nephropathy is considered as a microangiopathy leading to extracellular matrix deposition and nephron loss. The renal physiopathology involves multiple interconnected pathways including polyols, hexoamines, oxidative stress, PKC activation, advanced glycation end products (AGE) or inflammation (2). RAGE and NADPH oxidase pathways seem to be interconnected in diabetic nephropathies (3). NADPH oxidase (NOX) together with mitochondria (4) are responsible for the production of oxidative stress in kidney cells. The NOX family members as NOX1,2, 3, 4 and 5 are expressed in several tissues and cells to produce reactive oxygen species (ROS) involved in pathogens killing, carcinogenesis, control of the redox balance and oxygen sensing (5). Both NOX2 in endothelial cells and NOX4 or Renox in glomerular and tubular cells (6) are involved in models of diabetic nephropathies. NOX2 and NOX4 require the attachment of the p22phox subunit of the NADPH oxidase complex to be functional. P22phox encoding by the *CYBA* gene is ubiquitous. The T allele of the p22phox C242T polymorphism was associated with microalbuminuria prevalence in type 1 diabetics in an English population (7), but the same allele seemed to be protective in vascular disease (8). Thus, its implication in the nephropathy remains unclear. AGE effects are mainly due to the activation of the receptor for advanced glycation end products (RAGE). In different diabetic models, RAGE induced oxidative stress (9), and its blockade decreased cell damage (10). Moreover RAGE effect seems to be more important than glucose level in tubular injuries (personal data). The – 374 T/A and – 429 T/C polymorphisms of RAGE are functional leading to increased RAGE expression (11). Data on the effects of these polymorphisms are conflicting in both diabetic nephropathies and vascular diseases. Finally the lipoxygenase 12 enzyme (ALOX 12) is also involved in inflammation in diabetic models. The Arg261Gln polymorphism of ALOX12 is functional and the AA genotype was mainly involved as a protective factor in cancer (12), but also associated with increased albuminuria in type 2 diabetic patients (13). However genetics of ALOX 12 was not yet studied in type 1 diabetic nephropathy onset. Susceptibility to renal failure concerns one third of patients and is unpredictable despite good metabolic/pressure control (14). Thus loss of renal function appears to be only partly modified by treatment. Family and pair-based studies in diabetic nephropathy demonstrated that genetic factors explain a 2 to 6 fold increased risk of diabetic nephropathy (15) (16). In type 1 diabetic patients, onset of nephropathy appears at a younger age, before hypertension and vascular complications, as a model of renal microangiopathy which may facilitates studies to investigate its risk factors compared to type 2 diabetic patients. Furthermore, the dated onset of diabetes in type 1 patients allows constructing survival models of diabetic nephropathy occurrence.

We performed a candidate gene approach of C242T p22phox, 374 T/A and 429 T/C RAGE, and Arg261Gln of ALOX12 on the delay to microalbuminuria onset and ESRD in a long-term monocentric French type 1 diabetic population.

Patients and methods

Study population

All type 1 diabetic Caucasian patients with at least 20 years of diabetes duration who routinely consulted at the Diabetology Unit of Grenoble University Hospital between January 2005 and December 2006 (n=96), and between April 2011 and April 2013 (n=66) were included after informed consent. Renal phenotype was assessed according to the biological history as onset of persistent microalbuminuria (> 30 mg/L or 20 mg/g) in 53 patients (DN+) and repeated absence of occurrence in 109 patients (DN-). Dates of renal replacement therapy initiation (peritoneal dialysis, hemodialysis, or pre-emptive kidney transplantation) were recorded. Albumin urinary excretion rate and GFR estimated by MDRD formula as well as physical examination and concomitant medications were obtained at the inclusion.

Relevant clinical data were recorded as follows: sex, age, smoking if not stopped 3 years before nephropathy onset in DN+ or at the inclusion for ND- group, diabetes duration, treatment modalities, body mass index, HBA1c, arterial systolic and diastolic blood pressure. Macro and microvascular diabetic lesions were recorded as follows : coronaropathy if identified by coronarography, or in case of myocardial infarction history; heart failure (LVEF < 40%); auricular fibrillation based on electrocardiogram ; neurologic ischemia in case of ischemic stroke history, and peripheral ischemia in case of revascularization or ischemic foot lesion history, retinopathy in the presence of at least aneurysms at ophthalmologic examination, peripheral neuropathy according to monofilament sensitivity, and vegetative neuropathy in case of decreased gastric emptying.

Genetic analysis

Genomic DNA was extracted from patient blood samples during the inclusion consultation by Wizard Genomic purification kit (Promega®). Amplification by PCR of the three genes were conducted with the following primers : forward *AACACTGAGGTAAGTGGGGTGGGTCCTGT* and reverse *GCTTGTGGGTAAACCAAGGCCGGTG* for *CYBA*, forward *GGGGCAGTTCTCTCCTC* and reverse *TCAGAGCCCCGATCCTATTT* for *RAGE*, forward *CTGGCAGGATGATGAGTTGTT* and reverse *AGTACTAGCAGCCTTCCTCTG* for *ALOX12*. C242T polymorphism was identified by overnight enzymatic digestion by RSA1 (Roche®) at 37°C, 429 T/C polymorphism was identified by overnight enzymatic digestion by ALU 1 (Roche®) at 37°C and 347 T/A polymorphism by enzymatic digestion by TSP 5091 (New England Biolabs®) digestion during 2h at 65°C. *ALOX12* amplified fragment was sequenced by Eurofin® (Ebersberg, Germany).

Statistical analysis

Chi-square tests were used for categorical variables comparison, and data presented as numbers (percentage). T-test and ANOVA were used for continuous variables with a normal distribution and presented as mean +/- standard deviation. Finally, Wilcoxon tests were used in case of non-normal distribution, with data expressed as median [1st – 3rd quartile]. All variables showing a p value <0.2 for Log Rank regression analysis, were used in a step by step approach to build a Cox proportional

hazards regression model for the prediction of persistent microalbuminuria and of ESRD. Test of proportional-hazards assumption was performed for all variables with a p value <0.1 considered to be significant to conclude to non-linearity. All calculations were performed using STATA 12.0 software. Our study was designed and the number of subjects to be included was calculated to assess differences in C242T polymorphism assuming 10% of prevalence in DN- versus 25% in DN+ homozygous TT C242T genotype with 85% of power and 5% of alpha risk according to published data (7). The study was approved by the ethical committee (CPP Sud Est V), and recorded in the database [clinical.trial.gov](https://clinicaltrials.gov) with the accession number NCT01371955.

Results

Clinical characteristics of 162 Caucasians diabetic type 1 were summarized in Table A. Patients did not differ for age or diabetes duration. Other clinical data were analyzed by linear regression. DN+ patients suffered from a significant higher frequency of all micro vascular diabetic lesions, but not from macro vascular lesions (table B). Genetic distribution of polymorphisms in the population is summarized in Table C. All polymorphisms respect the Hardy-Weinberg equilibrium of distribution ($p>0.2$). Only the CC prevalence of the - 479 T/C *RAGE* genotype, did not reach 5% of the cohort tested. Log Rank analysis of microalbuminuria onset after diabetes diagnosis showed several weak associations with variables of p value <0.2 used in Cox models. Genetic variables of interest included: C242T *CYBA* polymorphism dominant model ($p=0.038$), - 374 T/A *RAGE* recessive model ($p=0.0021$), - 429 T/C *RAGE* dominant model ($p=0.16$), and Arg261Gln *LOX12* recessive model ($p=0.19$) (Figure A). For diabetic dependent variables: HBA1c (continuous or clustered $>$ or $<7.5\%$), years of diabetes diagnosis (or clustering by onset of diabetes before 1980) were not significant, whereas treatment modality multiple injections vs pump ($p=0.09$), diabetes diagnosis before adulthood (15 years and 3 months) ($p=0.09$) were retained as significantly associated to microalbuminuria onset. Male gender ($p=0.07$) and BMI ($p=0.12$) also correlate with microalbuminuria onset as for systolic ($p=0.12$) or diastolic ($p=0.11$) blood pressure. Finally, smoking was not associated with microalbuminuria onset. Generation of Cox models validated only four variables in the multivariate analysis for predicted onset on microalbuminuria. The most important factor was the - 374 T/A *RAGE* polymorphism in a recessive model with a hazard ratio 4.19 [1.84-9.58] ($p=0.001$) for AA versus AT+TA, then the C242T *CYBA* dominant model (HR 2.1 [1.16-3.8], $p=0.015$, for TT+TC versus CC; male sex (HR 1.92 [1.07-3.43], $p=0.028$) and diabetes diagnosis at pediatric age (before 15 years and 3 months; HR 1.85 [1.03-3.32], $p=0.039$). Albeit not significant at unvaried level, years of diabetes diagnosis did not modify the model. We did not found a significant interaction between sex and polymorphisms. We observed a trend for interaction between C242T *CYBA* and - 374 T/A *RAGE* polymorphisms with increasing hazard ratio by combination. But the interaction model did not reach significant level for all combinations (versus CC/TA+TT as reference, we found HR = 1.96 [1.04-3.68] for TT+CC/AA, $p=0.037$; 3.36 [0.93-11.46] for CC/AA, $p=0.065$; 10.38 [3.13-34.4] for TT+TC/AA, $p<0.0001$).

We did not found an effect of C242T *CYBA* polymorphism among patients with diabetic retinopathy, 66.7% of CC patients, and 63.6% of CT+CC patients had retinopathy, with a non-significant superiority ($p=0.6$) and a significant non inferiority test ($p=0.043$ with 10% difference considered as clinically significant). The -374T/A *RAGE* polymorphism did not show significant superiority but failed to show non inferiority due to the low number of AA patients. Thus we cannot conclude about the association for the -374T/A *RAGE* polymorphism in diabetic retinopathy.

In a same manner we estimated the delay to ESRD ($n=21$) onset from diabetes diagnosis. Again, C242T *CYBA* dominant model HR 3.1 [1.13-8.53] ($p=0.028$), and -374T/A *RAGE* recessive model HR 3.3 [1.09-10.04] ($p=0.035$) showed the strongest correlation with ESRD onset with pediatric age and treatment modality (multiple injections vs insulin pump) as co-variables ($p=0.058$ and 0.033 respectively) (Figure B).

Discussion

The study of this phenotyped type 1 diabetes cohort allowed us to consider 4 genotypes (C242T of *CYBA*, -374T/A, and -429T/C of *RAGE*, Arg261Gln of *ALOX12*), potentially associated with the oxidative stress machinery and to analyze their distribution in patients with higher albumin excretion rates and ESRD. Our results confirm the association of the C242T polymorphism with diabetic type 1 microalbuminuria as described by Hodgkinson (7). The use of survival models and the parallel distribution between microalbuminuria and ESRD provide arguments for causality of higher albumin excretion rates and loss of renal function which is not always the case in diabetic nephropathies. The functionality of the T allele of C242T *CYBA* was investigated with NOX2 and led to reduction of oxidative stress (17). This effect was interpreted as a protective polymorphism, sustained by some coronaropathy studies (8). But as we showed an absence of association between C242T *CYBA* and retinopathy, the impact of this polymorphism in type 1 diabetes, may concern more kidney cells than endothelial cells. Then the NOX involved is NOX4 that is mainly expressed in kidney whereas NOX2 is highly expressed in endothelial and vascular cells. As we know NOX4 and NOX2 must be associated with p22phox to be active but the type of binding could be different between these two NOXs. In other words, the p22phox polymorphism could alter the binding with NOX4 and NOX2 differently. The C242T mutation leads to the change of His72Arg in p22phox. This residue is located in a potential binding region of p22phox with NOX (18). On the other hand, decreased activity of NADPH oxidase may lead to NADPH/NADH ratio increase, NADPH being an essential substrate for the aldose reductase and polyols pathways. Thus, under diabetic conditions, the NADPH increase could induce aldose reductase activity leading to increase mitochondrial oxidative stress. Whereas in non-diabetics this p22phox polymorphism may decrease oxidative stress. This hypothesis will need to investigate the C242T *CYBA* polymorphism functionality with NOX4 in renal cells and evaluate a potential protective effect for vascular nephropathy among non-diabetic patients. Moreover investigation of interaction between the Z+2/Z-2 polymorphisms of aldose reductase (19) and the C242T *CYBA* polymorphism will need to be tested.

RAGE activation seems to be dependent upon its polymorphism and, our results confirm the association of -374T/A, but not -429T/C with type 1 diabetic microalbuminuria and ESRD. Functionality of -374T/A is associated with increased *RAGE* expression (11) and thus increased *RAGE* signaling pathways. We cannot identify the target cells (vascular vs glomeruli or tubules) for the -374T/A *RAGE* polymorphism. However the -374T/A *RAGE* polymorphism was also inconstantly associated with increased soluble form of *RAGE* (20)(21) that is supposed to be protective. Regarding those results and ours, this polymorphism seems to be an interesting clue for diabetic nephropathy understanding. Despite important literature data in diabetic models (3)(22) and the progressive increasing hazard ratio in our study, we could not find interactions between both C242T and 374 T/A polymorphism as our study size was not designed to show such evidence which needs to be validated in a larger cohort. While the AA genotype of the Arg261Gln polymorphism of *ALOX12* has been associated with increased albuminuria in type 2 diabetic patients (13), we did not found any association with

microalbumuria or ESRD in our type 1 diabetic cohort. ALOX 12 seems to be more associated with vascular effects such as hypertension and atheroma and more prone for type 2 diabetics (23)(24).

We found that development of diabetes at a younger age exposed patients to a more rapid onset of diabetic nephropathy but with lowering rates in recent cohorts. This probably reflects past difficulties to equilibrate treatment in children (25) with a strong impact of social factors (26).

Our pilot study presents some methodological limitations. First, the prevalence of the -374T/A *RAGE* polymorphism barely exceeds 5%. This limits the clinical relevance of such an effect in the physiopathology of diabetic kidney disease despite the association strength. Moreover, it exposes us to bias, and its validation is required as literature is conflicting (27)(28)(29). Then, our design exposed us to left censoring of microalbuminuria onset for older patients, and also to surviving patients selection. Then clustering patients before 1980, when DCCT recommendations demonstrated a cut off for mortality rate among diabetic type 1 patients (30), did not alter our results. Moreover some classical risk factors are not included in our model because they are non-significant or out of scope. Smoking and HBA1c are not found significant in our population at a multivariate level probably as HBA1c at the time of inclusion did not reflect 20 years of diabetes equilibrium; moreover, anemia induced by chronic kidney disease led to HBA1c underestimates. As well renin angiotensin blockade and hypertension treatment were not specifically recorded. Smoking ratio in our population is less frequent than in the French population (33% in 2010, INPES data), which may reflect the medical survey of diabetic patients with high cardiovascular risk. However smoking was a retrospective data exposing us to memorization bias especially in patients with nephropathy. Finally we only assess a polymorphism candidate approach, but haplotype functional effect of p22phox (31) and existence of other *RAGE* functional polymorphism (delta 63, G82S, C1152A) may modify our conclusions. Thus complete *RAGE*, p22phox and probably NOX2 and NOX4 haplotype studies in a bigger cohort are required to fully explain the role of subtle changes in NOX and *RAGE*. Despite the limitations of this pilot monocentric study, the distribution of haplotypes among type 1 diabetic patients experiencing or not different levels of renal involvement initiates new molecular phenotyping studies aimed to dissect out renal and vascular responses as a basis for individualized medicine and a potential clue for innovative biological response modifiers in the future.

Acknowledgements: The authors acknowledge Michelle Mollin, Vincent Rzepecki, Paul Semeraro, for their help in the polymorphisms determination, and Dr Laure Nasse for its wonderful inclusion management. We are grateful to the Grenoble university hospital for financial support.

References

1. Chanard J. [Epidemiology of end-stage kidney failure: a state of national neglect]. *Nephrologie*. 2000;21(5):217- 218.
2. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*. 13 déc 2001;414(6865):813- 820.
3. Thallas-Bonke V, Thorpe SR, Coughlan MT, Fukami K, Yap FYT, Sourris KC, et al. Inhibition of NADPH oxidase prevents advanced glycation end product-mediated damage in diabetic nephropathy through a protein kinase C- α -dependent pathway. *Diabetes*. févr 2008;57(2):460- 469.
4. Ha H, Hwang I-A, Park JH, Lee HB. Role of reactive oxygen species in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Diabetes Res Clin Pract*. 13 nov 2008;82 Suppl 1:S42- 45.
5. Bedard K, Krause K-H. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev*. janv 2007;87(1):245- 313.
6. Babelova A, Avaniadi D, Jung O, Fork C, Beckmann J, Kosowski J, et al. Role of Nox4 in murine models of kidney disease. *Free Radic Biol Med*. 15 août 2012;53(4):842- 853.
7. Hodgkinson AD, Millward BA, Demaine AG. Association of the p22phox component of NAD(P)H oxidase with susceptibility to diabetic nephropathy in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. nov 2003;26(11):3111- 3115.
8. Fang S, Wang L, Jia C. Association of p22phox gene C242T polymorphism with coronary artery disease: a meta-analysis. *Thromb Res*. mai 2010;125(5):e197- 201.
9. Ishibashi Y, Matsui T, Takeuchi M, Yamagishi S. Beneficial effects of metformin and irbesartan on advanced glycation end products (AGEs)-RAGE-induced proximal tubular cell injury. *Pharmacol Res Off J Ital Pharmacol Soc*. mars 2012;65(3):297- 302.
10. Wendt TM, Tanji N, Guo J, Kislinger TR, Qu W, Lu Y, et al. RAGE drives the development of glomerulosclerosis and implicates podocyte activation in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Am J Pathol*. avr 2003;162(4):1123- 1137.
11. Hudson BI, Stickland MH, Futers TS, Grant PJ. Effects of novel polymorphisms in the RAGE gene on transcriptional regulation and their association with diabetic retinopathy. *Diabetes*. juin 2001;50(6):1505- 1511.
12. Prasad VVTS, Kolli P, Moganti D. Association of a functional polymorphism (Gln261Arg) in 12-lipoxygenase with breast cancer. *Exp Ther Med*. 2011;2(2):317- 323.
13. Liu Y, Freedman BI, Burdon KP, Langefeld CD, Howard T, Herrington D, et al. Association of arachidonate 12-lipoxygenase genotype variation and glycemic control with albuminuria in type 2 diabetes. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. août 2008;52(2):242- 250.
14. Krolewski M, Eggers PW, Warram JH. Magnitude of end-stage renal disease in IDDM: a 35 year follow-up study. *Kidney Int*. déc 1996;50(6):2041- 2046.
15. Harjutsalo V, Katoh S, Sarti C, Tajima N, Tuomilehto J. Population-based assessment of familial clustering of diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Diabetes*. sept 2004;53(9):2449- 2454.
16. Monti MC, Lonsdale JT, Montomoli C, Montross R, Schlag E, Greenberg DA. Familial risk factors for microvascular complications and differential male-female risk in a large cohort of American families with type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. déc 2007;92(12):4650- 4655.
17. Shimo-Nakanishi Y, Hasebe T, Suzuki A, Mochizuki H, Nomiya T, Tanaka Y, et al. Functional effects of NAD(P)H oxidase p22(phox) C242T mutation in human leukocytes and association with thrombotic cerebral infarction. *Atherosclerosis*. juill 2004;175(1):109- 115.

18. Zhu Y, Marchal CC, Casbon A-J, Stull N, von Löhneysen K, Knaus UG, et al. Deletion mutagenesis of p22phox subunit of flavocytochrome b558: identification of regions critical for gp91phox maturation and NADPH oxidase activity. *J Biol Chem.* 13 oct 2006;281(41):30336- 30346.
19. Xu M, Chen X, Yan L, Cheng H, Chen W. Association between (AC)_n dinucleotide repeat polymorphism at the 5'-end of the aldose reductase gene and diabetic nephropathy: a meta-analysis. *J Mol Endocrinol.* mai 2008;40(5):243- 251.
20. Thomas MC, Söderlund J, Lehto M, Mäkinen V-P, Moran JL, Cooper ME, et al. Soluble receptor for AGE (RAGE) is a novel independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in type 1 diabetes. *Diabetologia.* oct 2011;54(10):2669- 2677.
21. Gaens KHJ, Ferreira I, van der Kallen CJH, van Greevenbroek MMJ, Blaak EE, Feskens EJM, et al. Association of polymorphism in the receptor for advanced glycation end products (RAGE) gene with circulating RAGE levels. *J Clin Endocrinol Metab.* déc 2009;94(12):5174- 5180.
22. Li Y, Wang S. Glycated albumin activates NADPH oxidase in rat mesangial cells through up-regulation of p47phox. *Biochem Biophys Res Commun.* 18 juin 2010;397(1):5- 11.
23. Stern N, Kisch ES, Knoll E. Platelet lipoxygenase in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension.* mai 1996;27(5):1149- 1152.
24. Quintana LF, Guzmán B, Collado S, Clària J, Poch E. A coding polymorphism in the 12-lipoxygenase gene is associated to essential hypertension and urinary 12(S)-HETE. *Kidney Int.* févr 2006;69(3):526- 530.
25. Amed S, Nuernberger K, McCrea P, Reimer K, Krueger H, Aydede SK, et al. Adherence to clinical practice guidelines in the management of children, youth, and young adults with type 1 diabetes-a prospective population cohort study. *J Pediatr.* août 2013;163(2):543- 548.e1.
26. Demirel F, Tepe D, Esen I, Buber N, Boztepe H. Individual and Familial Factors Associated with Metabolic Control in Children with Type 1 Diabetes. *Pediatr Int Off J Jpn Pediatr Soc.* 6 août 2013;
27. Pettersson-Fernholm K, Forsblom C, Hudson BI, Perola M, Grant PJ, Groop P-H, et al. The functional -374 T/A RAGE gene polymorphism is associated with proteinuria and cardiovascular disease in type 1 diabetic patients. *Diabetes.* mars 2003;52(3):891- 894.
28. Lindholm E, Bakhtadze E, Sjögren M, Cilio CM, Agardh E, Groop L, et al. The -374 T/A polymorphism in the gene encoding RAGE is associated with diabetic nephropathy and retinopathy in type 1 diabetic patients. *Diabetologia.* nov 2006;49(11):2745- 2755.
29. Abdel-Azeez HA, El-Okely AM. Association of the receptor for advanced glycation end products (RAGE) -374 T/A gene polymorphism and circulating soluble RAGE with nephropathy in type 1 diabetic patients. *Egypt J Immunol Egypt Assoc Immunol.* 2009;16(1):95- 106.
30. Secrest AM, Becker DJ, Kelsey SF, LaPorte RE, Orchard TJ. All-cause mortality trends in a large population-based cohort with long-standing childhood-onset type 1 diabetes: the Allegheny County type 1 diabetes registry. *Diabetes Care.* déc 2010;33(12):2573- 2579.
31. Bedard K, Attar H, Bonnefont J, Jaquet V, Borel C, Plastre O, et al. Three common polymorphisms in the CYBA gene form a haplotype associated with decreased ROS generation. *Hum Mutat.* 2009;30(7):1123- 33.

Legends of Figures

Figure A. Annual actuarial Kaplan Meier curve of microalbuminuria onset since diabetes diagnosis in our studied population, according to their status for 1. C242T *CYBA* polymorphism in dominant model (TT+TC versus CC). 2. for -374T/A *RAGE* polymorphism in dominant model (AA versus TA+TT). p value was given for uni variate Log Rank analysis.

Figure A. Annual actuarial Kaplan Meier curve of ESRD onset since diabetes diagnosis in our study population, according to their status for 1. C242T *CYBA* polymorphism in dominant model (TT+TC versus CC). 2. for -374T/A *RAGE* polymorphism in dominant model (AA versus TA+TT). p value was given for uni variate Log Rank analysis.

Table A

Clinical characteristics of our studied population, according to kidney status. Results are expressed in number (%) for qualitative variables, or mean +/- SD or median [interquartile] for continuous variables, according to their distribution.

	global (n=162)	Nephropathy (DN+, n=53)	control (DN-,n=109)
Age (year)	48.7 +/- 12.1	48.2 +/- 10.6	48.9 +/- 12.8
Gender (Male)	87 (53)	35 (66)	52 (48)
Diabetes duration (years)	32,9 +/- 9	33.9 +/- 7.9	32.4 +/- 9.4
Age at diabetes diagnostic (year)	15,8 +/- 10,3	14,3 +/- 9,9	16,5 +/- 10,5
After 15 years, 3 month	68 (42)	17 (32)	51 (47)
Diabetes Diagnosis after 1980	63 (39)	19 (35)	44 (40)
HAB1c (%)	7,7 [7-8,6]	8,2 [6,9-9,2]	7,7 [7-8,4]
≤7.5 %	70 (43)	20 (38)	50 (46)
Treatment by insulin pump	73 (45)	18 (34)	55 (50)
Smoking	42 (26)	13 (25)	29 (27)
Systolic Blood pressure (mmHg)	130 [120-140]	130 [120-140]	135 [125-145]
Diastolic Blood pressure (mmHg)	80 [70-80]	80 [71-85]	80 [70-81]
BMI (Kg/m ²)	24.2 +/- 3.8	24 +/- 0.6	24.3 +/- 0.4

Table B

Diabetic micro and macrovascular complications in our studied population, according to kidney status. Results are expressed in number (%) for qualitative variables, or mean +/- SD or median [interquartile] for continuous variables, according to their distribution.

	Global (n=162)	Nephropathy (n=53)	Control (n=109)	P value ND+ Vs ND-
Kidney				
MDRD (ml/min/1,73 m ²)	83 [66-97]	59 [50-75]	89 [78-106]	< 10 ⁻⁵
Microalbuminuria (mg/L)	12 [7-32]	62 [26-298]	9 [5-12]	< 10 ⁻⁵
Macro vascular				
Coronaropathy	23 (14)	10 (19)	13 (12)	NS
Chronic Heart failure	1 (0.6)	0 (0)	1 (0.9)	NS
Neurologic ischemia	2 (1.2)	1 (1.8)	1 (0.9)	NS
Peripheral ischemia	13 (8)	6 (11)	7 (6)	NS
Micro vascular				
Peripheral neuropathy	45 (28)	26 (49)	19 (17)	< 10 ⁻⁵
Vegetative neuropathy	27 (17)	14 (26)	13 (12)	0.02
Retinopathy	105 (64)	51 (96)	54 (50)	< 10 ⁻⁵

Table C

Genotype frequency of polymorphisms of C242T *CYBA*, Arg261Gln *ALOX12*, -374 T/A and -429 T/C *RAGE*, in the French diabetic type 1 population (n=162).

C242T <i>p22phox</i>			374 T/A <i>RAGE</i>			429 T/C <i>RAGE</i>			Arg261Gln <i>ALOX 12</i>		
TT	TC	CC	AA	TA	TT	CC	TC	CC	AA	AG	GG
13.6%	45.7%	41.7%	5.6%	35.2%	59%	4.3%	34.6%	61.1%	14.4%	52.5%	33%

Figure A 1

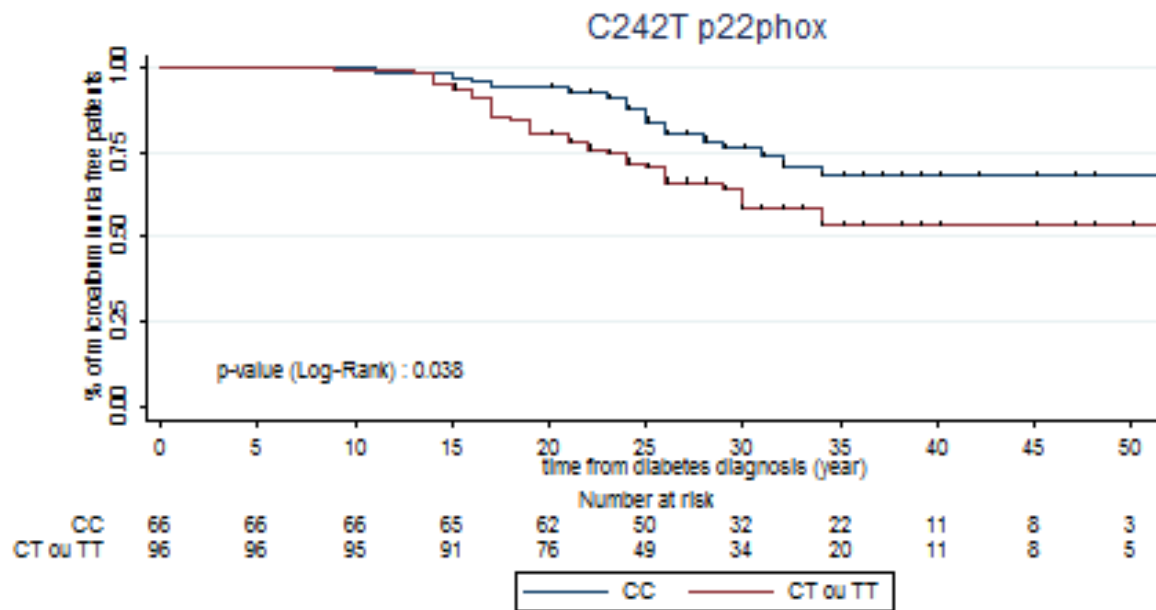


Figure A2

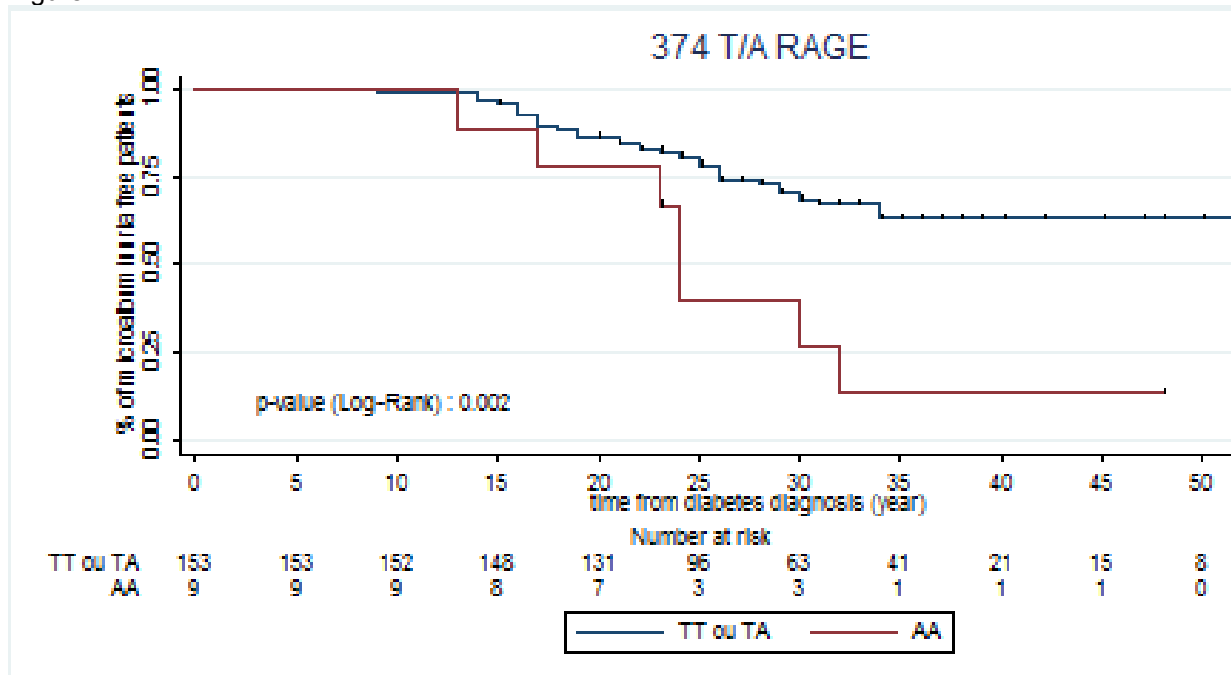


Figure B1

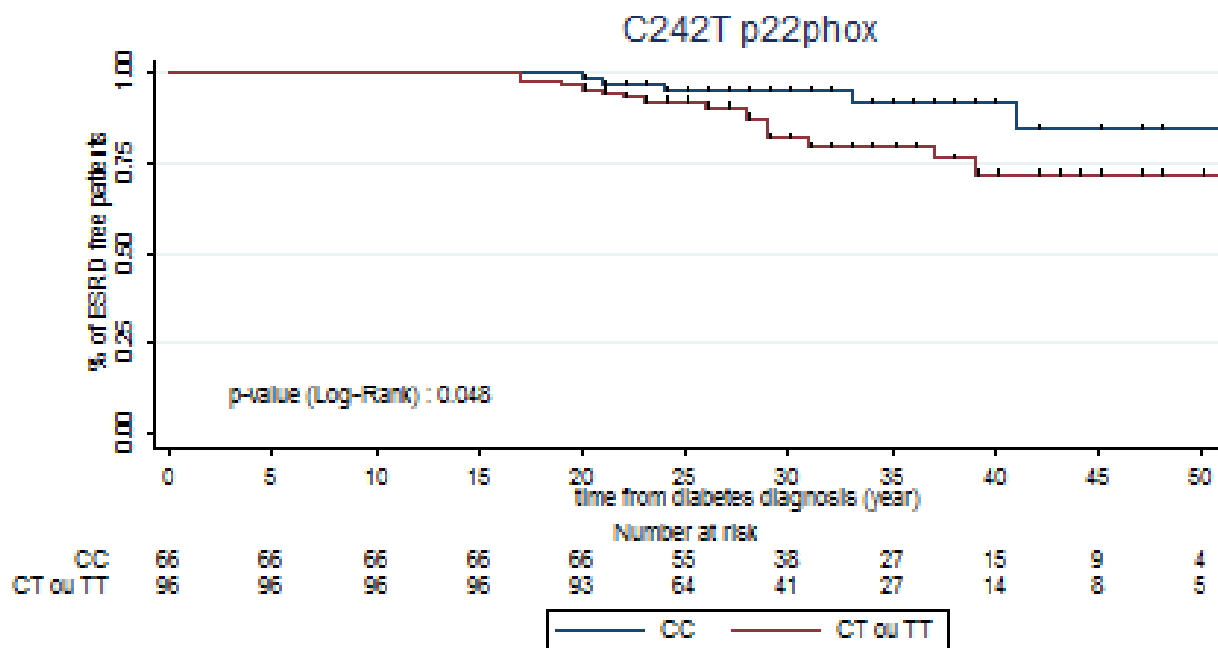
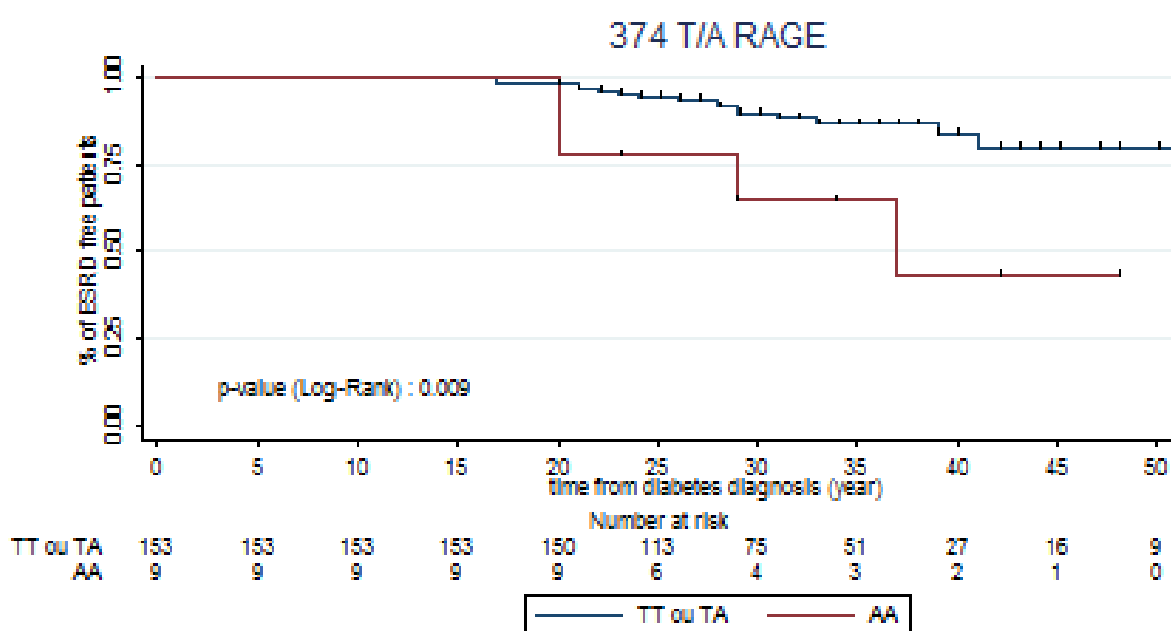


Figure B2



17. Remerciements

Mes premiers remerciements vont bien sûr à mon maître de thèse et président du jury le Pr ZAOUÏ, qui a su me soutenir le long de ces presque 4 années entre les premiers rendez-vous et ce manuscrit. Il a su me guider dans mes choix et surtout eu la patience de relire mes essais qui ont souvent une grammaire propre à moi...

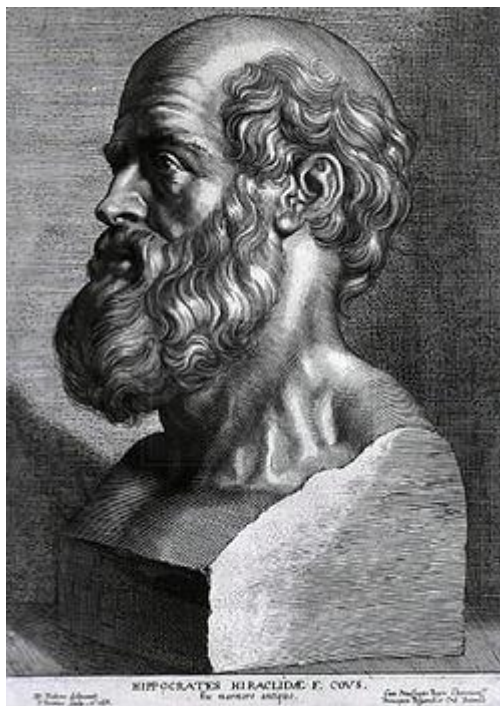
Je remercie le Pr BENHAMOU pour avoir su très tôt dans mon parcours me donner les clefs pour avancer ; mais aussi pour avoir mis à disposition ses patients, et son implication dans les inclusions, pour lesquelles l'aide de Laure NASSE a été aussi précieuse.

Le Dr STASIA a su m'accueillir au sein de son laboratoire et mettre à ma disposition son savoir et tout les outils pour la réalisation des PCR et des coupures, et ce sans que je ne développe de tendinite au pouce. Au travers elle, je remercie également toute l'équipe du labo CGD (Julie, Sylvain, Charlotte, Michelle, Cécile et Lila) qui ont tout de suite adopté cet électron libre de clinicien que je suis et m'ont permis de découvrir une autre manière de travailler et de penser. J'adresse une mention spéciale à Paul et Vincent, deux étudiants en master 1 qui ont participé à la mise en place des PCR, et qui m'ont permis de découvrir les joies de l'encadrement autre que celui des externes.

Bien entendu je remercie le Pr HADJADJ d'avoir accepté de siéger dans mon jury, d'une part pour les remarques dont il peut me faire part, mais également pour le déplacement, qui reste une grande traversée de l'hexagone pour un si court événement.

Mes pensées suivantes vont à ma famille, mes parents qui m'ont toujours permis de donner libre court à mes envies et qui ont su me ravitailler en vivres nécessaires ces derniers temps, mais également à ma femme Delphine qui a supporté ces derniers mois avec beaucoup de douceur.

Enfin une remarque spéciale à Joris pour son aide statistique et à Thomas pour nos longues discussions quotidiennes à refaire le monde qu'il soit scientifique ou pas d'ailleurs.



SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'HIPPOCRATE,

Je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerais mes soins gratuitement à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au dessus de mon travail. Je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admis dans l'intimité des maisons, mes yeux n'y verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.