

# BASE GENETIQUE DU DIABETE

**Arfa I(1), Abid A(1, 2), Kéfi R(1), Noura S(1), Bali M(1), Hsouna S(1), Lasram K(1), Ben Alaya N(3), Zorgati MM(1, 4), Ben Ammar S(1, 4), Malouche D(5), Mannai I (1), Blousa-Chabchoub S(2), Ben Romdhane H(6), Abdelhak S(1).**

- 1) Unité d'Exploration Moléculaire des Maladies Orphelines d'Origine Génétique, Institut Pasteur de Tunis.
- 2) Institut National de Nutrition, Tunis.
- 3) Laboratoire d'épidémiologie, Institut Pasteur de Tunis.
- 4) Service de Biochimie, Institut Pasteur de Tunis.
- 5) Ecole de Statistique et des Sciences et Analyse de l'Information de Tunis, Charguia, Tunis.
- 6) Département d'Epidémiologie et de Médecine Préventive, Faculté de médecine de Tunis.

## INTRODUCTION

Le diabète regroupe un ensemble de maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie chronique qui résultent d'un défaut de la sécrétion ou de l'action de l'insuline ou bien de ces deux anomalies associées.

Il s'agit d'une maladie fréquente qui affecte plus de 180 millions de personnes dans le monde entier (OMS, 2006) avec une prévalence variable d'une population à une autre. En Tunisie, la prévalence totale du diabète à l'échelle nationale est de 8,4% pour les hommes et 8,7% pour les femmes (H. Ben Romdhane, Enquête Nationale 2005, Rapport National du Ministère de la Santé Publique). L'incidence du diabète a augmenté ces dernières années et continue de croître dans le monde parallèlement à l'amélioration du niveau socio-économique

et au changement des habitudes alimentaires très riches en graisses et en sucres simples et à la sédentarité. Les estimations prédisent que plus que 300 million de personnes souffriront du diabète en 2025 (Tilburg et al., 2001).

L'hyperglycémie chronique est associée à terme avec des complications organiques spécifiques touchant particulièrement les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux. Les complications constituent un problème sérieux de santé publique en termes de morbidité, séquelles, qualité de vie et coût pour la santé. En Tunisie, le coût du diabète a été évalué chez 200 patients (145 de type 2 et 55 de type 1), le coût annuel en l'absence de complications est de 239 dinars tunisiens (DT) par personne par an dont 41,5% pour le traitement. En présence de complications modérées, ce coût est de 1401 DT et il augmente jusqu'à 24725 DT si les complications sont sévères (Abid et al., 2000).

Il s'agit d'une maladie multifactorielle avec l'intervention de facteurs génétiques et environnementaux agissant conjointement (Craighead et al., 1978). La susceptibilité génétique du diabète est complexe et très hétérogène et résulte de l'interaction de nombreuses mutations ou polymorphismes au niveau de différents gènes qui sont eux même influencés par des facteurs environnementaux. Afin de rechercher les gènes impliqués dans le diabète, plusieurs stratégies peuvent être utilisées. Certaines sont basées sur les études familiales, il s'agit d'analyse de liaison génétique, d'autres sur les études cas-témoins ou études d'association et d'autres combinent ces deux méthodes.

## STRATEGIE D'ETUDE D'UNE MALADIE MULTIFACTORIELLE

### 1. Analyse de liaison génétique:

Elles visent à localiser un gène de susceptibilité en testant dans les familles la coségrégation de la maladie et celle de

marqueurs génétiques polymorphes distribués tout le long du génome. Ces marqueurs peuvent être des séquences répétées en nombre variable: VNTR ou minisatellites, des variations de séquences répétées courtes: microsatellites ou STR ou bien des polymorphismes d'un seul nucléotide ou SNP pour Single nucleotide polymorphisms.

Les analyses de liaison génétique font appel à des outils statistiques adaptées aux généalogies humaines, parmi lesquels les calculs de lod score, il s'agit de calculer la vraisemblance d'observer une liaison génétique par rapport à la vraisemblance d'observer une exclusion génétique. Ce calcul nécessite de connaître un certain nombre de paramètres tels que: le mode de ségrégation de la maladie, la fréquence de l'allèle morbide, etc. Cependant, dans le cas des maladies multifactorielles comme le diabète où le mode de transmission est souvent imprécis, il est préférable d'utiliser des méthodes d'analyse statistique dites non paramétriques telle que la méthode des paires de germains atteints. La liaison avec un marqueur peut être établie en comparant le nombre d'allèle du marqueur génétique chez des paires de germains atteints. Les paires de germains malades présenteront un excès d'allèle du marqueur en commun s'il est proche ou dans un gène de prédisposition à la maladie.

## **2. Etudes d'association:**

Elles consistent à sélectionner un certain nombre de gènes candidats codant pour des protéines potentiellement impliquées dans le processus physiopathologique de la maladie ou sur la base des résultats obtenus dans les modèles animaux. Ensuite de rechercher les polymorphismes de ces gènes qui sont associés avec la maladie. Dans le cas des études cas-témoins, il s'agit de comparer la fréquence des allèles du marqueur génétique au niveau de gènes candidats entre les malades et les témoins appariés. Le marqueur testé peut être directement impliqué dans la maladie (variant fonctionnel) ou en déséquilibre de

liaison avec le variant fonctionnel. Cependant, ces études présentent un problème majeur qui est le choix des témoins. Afin d'affranchir ce biais des études de liaison–association ont été entreprises. Le marqueur polymorphe est étudié chez le sujet atteint et ses deux parents par le test TDT (Test de Déséquilibre de Transmission). Un témoin fictif interne est créé, son génotype est constitué par les allèles non transmis par les parents. Il s'agit de comparer les fréquences avec lesquelles un allèle particulier est transmis par un parent hétérozygote à l'enfant atteint. En cas d'association, il est transmis dans plus de la moitié des cas.

## **LA SUSCEPTIBILITE GENETIQUE AU DIABETE**

### **1. La susceptibilité génétique au diabète de type 1**

Le diabète de type 1 est une maladie multifactorielle où les facteurs génétiques et environnementaux sont étroitement associés (Craighead et al., 1978). Afin de rechercher les gènes impliqués dans le diabète de type 1, plusieurs stratégies ont été utilisées: la stratégie gène candidat, l'étude d'homologie avec des modèles animaux et le criblage du génome ou « tour de génome » (genome wide scan).

Ces études mettent en évidence la contribution majeure du locus HLA, du gène de l'insuline INS et la contribution de plusieurs gènes à effet mineur. Le rôle majeur du complexe d'histocompatibilité locus (IDDM1) au niveau du chromosome 6p21 dans la susceptibilité au diabète de type 1 a été établi depuis longtemps (Singal et Blajchman, 1973; Cudworth et Woodrow, 1975) puis largement confirmé (Davies et al., 1994; Mein et al., 1998; Cox et al., 2001). La susceptibilité la plus grande est associée aux allèles de classe II principalement DR, DQ $\beta$  et DQ $\alpha$  (Vague, 1994). En effet 90% des sujets diabétiques de type 1 appartiennent aux groupes DR3

ou DR4 (Deschamps et al., 1992). Une interaction synergique a été suggérée vu le risque accru chez les hétérozygotes DR4/3 (30% des diabétiques de type 1 contre 1% de la population générale). Des études menées dans des modèles animaux de DT1, la souris NOD (non-obese diabetic) et le rat BB (biobreding), ont également rapporté l'implication du complexe majeur d'histocompatibilité (H2 chez la souris) (Livingstone et al., 1991; Miyazaki et al., 1990).

En Tunisie, une élévation de la fréquence des allèles A30, C4AQO et C4BQO a été observée chez les diabétiques de type 1 par rapport aux témoins (Ayed et al., 1989; Jenhani et al., 1992). En ce qui concerne les gènes de classe II du CMH, il a été démontré que les allèles DR3/DR4 sont associés au diabète de type 1. Les hétérozygotes DR3/DR4 sont plus fréquents chez les diabétiques par rapport aux contrôles (24,2% vs 3,6%). Les antigènes DR2 et DR5 présentent un rôle protecteur (Ayed et al., 1989). Plus récemment, une association positive a été démontrée avec l'haplotype DRB1\*04 DQ\*0302 et DRB1\*03 DQB1\*0201 ainsi que pour les allèles DRB1\*0405 (Abid-Kamoun et al., 2002), et DQA1\*0501 (Bardi et al., 1991). Cependant, l'haplotype DRB1\*01501 DQB1\*0602 et DRB1\*11 DQB1\*0301 et l'allèle DRB1\*0403 sont protecteurs (Abid-Kamoun et al., 2002).

En dehors de la région HLA, la région du gène de l'insuline (INS) au niveau du chromosome 11p15, locus (IDDM2), joue un rôle établi dans la susceptibilité au diabète de type 1. Ceci a été démontré par plusieurs études d'association et de liaisons génétiques (Bell et al., 1984; Julier et al., 1991; Cox et al., 2001). La région 5' du gène INS contient un polymorphisme de type VNTR qui jouerait un rôle fonctionnel et influencerait l'expression du gène de l'insuline (Bennett et al., 1995; Kennedy et al., 1995) en altérant la structure de la chromatine en 5' du gène, modifiant ainsi l'accessibilité à des molécules régulatrices.

Seulement 50% de la susceptibilité génétique au diabète de type 1 est expliquée par HLA et INS, il est donc clair que d'autres gènes sont également en cause (Risch, 1987).

Diverses études de criblage de l'ensemble (Davies et al., 1994; Hashimoto et al., 1994) ou d'une partie du génome humain (Field et al., 1994) ont détecté plusieurs régions potentiellement liées au diabète de type 1. Certaines régions de susceptibilité ont été rapportées par deux ou plusieurs études différentes. Ces différents loci de susceptibilité au diabète de type 1 ont été nommés de IDDM3 à IDDM19. Une des régions candidates la plus retrouvée est celle localisée sur le bras long du chromosome 11(11q13). Certaines régions candidates correspondant à des gènes responsables d'autres formes de diabète notamment le gène de la glucokinase responsable d'une forme de MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young) (Rowe et al., 1995). D'autres régions contiennent des gènes candidats tel que la région 2q33 du gène CTLA4 présentant un dimorphisme A/G en position 49 de l'exon1, ce polymorphisme étant impliqué dans le diabète de type 1 dans la population tunisienne (Kammoun Abid et al., 2001). Plus récemment, le gène PTPN22 au niveau du chromosome 1p13 a été rapporté associé avec le diabète de type 1 (Ladner et al., 2005). Une étude récente menée par notre groupe de recherche n'a pas mis en évidence une association entre ce gène et le diabète de type 1 dans la population tunisienne.

## 2. La susceptibilité génétique au diabète de type 2

- **Les formes polygéniques (communes)**

L'approche gène candidat a été la première adoptée dans l'étude de la forme polygénique commune du diabète de type 2. L'étude de gènes impliqués dans les mécanismes de sécrétion ou d'action de

l'insuline aussi bien chez l'homme que chez des modèles murins de diabète de type 2 a permis de montrer l'implication des gènes codant pour le récepteur de l'insuline (Porzio et al., 1999), le récepteur des sulfonyles (SUR) (tHart et al., 1999), le récepteur PPAR gamma (Peroxisome Proliferator Activated) (Hegele et al., 2000; Altshuler et al., 2000), KCNJ11 (Hansen et al., 2005 ; Zeggini et al., 2007), la PI 1 kinase (MAPK8IP1) (Waeber et al., 2000), CAPN10 (Horikawa et al., 2000) et le récepteur du glucagon (Hansen et al., 1996). Des mutations au niveau des gènes impliqués dans l'insulinosécrétion ou l'insulinorésistance peuvent entraîner un diabète en étant combinées. Une interaction synergique de différents gènes est déterminante dans le développement du diabète de type 2 commun. Cependant, il est probable que ces gènes contribuent modestement à la susceptibilité génétique au diabète de type 2, c'est pourquoi plusieurs groupes ont procédé à l'exploration complète du génome de familles diabétiques. Plusieurs régions potentiellement liées au diabète de type 2 ont été détectées au niveau de différents chromosomes et chez différentes populations à savoir 2q37.3 (NIDDM1), 12q24.2 (NIDDM2), 20q12-q13.1 (NIDDM3) et 5q34-q35.2 (NIDDM4) (Hanis et al., 1996 ; Lindgren et al., 2002; Ghosh et al., 1999, Reynisdottir et al., 2003). Dans la population tunisienne une association avec le gène HSP 70 a été détectée (Zouari-Bouassida et al., 2004) mais non avec le PPAR gamma 2 (Zouari et al., 2005; Mohamed et al., 2007). Une étude récente menée par notre groupe de recherche n'a pas montré d'association entre le gène ACE et le diabète de type 2 dans la population Tunisienne (Arfa et al., 2008 in press).

Les formes monogéniques du diabète de type 2 : les MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young) et les diabètes par cytopathie mitochondriale ont été séparées et individualisées en raison de leurs caractéristiques génétiques et moléculaires.

### • Les diabètes de type MODY

Le diabète de type MODY est transmis selon un mode autosomique dominant à forte pénétrance. Le MODY est cliniquement et génétiquement hétérogène. On distingue au moins 5 types différents. Jusqu'à présent, 6 gènes impliqués dans les différents sous-types de MODY ont été identifiés. Ces gènes codent pour des protéines de fonction très variées. Il peut s'agir de protéines codant pour des facteurs de transcription de la famille HNF (Hepatic Nuclear Factor) exprimés dans le foie et le pancréas. En effet, les diabètes MODY 1, 3, 5 sont dus à des mutations dans les gènes codant pour des facteurs de transcription HNF4A, HNF1A, TCF2 respectivement. Le MODY 2 est dû à des mutations au niveau du gène codant pour la glucokinase (GCK) qui est une enzyme présente dans les cellules  $\beta$  et aussi dans le foie et catalysant la phosphorylation du glucose. Il peut également s'agir d'un facteur de transcription spécifique de la cellule  $\beta$  tel que le facteur PDX-1 ou IPF-1 impliqué dans le développement et la différenciation de la cellule  $\beta$  (MODY 4).

### • Le diabète mitochondrial (MIDD)

Il s'agit d'une forme rare du diabète. Elle est caractérisée par une transmission maternelle et fréquemment associée à une surdité. Elle est causée par des mutations au niveau de l'ADN mitochondrial (Ballinger et al., 1989; Van den Ouweland et al., 1992). Les mutations A3243G et A14709T sont les plus fréquentes entraînant des altérations de fonctionnement de la chaîne respiratoire et de la production d'ATP. Le manque d'ATP affecte la phosphorylation du glucose et la fermeture des canaux potassiques ATP dépendants nécessaires pour la libération de l'insuline. L'implication du génome mitochondrial dans le diabète est appuyée par le fait que les diabétiques de type 2 présentent plus de mères diabétiques que de pères (Alcolado et al., 1991). Nous avons retrouvé des résultats similaires dans

la population tunisienne (Arfa et al., 2007). D'autre part, une étude bioinformatique menée au sein de notre groupe de recherche afin d'identifier des gènes candidats impliqués dans le diabète de type 2 a révélé que plusieurs des gènes identifiés sont exprimés dans la mitochondrie entre autre les gènes : BCKDHA, OAT, IDH3B.

### **SUSCEPTIBILITE GENETIQUE AUX COMPLICATIONS DIABETE DE TYPE 2**

En plus de l'implication indéniable de l'hyperglycémie dans la pathogénie des complications du diabète, les facteurs génétiques jouent un rôle important dans leurs survenues et leurs progressions. Il est évident que l'étude génétique des complications du diabète est complexe, plusieurs approches ont été entreprises afin d'identifier les gènes de susceptibilité mais la plupart des résultats sont basés sur des études d'associations. Les gènes qui codent pour les protéines impliquées dans le contrôle de la pression artérielle et les gènes codant les protéines impliquées dans certaines voies cellulaires telles que: la voie des polyols, la glycation non enzymatique des protéines, l'activation de la protéine kinase C (PCK $\beta$ ), la stimulation du TGF $\beta$  ont fait l'objet d'exploration.

Dans la population tunisienne, l'implication du polymorphisme C677T du gène MTHFR dans la susceptibilité à la néphropathie diabétique a été démontrée par Mtiraoui et al., 2007. D'autre part, une étude menée par notre groupe de recherche testant l'implication des gènes ACE et AGT codant pour des protéines du système rénine angiotensine a montré que les polymorphismes I/D et M235T au niveau de ces gènes ne sont pas impliqués dans la susceptibilité à la néphropathie diabétique ni dans sa progression (Arfa et al., 2008 in press). Pour la rétinopathie diabétique nous n'avons pas détecté d'association avec le gène (ALR2) codant pour l'aldose réductase une enzyme clé de la voie des

polyols (Zghal-Mokni et al., 2005). Une autre étude tunisienne récente a mis en évidence l'implication du gène iNOS chez les diabétiques de type 2 (Ezzidi et al., 2007).

### **CONCLUSION**

En conclusion, l'étude de la composante génétique du diabète n'est pas une tâche aisée. Avec la disponibilité de la séquence du génome humain et de nouveaux outils d'investigation à large échelle tels que les micropuces à ADN permettant d'explorer des milliers de polymorphismes de type SNP, des cohortes de plus en plus larges sont étudiées à l'échelle mondiale. Outre, l'investissement financier assez lourd, ces études nécessitent la collaboration de plusieurs groupes pluridisciplinaires.

### **REFERENCES**

1. Abid A, Chabchoub S, Jamoussi S, Kammoun H, Souissi S, Nagati K. Direct cost of diabetes in Tunisia. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2000; 50 (s1): 191.
2. Abid-kamoun H, Hmida S, Kaabi H, Abid A, Slimane-Houissa H, Maamar M, Mojaat N, Ben Hamed L, Dridi A, Kamoun-Zribi M, Nagati K, Haddad A, Boukef K. HLA polymorphism in type 1 diabetes Tunisians. *Ann Genet*. 2002; 45 (1): 45-50.
3. Alcolado JC, Alcolado R. Importance of maternal history of non-insulin dependent diabetic patients. *BMJ*. 1991;302:1178-80.
4. Altshuler D, Hirschhorn JN, Klannemark M, Lindgren CM, Vohl MC, Nemesh J, Lane CR, Schaffner SF, Bolk S, Brewer C, Tuomi T, Gaudet D, Hudson TJ, Daly M, Groop L, Lander ES. The common PPAR $\gamma$  Pro12Ala polymorphism is associated with decreased risk of type 2 diabetes. *Nat Genet*. 2000;26(1):76-80.
5. Arfa I, Abid A, Malouche D, Ben Alaya N, Azegue TR, Mannai I,

- Zorgati MM, Ben Rayana MC, Ben Ammar S, Blousa-Chabchoub S, Ben Romdhane H, Zouari B, Dellagi MK, Abdelhak S. Familial aggregation and excess maternal transmission of type 2 diabetes in Tunisia. *Postgrad. Med. J.* 2007;83:348-351
6. Ayed K, Bardi R, Gorgi Y, Jenhani F, Chammakhi S, Boukhriss R. HLA-A, B, C and DR antigens and complotype in Tunisian patients with diabetes mellitus: *Dis Markers.* 1989; 7 (1): 43-7.
  7. Ballinger SW, Shoffner JM, Hedaya EV, Trounce I, Polak MA, Koontz DA, Wallace DC. Maternally transmitted diabetes and deafness associated with a 10.4 kb mitochondrial DNA band. *Am. J. Hum. Genet.* 1989; 45: A144
  8. Bardi R, Tu Ly, Jenhani S, Ayed K, Chammaki S, Charron D. Association of type 1 diabetes mellitus with the HLA DQA\*0301 allele in Tunisian population. *Res. Immunol.* 1991; 142: 2-16.
  9. Bell GI, Horita S, Karam JH. A polymorphic locus near the human insulin gene is associated with insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes.* 1984; 33 (2): 176-83.
  10. Bennett ST, Lucassen AM, Gough SC, Powell EE, Undlien DE, Pritchard LE, Merriman ME, Kawaguchi Y, Dronsfield MJ, Pociot F. Susceptibility to human type 1 diabetes at IDDM2 is determined by tandem repeat variation at the insulin gene minisatellite locus. *Nat. Genet.* 1995; 9 (3): 284-292.
  11. Cox NJ, Wapelhorst B, Morrison VA, Johnson L, Pinchuk L, Spielman RS, Todd JA, Concannon P. seven regions of the genome show evidence of linkage to type 1 diabetes in a consensus analysis of 767 multiplex families. *Am. J. Hum. Genet.* 2001; 69: 820-830.
  12. Craighead JE. Current views on the etiology of insulin dependent diabetes mellitus. *New Eng J Med.* 1978; 299:1439-1445.
  13. Cudworth AG, Woodrow JC. HL-A system and diabetes mellitus. *Diabetes.* 1975;24(4):345-9.
  14. Davies JL, Kawaguchi Y, Bennett ST, Copeman JB, Cordell HJ, Pritchard LE, Reed PW, Gough SCL, Jenkins SC, Palmer SM, Balfour KM, Rowe BR, Farrall M, Barnett AH, Bain SC, Todd JA. A genome-wide search for human type 1 diabetes susceptibility genes. *Nature.* 1994; 371: 130-136.
  15. Deschamps I, Khalil I. Le rôle du système HLA la génétique du diabète de type 1. *Diabete Metab.* 1992; 18: 253-63.
  16. Ezzidi I, Mtiraoui N, Mohamed MB, Mahjoub T, Almawi WX. Endothelial nitric oxide synthetase Glu 298 Asp, 4b/a, and T786C polymorphisms in type 2 diabetic retinopathy. *Clin Endocrinol.* 2007; oct 31 [Epub ahead of print].
  17. Field L, Tobias R., Magnus, T. A locus on chromosome 15q26 (IDDM3) produces susceptibility to insulin-dependent diabetes mellitus. *Nature Genet.* 1994; 8: 189-194
  18. Ghosh S, Watanabe RM, Hauser ER, Valle T, Magnuson VL, Erdos MR, Langefeld CD, Balow J Jr, Ally DS, Kohtamaki K, Chines P, Birznieks G, Kaleta HS, Musick A, Te C, Tannenbaum J, Eldridge W, Shapiro S, Martin C, Witt A, So A, Chang J, Shurtleff B, Porter R, Kudelko K, Unni A, Segal L, Sharaf R, Blaschak-Harvan J, Eriksson J, Tenkula T, Vidgren G, Ehnholm C, Tuomilehto-Wolf E, Hagopian W, Buchanan TA, Tuomilehto J, Bergman RN, Collins FS, Boehnke M. Type 2 diabetes: evidence for linkage on chromosome 20 in 716 Finnish

- affected sib pairs. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999; 96(5):2198-203.
19. Hanis CL, Boerwinkle E, Chakraborty R, Ellsworth DL, Concannon P, Stirling B, Morrison VA, Wapelhorst B, Spielman RS, Gogolin-Ewens KJ, Shepard JM, Williams SR, Risch N, Hinds D, Iwasaki N, Ogata M, Omori Y, Petzold C, Rietzch H, Schröder HE, Schulze J, Cox NJ, Menzel S, Boriraj VV, Chen X, Lim LR, Lindner T, Mereu LE, Wang YQ, Xiang K, Yamagata K, Yang Y, Bell GI. A genome-wide search for human non-insulin-dependent (type 2) diabetes genes reveals a major susceptibility locus on chromosome 2. *Nat Genet*. 1996;13(2):161-6.
  20. Hansen SK, Nielsen EM, Ek J, Andersen G, Glümer C, Carstensen B, Mouritzen P, Drivsholm T, Borch-Johnsen K, Jørgensen T, Hansen T, Pedersen O. Analysis of separate and combined effects of common variation in KCNJ11 and PPARG on risk of type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(6):3629-37.
  21. Hashimoto L, Habita C, Beressi JP, Delepine M, Besse C, Cambon-Thomsen A, Deschamps I, Rotter JI, Djoulah S, James MR, et al. Genetic mapping of a susceptibility locus for insulin-dependent diabetes mellitus on chromosome 11q. *Nature*. 1994;371(6493):161-4.
  22. Hegele RA, Cao H, Harris SB, Zinman B, Hanley AJ, Anderson CM. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 P12A and type 2 diabetes in Canadian Oji-Cree. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85(5):2014-9
  23. Horikawa Y, Oda N, Cox NJ, Li X, Orho-Melander M, Hara M, Hinokio Y, Lindner TH, Mashima H, Schwarz PE, del Bosque-Plata L, Horikawa Y, Oda Y, Yoshiuchi I, Colilla S, Polonsky KS, Wei S, Concannon P, Iwasaki N, Schulze J, Baier LJ, Bogardus C, Groop L, Boerwinkle E, Hanis CL, Bell GI. Genetic variation in the gene encoding calpain-10 is associated with type 2 diabetes mellitus. *Nat Genet*. 2000;26(2):163-75.
  24. Jenhani F, Bardi R, Gorgi Y, Ayed K, Jeddi M. C4 polymorphism in multiplex families with insulin dependent diabetes in the Tunisian population: standard C4 typing methods and RFLP analysis. *J Autoimmun*. 1992; 5 (2):149-60.
  25. Julier C, Hyer RN, Davies J, Merlin F, Soularue P, Briant L, Cathelineau G, Deschamps I, Rotter JI, Froguel P. Insulin-IGF2 region on chromosome 11p encodes a gene implicated in HLA-DR4-dependent diabetes susceptibility. *Nature*. 1991; 354 (6349):155-9.
  26. Kammoun Abid H, S.Hmida, N.Smaoui, H.Kaabi, A.Abid, H.Chaabouni, K.Boukef, k. Nagati. Etude de l'association entre diabète de type 1 et polymorphisme du gene CTLA 4 dans une population tunisienne. *Patol. biol*. 2001; 49: 794-8.
  27. Kennedy GC, German MS, Rutter WJ. The minisatellite in the diabetes susceptibility locus IDDM2 regulates insulin transcription. *Nat. Genet*. 1995; 9 (3): 293-8.
  28. Ladner MB, Bottini N, Valdes AM, Noble JA. Association of the single nucleotide polymorphism C1858T of the PTPN22 gene with type 1 diabetes. *Hum Immunol*. 2005; 66(1):60-4.
  29. Lindgren CM, Mahtani MM, Widén E, McCarthy MI, Daly MJ, Kirby A, Reeve MP, Kruglyak L, Parker A, Meyer J, Almgren P, Lehto M, Kanninen T, Tuomi T, Groop LC, Lander ES.

- Genomewide search for type 2 diabetes mellitus susceptibility loci in Finnish families: the Botnia study. *Am J Hum Genet.* 2002;70(2):509-16.
30. Livingstone A, Edwards CT, Shizuru JA, Fathman CG. Genetic analysis of diabetes in the nonobese diabetic mouse. I. MHC and T cell receptor beta gene expression. *J. Immunol.* 1991; 146 (2): 529-34.
  31. Mein CA, Esposito L, Dunn MG, Johnson GC, Timms AE, Goy JV, Smith AN, Mekaouer A, Hammoun M, Tebra H. A search for type 1 diabetes susceptibility genes in families from the United Kingdom. *Nat Genet.* 1998; 19 (3): 297-300.
  32. Miyazaki T, Uno M, Uehira M, Kikutani H, Kishimoto T, Kimoto M, Nishimoto H, Miyazaki J, Yamamura K. Direct evidence for the contribution of the unique I-ANOD to the development of insulinitis in non-obese diabetic mice. *Nature.* 1990; 345 (6277): 722-4.
  33. Mohamed MB, Mtiraoui N, Ezzidi I, Chaieb M, Mahjoub T, Almawi WX. Association of the peroxisome proliferator activated receptor-gamma 2 Pro12Ala but not the C1431T gene variants with lower body mass index in type 2 diabetes. *J endocrinol Invest.* 2007; 30 (11): 937-43.
  34. Mtiraoui N, Ezzidi I, Chaieb M, Marmouche H, Aouni Z, Chaieb A, Mahjoub T, Vaxillaire M, Almawi WX. MTHFR C677T and A1298C gene polymorphisms and hyperhomocysteinemia as risk factors of diabetic nephropathy in type 2 diabetes patients. *Diabetes Res Clin Pract.* 2007; 75 (1): 99-106.
  35. Porzio O, Federici M, Hribal ML, Lauro D, Accili D, Lauro R, Borboni P, Sesti G. The Gly972-->Arg amino acid polymorphism in IRS-1 impairs insulin secretion in pancreatic beta cells. *J Clin Invest.* 1999;104(3):357-64
  36. Reynisdottir I, Thorleifsson G, Benediktsson R, Sigurdsson G, Emilsson V, Einarsson AS, Hjorleifsdottir EE, Orlygsson GT, Bjornsdottir GT, Saemundsdottir J, Halldorsson S, Hrafnkelsdottir S, Sigurjonsdottir SB, Steinsdottir S, Martin M, Kochan JP, Rhee BK, Grant SF, Frigge ML, Kong A, Gudnason V, Stefansson K, Gulcher JR. Localization of a susceptibility gene for type 2 diabetes to chromosome 5q34-q35.2. *Am J Hum Genet.* 2003;73(2):323-35.
  37. Risch N. Assessing the role of HLA-linked and unlinked determinants of disease. *Am. J. Hum. Genet.* 1987; 40 (1): 1-14.
  38. Rowe RE, Wapelhorst B, Bell GI, Risch N, Spielman RS, Concannon P. Linkage and association between insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) susceptibility and markers near the glucokinase gene on chromosome 7. *Nat. Genet.* 1995; 10: 240-2.
  39. Singal DP, Blajchman MA. Histocompatibility (HL-A) antigens, lymphocytotoxic antibodies and tissue antibodies in patients with diabetes mellitus. *Diabetes.* 1973; 22 (6): 429-32.
  40. tHart LM, Stolk RP, Dekker JM, Nijpels G, Grobbee DE, Heine RJ, Maassen JA. Prevalence of variants in candidate genes for type 2 diabetes in the Netherlands: the Rotterdam study and the Hoorn study . *J clin Endocrinol Metab;* 1999; 84:1002-6.
  41. Tilburg JV, Haeften TWV, Pearson P, Wijmenga C. Defining the genetic contribution of type 2 diabetes mellitus. *J Med genet.* 2001; 38:569-578.
  42. Vague P. Multidisiplinarité et progrès dans le diabète.

- Médecine/sciences. 1994; 10: 791-4
43. Van den Ouweland JM, Lemkes HH, Ruitenbeek W, Sandkuijl LA, de Vijlder MF, Struyvenberg PA, van de Kamp JJ, Maassen JA. Mutation in mitochondrial tRNA(Leu)(UUR) gene in a large pedigree with maternally transmitted type II diabetes mellitus and deafness. *Nat. Genet.* 1992; 1 (5): 368-71.
  44. Waeber G, Delplanque J, Bonny C, Mooser V, Steinmann M, Widmann C, Maillard A, Miklossy J, Dina C, Hani EH, Vionnet N, Nicod P, Boutin P, Froguel P. The gene MAPK8IP1, encoding islet-brain-1, is a candidate for type 2 diabetes. *Nat Genet.* 2000;24(3):291-5.
  45. Zeggini E, Weedon MN, Lindgren CM, Frayling TM, Elliott KS, Lango H, Timpson NJ, Perry JR, Rayner NW, Freathy RM, Barrett JC, Shields B, Morris AP, Ellard S, Groves CJ, Harries LW, Marchini JL, Owen KR, Knight B, Cardon LR, Walker M, Hitman GA, Morris AD, Doney AS; Wellcome Trust Case Control Consortium (WTCCC), McCarthy MI, Hattersley AT. Replication of genome-wide association signals in UK samples reveals risk loci for type 2 diabetes. *Science.* 2007; 316 (5829):1336-41.
  46. Zghal-Mokni I, Arfa I, Elloumi-Zghal H, Abid A, Amrouche-Rached C, Kaabi B, Chakroun S, Blousa-Chabchoub S, Gaïgi S, Ayed S, Jeddi A, Dellagi K, Abdelhak S. Étude de l'association entre la rétinopathie diabétique et un polymorphisme du gène de l'aldose réductase dans la population tunisienne. *J Fr. Ophtalmol.* 2005; 28 (4): 386-390.
  47. Zouari Bouassida K, Chouchane L, Jellouli K, Chérif S, Haddad S, Gabbouj S, Danguir J. polymorphism of stress protein HSP70-2 gene in Tunisians: susceptibility implications in type 2 diabetes and obesity. *Diabetes Metab.* 2004;30(2):175-80.
  48. Zouari Bouassida K, Chouchane L, Jellouli K, Chérif S, Haddad S, Gabbouj S, Danguir J. The peroxisome proliferator activated receptor gamma2 (PPARgamma2) Pro12Ala variant: lack of association with type 2 diabetes in obese and non obese Tunisian patients. *Diabetes Metab.* 2005 ;31(2):119-23.