

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB, BLIDA -1-  
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE CELLULAIRE



**Mémoire de fin d'études**

En vue de l'obtention du diplôme de Master  
En Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : SCIENCES BIOLOGIQUES  
Option : Génétique

**THÈME**

Étude de Polymorphisme du gène aldose réductase par méthode bioinformatique et pathologies associées.

Soutenu le : 30 / 09 /2020

*Présenté par :*

Mlle ABDELHAK NOUSSAIBA

Mlle EL BAA ACHOUAK

*Devant le jury :*

Mme Rouaki F	MCB	USDB1	Président
Mme Mokrane A	MCB	USDB1	Examinatrice
Mme Eddaikra A	MCB	USDB1	Promotrice

*Promotion : 2019 – 2020*

## **Remerciements**

Nous remercions Dieu, le tout puissant de nous avoir donné la santé, la volonté, le courage d'achever ce mémoire de fin d'étude.

Ces quelques lignes ne suffiront pas à exprimer toute la gratitude et tous les moments que nous avons partagés ensemble, mais parfois un simple merci vaut bien plus que tous les discours du monde ; Ce mémoire nous a permis de rencontrer également des personnes merveilleuses et d'une rare générosité

Nous exprimons notre profond remerciement et gratitude à notre promotrice Mme Eddaikra A Maitre de conférences au département de BPC de l'université de Blida 1, pour bien vouloir de diriger ce travail, et pour ses conseils et ses remarques constructive. Que dieu la protège.

Nos remerciements les plus sincères s'adressent à Mme Rouaki F, d'avoir accepté de présider notre jury de soutenance et Mme Mokrane A, d'avoir accepté de faire parti du jury et d'évaluer notre mémoire de fin d'études.

Votre participation à notre soutenance a été un grand honneur pour nous.

Nous remercions nos familles, tous les amis pour leurs encouragements.

Nous remercions aussi tous ceux qui ont contribué de près de loin à la mise en œuvre de ce travail.

# Dédicace



*Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de plusieurs Années d'étude à :*

*À mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études, aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez pour tous les sacrifices que vous n'avez cessé de me donner depuis ma naissance.*

*À mes deux frères Djaafer et Mohamed Ilyes que dieu les protège et leur offre la chance et le bonheur.*

*A ma chère sœur Hadil pour sa compréhension et son encouragement*

*A ma binôme et sœur Achouak et toutes sa familles*

*A toutes mes amies et tous mes amis*

***Noussaiba***

# Dédicace



*Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour :*

*A celle qui ma arrosée de tendresse et d'espoirs, à la source d'amour*

*Incessible, à la mère des sentiments fragiles qui ma bénie par ces prières ... ma mère*

*A mon support dans ma vie, qui m'a appris m'a supportée et m'a dirigée vers la gloire ... mon père*

*A mon frère Chafik et sa femme Dalel, mes sœurs Souad, Fatiha, Houria et son mari Salim*

*A mes deux chers neveux Rassim et Djawed*

*A ma meilleure sœur ma binôme Noussaiba et toutes sa familles.*

*A toutes mes amies et tous mes amis : Mohammed, Ferial, Abir et Wahiba.*

*ACHOUAK*

## Résumé

L'aldose réductase (AR) est une oxydoréductase monomère dépendant de NADPH ayant de larges spécificités de substrat pour les composés carbonylés. Cette enzyme cytosolique catalyse la conversion du glucose en sorbitol. Le gène AKR1B1 est situé sur le chromosome 7 en position 33 du bras long (7q33) avec une longueur de 18 kb contient 10 exons. Notre étude vise à étudier l'association du polymorphisme du gène de l'aldose réductase (AKR1B1) avec les pathologies humaines en identifiant les polymorphismes à nucléotide unique (SNP) à l'aide de bases de données internationales et des outils bio-informatiques comme NCBI, LitVar, UCSC, Galaxy, Ensemble. Dans notre étude nous n'avons retenu que les variations polymorphiques pathologiques. Grâce à l'analyse bioinformatique nous avons pu identifier les différents polymorphismes mononucléotidiques SNPs majeurs de l'AR associé à plusieurs pathologies. Le rs779176563 est significativement associé au cancer colorectal et utérin. Le rs1480104657 est une variante qui provoque des défauts du tube neural. Le variant rs2229542 et rs5053 s'associent à l'asthme et à la rhinite. Le rs758266634 est associé à la néphropathie diabétique (DN) tandis que les variants rs3896278, rs17188118 et rs1424426 du gène AKR1B1 sont significativement associées à la rétinopathie diabétique (RD). Ces polymorphismes peuvent altérer la fonction de l'aldose réductase en modifiant sa structure ce qui pourrait contribuer à réduire ou à augmenter les niveaux d'expression de la protéine et à l'altération de la fonction globale de l'AKR1B1. Nous suggérons que ces SNPs peuvent être utilisés pour des études cas-témoin, comme des marqueurs génétiques.

**Mots Clés :** AKR1B1, polymorphisme, SNP, pathologies, outils bioinformatiques

## **Abstract**

Aldose reductase (AR) is a monomeric NADPH-dependent oxidoreductase with broad substrate specificities for carbonyl compounds. This cytosolic enzyme catalyzes the conversion of glucose to sorbitol. The AKR1B1 gene is located on chromosome 7 in position 33 of the long arm (7q33) with a length of 18 kb contains 10 exons. Our study aims to study the association of the polymorphism of the aldose reductase gene (AKR1B1) with human pathologies by identifying single nucleotide polymorphisms (SNPs) using international databases and bioinformatics tools such as NCBI, LitVar, UCSC, Galaxy, Ensemble. In our study, we only retained pathological polymorphic variations. Thanks to bioinformatics analysis, we were able to identify the different single nucleotide polymorphisms major SNPs of RA associated with several pathologies. Rs779176563 is significantly associated with colorectal and uterine cancer. Rs1480104657 is a variant that causes neural tube defects. The variant rs2229542 and rs5053 are associated with asthma and rhinitis. The rs758266634 is associated with diabetic nephropathy (DN) while the rs3896278, rs17188118 and rs1424426 variants of the AKR1B1 gene are significantly associated with diabetic retinopathy (DR). These polymorphisms can alter the function of aldose reductase by altering its structure which may contribute to reducing or increasing the levels of protein expression and altering the overall function of AKR1B1. We suggest that these SNPs can be used for case-control studies, as genetic markers.

**Keywords:** AKR1B1, polymorphism, SNP, pathologies, bioinformatics

## الملخص

إن إنزيم Aldose reductase (AR) هو عبارة عن أوكسيدريدوكتاز أحادي يعتمد على NADPH مع خصائص ركيزة واسعة لمركبات الكربونيل. هذا الإنزيم العصاري الخلوي يحفز تحويل الجلوكوز إلى سوربيتول. يوجد جين AKR1B1 على الكروموسوم 7 في الموضع 33 من الذراع الطويلة (q337) بطول 18 كيلو بايت يحتوي على 10 إكسونات. تهدف دراستنا إلى دراسة ارتباط تعدد الأشكال لجين اختزال الألدوز (AKR1B1) مع الأمراض البشرية عن طريق تحديد تعدد أشكال النوكليوتيدات المفردة (SNPs) باستخدام قواعد البيانات الدولية وأدوات المعلوماتية الحيوية مثل NCBI، LitVar، UCSC، Galaxy، إنسبل. في دراستنا، احتفظنا فقط بالاختلافات المرضية متعددة الأشكال. بفضل تحليل المعلوماتية الحيوية، تمكنا من تحديد العديد من الأشكال المتعددة للنوكليوتيدات المفردة، وهي تعدد أشكال تعدد الأشكال الرئيسية لـ RA المرتبطة بالعديد من الأمراض. يرتبط Rs779176563 بشكل كبير بسرطان القولون والمستقيم والرحم. Rs1480104657 هو البديل الذي يسبب عيوب الأنبوب العصبي. يرتبط المتغيران rs2229542 و rs5053 بالربو والتهاب الأنف. يرتبط Rs758266634 باعتلال الكلية السكري (DN) بينما ترتبط المتغيرات rs3896278 و rs17188118 و rs1424426 من جين AKR1B1 ارتباطاً كبيراً باعتلال الشبكية السكري (DR). يمكن أن تغير هذه الأشكال المتعددة وظيفة اختزال الألدوز عن طريق تغيير هيكلها الذي قد يساهم في تقليل أو زيادة مستويات التعبير البروتيني وتغيير الوظيفة العامة لـ AKR1B1. نقترح أنه يمكن استخدام هذه النيوكلوتايد في دراسات الحالات والشواهد، كواسمات جينية.

# Sommaire

Introduction.....	1
<b>1. Rappels bibliographique</b>	
1.1. Aldose réductase.....	3
1.1.1. Emplacement et structure du gène AKR1B1.....	4
1.1.2. Expression du gène AKR1B1.....	5
1.1.3. Activités enzymatiques de l'aldose réductase.....	6
1.1.3.1. Activité de réduction du glucose.....	6
1.1.3.2. Réduction des aldéhydes toxiques.....	6
1.1.4. Régulation de l'aldose réductase.....	8
1.1.4.1. Régulation cellulaire médiée par NF- $\kappa$ B.....	8
1.2- Polymorphismes.....	10
1.2.1. Polymorphisme mononucléotidique (SNP ou snip).....	10
1.2.2. Types des SNPs.....	11
1.2.3. Polymorphismes du gène AR.....	11
1.3- Les pathologies associées au polymorphisme du gène aldose réductase .....	12
1.3.1. L'asthme.....	13
1.3.2. L'uvéite.....	13
1.3.3. La septicémie.....	13
1.3.4. Le cancer.....	13
1.3.5. L'athérosclérose.....	14
1.3.6. Le diabète.....	14

1.4- Conséquences physiopathologiques du polymorphisme de ALR dans le diabète.....	15
1.4.1. La rétinopathie diabétique.....	15
1.4.2. La néphropathie diabétique (DN).....	15
1.4.3. La neuropathie diabétique.....	15
<b>2. Matériel et Méthode</b>	
2.1. Matériel.....	18
2.1.1. Matériel biologique.....	18
2.1.2. Matériel non biologique.....	19
2.1.3. Outils bio-informatiques.....	21
2.2. Méthodes.....	21
2.2.1. Interrogation des bases de données.....	22
2.2.1.1. Outil NCBI.....	22
2.2.1.2. Outil UCSC.....	23
2.2.1.3. Outil Ensemble genome browser.....	26
2.2.1.4. Outil Galaxy.....	27
2.2.2. Identification d'association pathologique par LitVar.....	28
<b>3. Résultats et Discussions</b>	
3.1. Résultats.....	30
3.2. Discussion.....	37
<b>4. conclusion.....</b>	<b>42</b>

## Références bibliographiques

## Annexe

## Liste des Abréviations

<b>AR</b>	Aldose Réductase
<b>AKR</b>	Aldo-Kéto Réductase
<b>AKR1B1</b>	Aldo-Kéto Réductase famille 1 membre B
<b>ARNm</b>	Acide RiboNucléique messenger
<b>Ap-1</b>	Protéine Activatrice 1
<b>TRE</b>	Elément Récepteur Thyroïdien
<b>ARN-seq</b>	Séquençage de l'ARN
<b>NADPH</b>	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
<b>NADP+</b>	Nicotinamide Adénine Dinucleotide Phosphate
<b>NAD+</b>	Nicotinamide Adénine Dinucléotide
<b>ROS</b>	Espèces Réactives de l'Oxygène (ROS)
<b>GSH</b>	Glutathion
<b>LDA</b>	Aldéhydes dérivés de la peroxydation lipidique
<b>NF- κ B</b>	Facteur Nucléaire kappa B
<b>SNP</b>	Polymorphisme mononucléotidique
<b>PDR</b>	Rétinopathie Diabétique Proliférative
<b>T1DM</b>	Diabète de Type 1
<b>T2DM</b>	Diabète de Type 2
<b>BED</b>	Browser Extensible Data
<b>DN</b>	Néphropathie Diabétique
<b>DR</b>	Rétinopathie Diabétique
<b>DPN</b>	Neuropathie Diabétique Périphérique
<b>PCR-SSCP</b>	Polymorphisme de conformation des acides nucléiques simples brins par réaction en chaîne par polymérase
<b>PCR-RFLP</b>	Polymorphisme de longueur des fragments de restriction par réaction en chaîne par polymérase
<b>CETSA</b>	Essai de déplacement thermique cellulaire

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Structure cristalline de l'aldose réductase.....	3
<b>Figure 2:</b> Localisation du gène AKR1B1 au niveau du chromosome 7.....	4
<b>Figure 3:</b> La structure du gène AKR1B1.....	4
<b>Figure 4:</b> Histogramme représentatif du niveau d'expression des RNA-Seq de l'aldose réductase dans différents tissus à l'état normal.....	5
<b>Figure 5:</b> Voie polyol du métabolisme du glucose.....	6
<b>Figure 6:</b> Contribution des aldéhydes dérivés de la peroxydation lipidique dans diverses complications de la maladie.....	8
<b>Figure 7:</b> Représentation schématique de la signalisation médiée par l'aldose réductase(ALR2) dans l'inflammation.....	9
<b>Figure 8:</b> Les types de polymorphismes d'ADN.....	10
<b>Figure 9:</b> Polymorphisme mononucléotidique.....	10
<b>Figure 10:</b> Représentation schématique des polymorphismes du gène AR.....	12
<b>Figure 11:</b> Aldose réductase (AR) dans les maladies humaines.....	12
<b>Figure 12:</b> Méthode de recherche des SNP du gène AKR1B1.....	21
<b>Figure 13:</b> Les étapes de recherche sur NCBI.....	22
<b>Figure 14:</b> Une fiche représentant en bref les informations sur le gène AKR1B1.....	23
<b>Figure 15:</b> Page d'accueil d'UCSC.....	24
<b>Figure 16:</b> Page d'accueil de Table Browser et de paramètres de filtrage des SNPs.....	25
<b>Figure 17:</b> Table permettant la sélection des champs souhaités sur la table.....	25
<b>Figure 18:</b> Les étapes de recherche des SNP sur Ensembl.....	26
<b>Figure 19:</b> Les étapes de recherche sur Galaxy.....	27
<b>Figure 20:</b> Page d'accueil de Table Browser et de paramètres de filtrage des SNPs et transmettre à Galaxy.....	28
<b>Figure 21:</b> Visualisation des variantes en format BED.....	28
<b>Figure 22:</b> Interface de LitVar.....	29
<b>Figure 23:</b> Tableau des rs du gène AKR1B1 filtrés par LitVar.....	29

<b>Figure 24:</b> La liste de tous les SNPs positionnés sur le gène AKR1B1 via Genome Browser.....	31
<b>Figure 25:</b> Liste des références des SNP communs (151) obtenue par UCSC Genome Browser.....	32
<b>Figure 26:</b> Le tableau des variantes montrant les résultats obtenus par Ensembl Browser.....	33
<b>Figure 27:</b> Liste de variantes (rs) obtenus par l’outil Galaxy.....	34
<b>Figure 28:</b> La séquence FASTA (nucléotidique) du gène aldose réductase.....	Annexe 1
<b>Figure 29:</b> La séquence FASTA (protéique) du gène aldose réductase.....	Annexe 1
<b>Figure 30:</b> tableau des rs du gène AKR1B1 filtrés par LitVar.....	Annexe 4

## Liste ses tableaux

<b>Tableau I :</b> Description des molécules biologiques.....	19
<b>Tableau II :</b> Description des outils bioinformatiques.....	20
<b>Tableau III :</b> Références GenBank NCBI du gène humain AKR1B1.....	30
<b>Tableau IV :</b> Signification des couleurs Genome Browser.....	31
<b>Tableau V :</b> Les rs identifiés par l’outil LitVar et leurs associations pathologiques.....	35
<b>Tableau VI :</b> Liste des références (rs) des SNP.....	Annexe2
<b>Tableau VII :</b> Liste des SNP obtenus par Galaxy.....	Annexe3

# **Introduction**

## Introduction

Les cellules contiennent des mutations somatiques, telles que les variantes mono-nucléotidiques (SNP) dans leurs génomes. En effet La variation génétique joue un rôle critique dans la plupart des maladies humaines.

Avec la disponibilité d'ensembles de SNP à l'échelle du génome, il devient possible de rechercher dans le génome une variation génétique qui explique la maladie humaine et d'autres traits.

Aldose réductase , une protéine cytosolique appartient à la superfamille des aldo-kéto réductases (AKR) qui comprend plusieurs enzymes qui catalysent les réactions d'oxydation et de réduction impliquées dans divers processus cellulaires tels que la biosynthèse, la détoxification et le métabolisme (*Barski et al., 2008*).

L'objectif principal de cette étude est le polymorphisme du gène aldose réductase (AKR1B1). L'aldose réductase est l'enzyme limitant la vitesse de la voie des polyols et par conséquent les polymorphismes du gène aldose réductase peuvent être l'un des facteurs qui déterminent la susceptibilité génétique aux complications microvasculaires diabétiques (*Patel et al., 1993; Chung et Chung, 2005*).

Cependant, la réduction du glucose peut ne pas être la fonction physiologique principale d'aldose réductase ; plutôt, cette enzyme peut avoir un rôle antioxydant important.

Il a été démontré que le glucose n'est pas le seul inducteur de l'activation et de l'expression de l'Aldose réductase , mais plutôt que l'aldose réductase est surexprimée dans diverses conditions qui induisent un stress oxydatif et une inflammation (*Ruef et al., 2000; Ramana et al., 2002*).

L'Aldose réductase réduit également un certain nombre d'aldéhydes dérivés de la peroxydation lipidique ainsi que leurs conjugués de glutathion (GSH) ,( *Ramana et al., 2000; Srivastava et al., 2005*) Des études récentes suggèrent qu'en plus de son implication dans les complications diabétiques, l'activité catalytique de l'Aldose réductase joue un rôle clé dans un certain nombre de maladies inflammatoires telles que l'athérosclérose, la septicémie, l'asthme, l'uvéite et le cancer du côlon.

Ainsi, l'inhibition de l'aldose réductase peut servir de nouvelle stratégie thérapeutique pour la prévention et / ou le traitement de maladies inflammatoires.

Les outils bioinformatiques sont apparus comme des méthodes alternatives de détection des SNP dans différentes populations pour différentes maladies telles que le cancer, le diabète, les maladies cardiaques et d'autres troubles génétiques pour aider à une détection rapide, peu coûteuse et de haute précision.

Cette étude s'inscrit dans le cadre de l'étude de différents variantes polymorphiques (SNP) du gène AKR1B1 et de leurs impacts chez l'homme pour comprendre la relation qui existe entre le gène AKR1B1 et les différentes maladies.

Pour cette étude nous avons utilisé des outils bioinformatiques et des bases de données open source pour répondre à la question suivante : quels sont les différents variants polymorphiques (SNP) qui peuvent changer l'expression du gène AKR1B1 et modifier la fonction de la protéine aldose réductase ?

Pour pouvoir couvrir tous les aspects de ce thème, le mémoire a été structuré en trois chapitres :

- ✓ Après une introduction générale, le premier chapitre présente des généralités sur l'aldose réductase et son association aux pathologies chez l'homme.
- ✓ Le deuxième chapitre présente la méthodologie de travail. En décrivant les outils bioinformatiques et les différentes étapes utilisées pour répondre à notre problématique.
- ✓ Le troisième chapitre va rapporter les résultats obtenus ainsi qu'une discussion et analyse des données.

Et enfin les résultats sont récapitulés sous forme d'une conclusion générale avec quelques recommandations pour les futurs travaux de recherches.

# **Chapitre I**

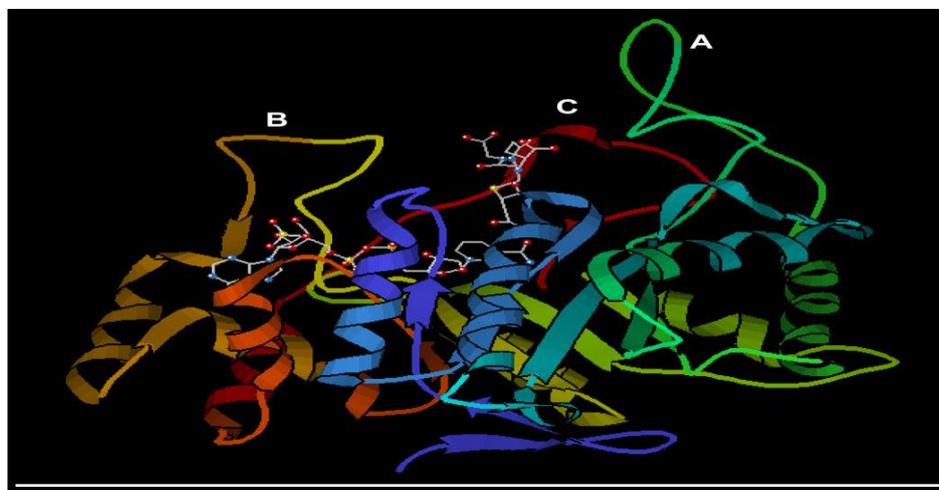
## **Rappel bibliographique**

### 1. Rappel bibliographique

#### 1.1. Aldose réductase (AR) AKR1B1

Connu sous le nom AR; ADR; ALR2; ALDR1. Code pour un membre de la superfamille Aldo / kéto réductase, qui se compose de plus de 40 enzymes et protéines connues. Cet élément catalyse la réduction d'un certain nombre d'aldéhydes, y compris la forme aldéhyde du glucose.

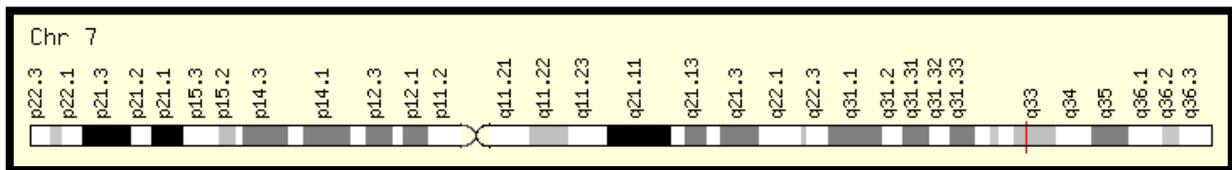
Le site actif d'AR est situé à l'extrémité C-terminale du canon qui est la mieux adaptée pour une interaction efficace avec le NADPH, un cofacteur nécessaire aux réactions de réduction d'AR (**Rowe, 2008**) (**figure 1**). En raison de son rôle potentiel dans la médiation des lésions hyperglycémiques et dans le développement de complications diabétiques secondaires (**Gabbay et al., 1966; Dvornik et al., 1973**), AKR1B1 est de loin le AKR le plus étudié. L'enzyme a été isolée pour la première fois en tant qu'activité de réduction du glucose (**Hamada et al., 1999**). Des études récentes indiquent que le rôle physiologique majeur de la RA pourrait être la réduction des aldéhydes lipidiques générés par le stress oxydatif et de leurs conjugués GSH (**Pandey et al., 2012**).



**Figure 1** : Structure cristalline de l'aldose réductase :La structure a été téléchargée à partir de RCSB Protein Data Bank (ID # 2f2k). Le dessin du ruban est une représentation en vue latérale de la protéine avec NADPH lié au site actif. Les boucles du site actif sont marquées - A, B et C. La structure boule et bâton à la boucle B est la molécule NADPH et la structure à la boucle C'est l'analogue du glutathion 1,2-dicarboxyéthyl glutathion, qui se lie au site de liaison du substrat de l'enzyme (**Barski et al., 2009**).

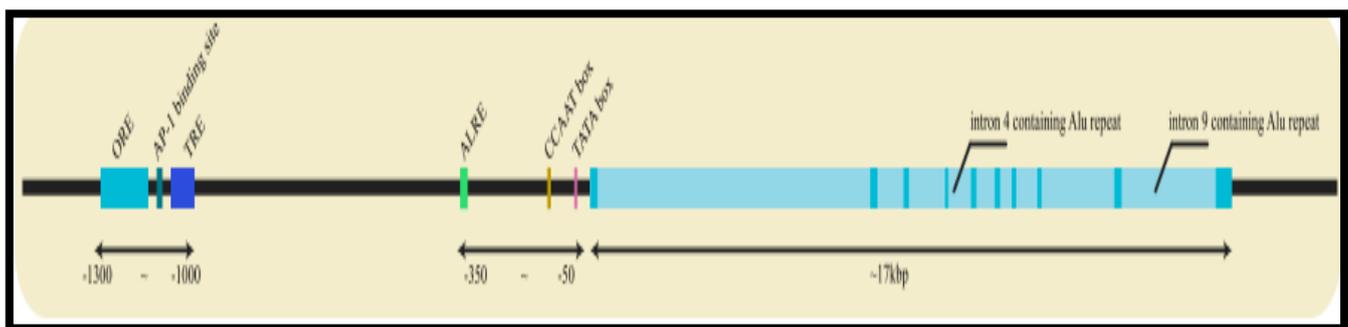
### 1.1.1. Emplacement et structure du gène AKR1B1

Le gène AKR1B1 situé sur 7q33 (**figure 2**) a une longueur de 18 kb et son transcrit codant contient 10 exons (Graham *et al.*, 1991). Son transcrit d'ARNm a une longueur de 1384 nucléotides et code une protéine de 316 acides aminés. En plus d'une boîte TATA (TATTTA) à -37 et une boîte CCAAT à -104 dans le promoteur, le gène AKR1B1 contient deux répétitions Alu dans l'intron 1 et deux répétitions Alu dans l'intron 4 et 9, respectivement. Un élément de réponse de type androgène est également situé entre 396 et 382 nucléotides en amont du gène (Graham *et al.*, 1991; Wang *et al.*, 1993). Trois éléments de réponse osmotique (OreA, OreB et OreC) se trouvent à environ 1 kb en amont du site de début de transcription dans une région de 132 pb (Ko *et al.*, 1997). Un site de liaison de la protéine activatrice 1 (Ap-1) est positionné à environ 1100 pb en amont du gène (Wang *et al.*, 1993). L'élément récepteur thyroïdien (TRE) est situé dans la région de 1099 à 1028 en amont du site de début de transcription (**Figure 3**) (Khayami *et al.*, 2020).



**Figure 2 :** Localisation du gène AKR1B1 au niveau du chromosome 7.

<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=AKR1B1>



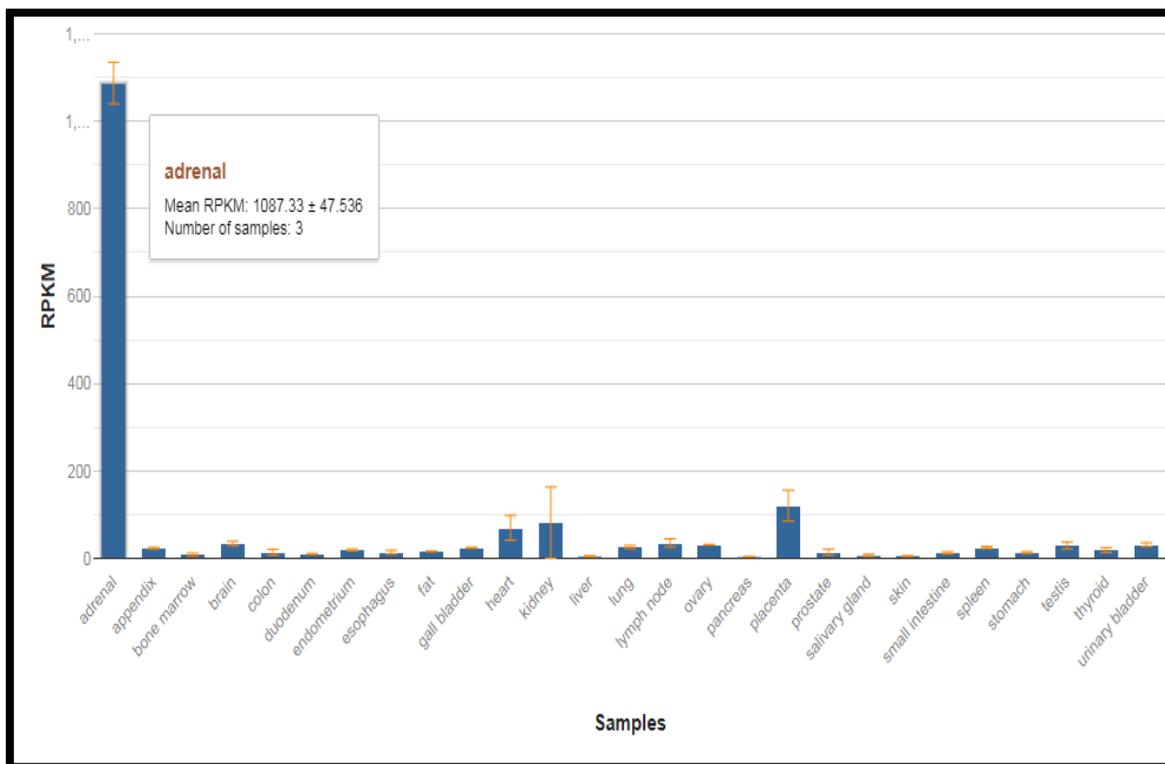
**Figure 3:** La structure du gène AKR1B1 (Khayami, Hashemi and Kerachian, 2020).

### 1.1.2. Expression du gène AKR1B1

L'expression d'AKR1B1 a été initialement détectée en utilisant un master blot d'ARN dans la glande surrénale humaine (*Hyndman et Flynn, 1998*). Plus récemment, des expériences d'immunohistochimie nous ont permis d'attribuer AKR1B1 au compartiment cortical de la glande (*Lambert-Langlais et al., 2009*).

L'ARN-seq a été effectué à partir d'échantillons de tissus de 95 individus humains représentant 27 tissus différents afin de déterminer la spécificité tissulaire de tous les gènes codant pour les protéines (**figure4**).

La RA est largement distribuée dans de nombreux tissus. La RA est également abondante dans le nerf sciatique humain, le cristallin, les testicules, le cœur et la cornée, avec des concentrations moindres dans le foie, le cortex rénal, l'estomac, la rate, les poumons, l'intestin grêle et le côlon (*Markus et al., 1983*).



**Figure4** : histogramme représentatif du niveau d'expression des RNA-Seq de l'aldose réductase dans différents tissus à l'état normal.

( <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/231>)

### 1.1.3. Activités enzymatiques de l'aldose réductase

#### 1.1.3.1. Activité de réduction du glucose

L'aldose réductase (AKR1B1; AR) est une enzyme cytosolique monomère dépendante du NADPH qui appartient à une superfamille d'aldo-kéto réductases (AKR). L'histoire de la RA a commencé il y a 5 décennies lorsqu'elle a été identifiée pour la première fois comme une protéine ayant une activité de réduction du glucose (*Hers, 1956*).

La voie polyol se compose de 2 réactions catalysées par 2 enzymes respectives (*Kador et Kinoshita, 1985; LEE et CHUNG, 1999; Chung et al., 2003*). Comme le montre la (**figure 5**), la première réaction est la réduction du glucose en sorbitol, qui est catalysée par l'aldose réductase (AR). Cette réaction est la réaction limitant la vitesse dans cette voie et convertit également le NADPH en NADP<sup>+</sup>. La deuxième réaction convertit le sorbitol en fructose et est catalysée par le sorbitol déshydrogénase, qui fait du NADH à partir de NAD<sup>+</sup>. Ainsi, les produits globaux de la voie des polyols sont le sorbitol, le fructose et le NADH (*Yan, 2018*).



**Figure 5 : Voie polyol du métabolisme du glucose :** Dans la voie des polyols, l'aldose réductase (AR) catalyse la réduction du glucose en sorbitol. Le sorbitol est converti en fructose par le sorbitol déshydrogénase. Les deux étapes nécessitent NADPH et NAD<sup>+</sup> comme cofacteurs (*Rowe, 2008*).

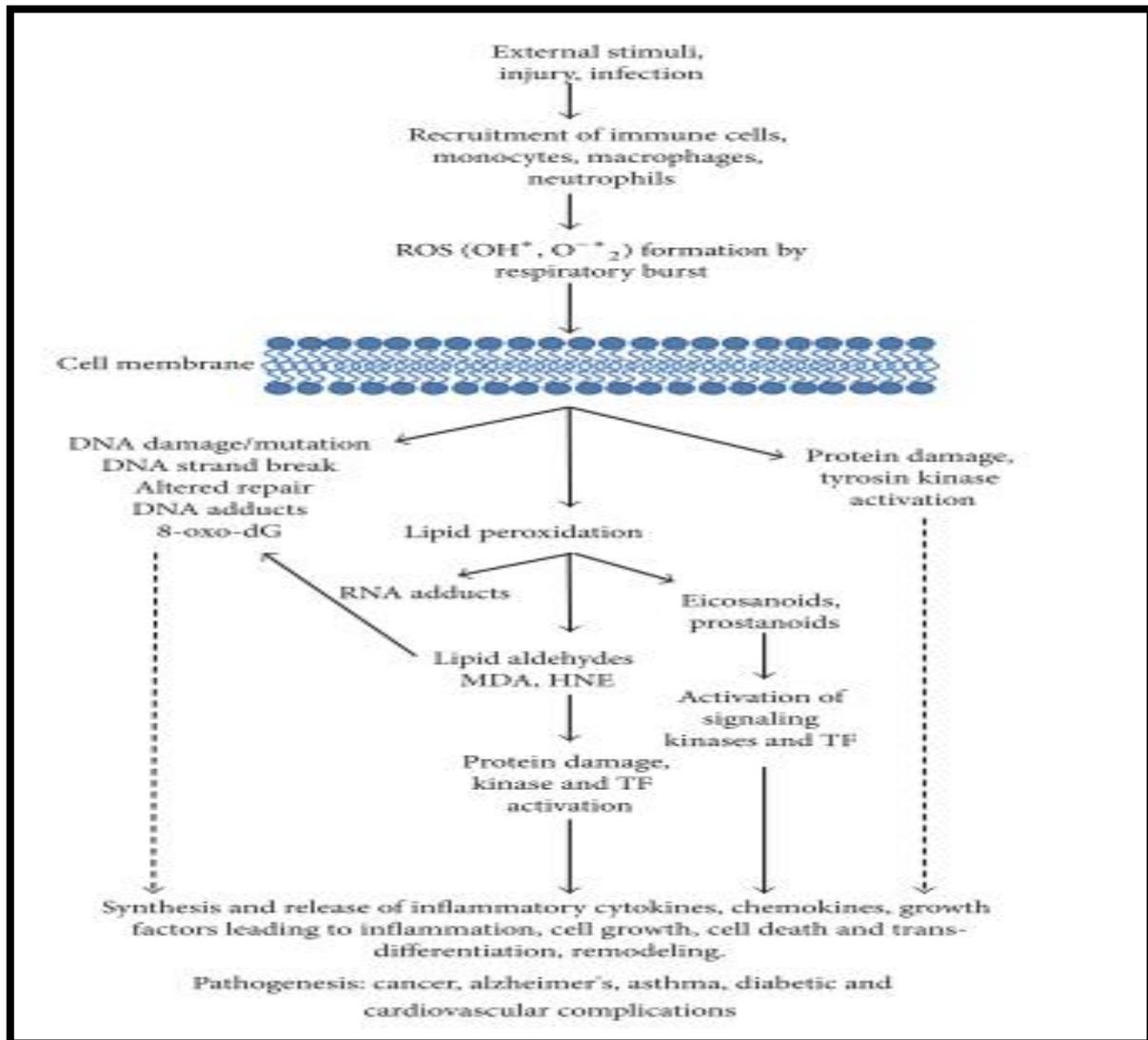
### 1.1.3.2. Réduction des aldéhydes toxiques

La fonction principale de la RA est non seulement de métaboliser le glucose, mais aussi de catalyser la réduction d'un large éventail de substances, y compris les aldéhydes lipidiques générés au cours de la peroxydation des lipides et leurs conjugués de glutathion (GSH), phospholipides, aldéhydes athérogènes et stéroïdes (*Srivastava et al., 2005*).

Les aldéhydes dérivés de la peroxydation lipidique (LDA) ont été impliqués dans un certain nombre de pathologies inflammatoires induites par le stress oxydatif telles que le diabète, le syndrome métabolique, la dégénérescence vasculaire et neurale, la toxicité hépatique et rénale, le cancer, la rétinopathie de la prématurité, le vieillissement et l'ischémie (*McCracken et al., 2001; Pillon et al., 2012*).

Les cellules eucaryotes ont évolué de manière évolutive pour moduler les niveaux d'oxydant de manière très efficace en maintenant des niveaux d'antioxydants suffisants, en induisant une nouvelle expression génique et en modifiant les protéines, et en régulant étroitement leur statut redox dans une plage étroite (*Valko et al., 2007*).

Cependant, en cas d'exposition persistante aux oxydants et autres agents toxiques, des ROS excessifs sont produits qui sont capables de causer des dommages oxydatifs aux biomacromolécules tels que la peroxydation des lipides membranaires, oxydation des squelettes polypeptidiques entraînant une fragmentation des protéines, des dommages à l'ADN et des ruptures de brins d'ADN (**figure 6**) (*Vuillaume, 1987; Berlett et Stadtman, 1997*).



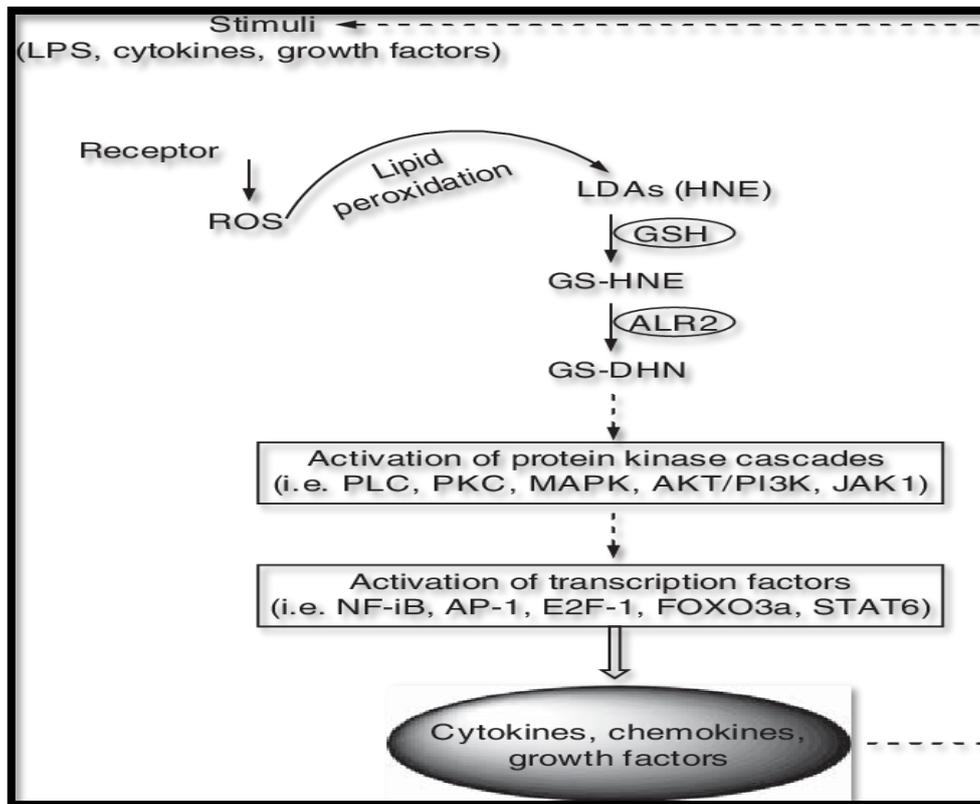
**Figure 6 :** Contribution des aldéhydes dérivés de la peroxydation lipidique dans diverses complications de la maladie (*Yadav et Ramana, 2013*).

#### 1.1.4. Régulation de l'aldose réductase

##### 1.1.4.1. Régulation cellulaire médiée par NF- $\kappa$ B

NF- $\kappa$ B est une famille de facteurs de transcription qui régulent l'expression de nombreux gènes et jouent un rôle important dans les réponses immunitaires, au stress, l'inflammation et l'apoptose. Divers agents pathogènes, oxydants, cytokines, chimiokines et facteurs de croissance via des récepteurs spécifiques ou le stress oxydatif général induisent les signaux moléculaires qui conduisent finalement à l'activation d'un facteur de transcription sensible à l'oxydoréduction NF- $\kappa$ B (*Grossmann et al., 1999*). Une fois activé, le NF- $\kappa$ B pénètre dans le noyau où il se lie à la séquence de liaison à l'ADN  $\kappa$ B et transcrit divers gènes pour les cytokines, les chimiokines et d'autres marqueurs inflammatoires (**figure7**). L'expression d'un

grand nombre de gènes impliqués dans l'apoptose, la croissance cellulaire, la survie, la différenciation et la réponse immunitaire est régulée par NF- $\kappa$ B, qui est associée à un éventail de maladies telles que les maladies auto-immunes, le cancer et les maladies inflammatoires (*Yadav et Ramana, 2013*).



**Figure 7 : Représentation schématique de la signalisation médiée par l'aldose réductase (ALR2) dans l'inflammation :** Les stimuli tels que le LPS, les cytokines et les facteurs de croissance initient la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), provoquant la peroxydation des lipides et la formation d'aldéhydes dérivés des lipides (LDA), tels que le 4-hydroxy-2-nonéal (HNE). Les LDA hautement réactifs sont facilement conjugués avec le glutathion (GSH) formant des adduits de GSH tels que le GS-HNE. Ensuite, ALR2 réduit efficacement GS-HNE en glutathionyl-1,4-dihydroxynonanol (GS-DHN). Le GSDHN est considéré comme une molécule de signalisation qui active éventuellement les cascades de protéines kinases, qui conduisent à l'activation de facteurs de transcription sensibles à l'oxydoréduction et à la transcription de médiateurs inflammatoires tels que les cytokines, les chimiokines et les facteurs de croissance (*Chatzopoulou et al., 2013*).

AP-1: Activation protein 1; FOXO3a: Forkhead box O3a; JAK1: Janus kinase 1; MAPK: Mitogen-activated protein kinase; NF- $\kappa$ B: Nuclear factor kappa-B; PI3K: Phosphoinositide 3-kinase; PKC: Protein kinase C; PLC: Phospholipase C; STAT: Signal transducer and activator of transcription.

## 1.2. Polymorphismes

Les polymorphismes d'ADN sont des variations génétiques omniprésentes parmi les individus et comprennent les polymorphismes mononucléotidiques (SNP), les insertions et délétions (indels) et d'autres réarrangements plus importants (*Feuk et al., 2006; Mitchell-Olds et Schmitt, 2006*) (Figure 8). Ils peuvent avoir des conséquences phénotypiques et également servir de marqueurs moléculaires pour les analyses génétiques, facilitant les études de liaison et d'association des maladies génétiques et d'autres traits chez l'homme (*Stankiewicz et Lupski, 2002, 2010*) animaux, plantes, et d'autres organismes (*Johanson et al., 2000; Krieger et al., 2010*).

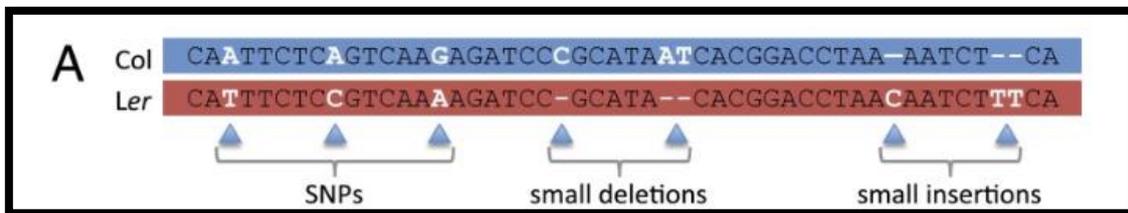


Figure 8 : les types de polymorphismes d'ADN (*Qi et al., 2014*).

### 1.2.1. Polymorphisme mononucléotidique (SNP ou snip)

Les SNP sont une sous-classe de variations de séquence, englobant les échanges à base unique, les suppressions à base unique et les insertions à base unique. On suppose que 90% de toutes les variantes de séquences humaines sont des SNP et qu'elles se produisent en moyenne toutes les 100 à 300 bases. Les SNP sont donc la principale source d'hétérogénéité génétique humaine (*Thomas et al., 2011*).

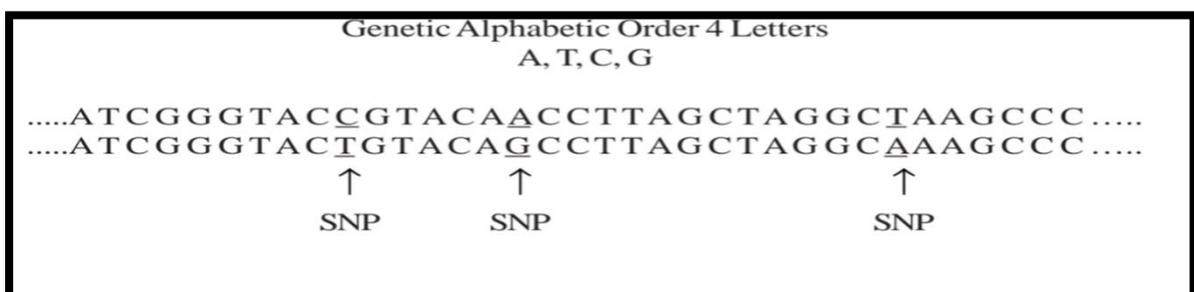


Figure 9 : polymorphisme mononucléotidique (*Sripichai et Fucharoen, 2007*).

### 1.2.2. Types de SNP

Les SNP peuvent tomber dans des séquences codantes de gène, ou des régions non codantes de gène, ou dans les régions intergéniques (régions entre gènes).

- Les SNP dans la région codante du gène sont divisés en deux types: les SNP synonymes et non synonymes.

**Les SNP synonymes :** ne modifient pas la séquence d'acides aminés de la protéine ou n'affectent pas la fonction protéique.

**Les SNP non synonymes :** sont divisés en deux types: faux sens et non-sens.

Un SNP faux-sens, un changement de nucléotide unique entraîne un codon qui code pour un acide aminé différent, entraînant un dysfonctionnement des protéines. Pour un non-sens, une mutation ponctuelle dans une séquence d'ADN qui se transforme en codon d'arrêt entraîne un produit protéique non fonctionnel.

-Les SNP qui se trouvent dans les régions non codantes du gène ou dans les régions intergéniques peuvent affecter l'épissage des gènes (SNP au niveau de la région intron), liaison au facteur de transcription (SNP dans une région non traduite en 5'), dégradation de l'ARN messager ou séquence d'ARN non codant.

- Le type des SNPs situés en amont ou en aval du gène qui affectent l'expression des gènes est appelé SNP d'expression (eSNP) (*Fajardo et al., 2016*).

### 1.2.3. Polymorphismes du gène AR

Les polymorphismes génétiques associés au gène ALD2 humain ont été liés à des complications diabétiques. Le premier polymorphisme microsatellite signalé était une région répétée (AC)<sub>n</sub> située à ~ 2,1 kb en amont du site de début de transcription. Deux polymorphismes mononucléotidiques (SNP) ont été détectés dans la région du promoteur basal du gène ALD2, C (-106) T et C (-12) G. De plus, un site BamHI consistant en une substitution de A à C a été signalé au 95<sup>ème</sup> nucléotide de l'intron 8. Les polymorphismes (AC)<sub>n</sub> et C (-106) T sont étroitement liés, mais leurs effets peuvent être distingués dans différentes populations de patients (*Mara et Oates, 2008*).



### **1.3.1. Asthme**

La prévalence de l'asthme, un trouble inflammatoire complexe des voies respiratoires, augmente à l'échelle mondiale. L'asthme est une maladie complexe qui présente à la fois une forte sensibilité génétique et une influence environnementale. Au cours des dernières décennies et des études épidémiologiques ont révélé que l'endotoxine a des impacts notables sur les maladies allergiques. L'endotoxine a été impliquée dans l'augmentation de la formation de ROS et de radicaux libres lors de l'exposition à des polluants environnementaux inhalés. L'inhibition de la RA a récemment été démontrée pour prévenir l'inflammation allergique des voies respiratoires et l'asthme (*Pandey et al., 2012*).

### **1.3.2. L'uvéite**

L'uvéite est un syndrome de réponse inflammatoire systémique, qui se caractérise par une production excessive de cytokines inflammatoires en réponse à des infections bactériennes. De plus, la nature récurrente de l'uvéite peut entraîner certaines conditions menaçant la vue telles que les cataractes, le glaucome et même la cécité. L'uvéite induite par les endotoxines est généralement considérée comme une inflammation de l'uvée antérieure, avec quelques modifications du segment postérieur (vitré et rétine). Il a été démontré que les souris AR nulles protégeaient contre l'uvéite induite par les endotoxines, confirmant le rôle définitif de la RA dans les complications inflammatoires oculaires induites par les endotoxines (*Pandey et al., 2012*).

### **1.3.3. la septicémie**

Pendant la septicémie et le syndrome de réponse inflammatoire systémique (SIRS) associé, les agents chimiques ou biologiques (bactériens et viraux) provoquent une toxicité sévère en augmentant le stress oxydatif. La réponse inflammatoire aiguë non contrôlée peut entraîner des lésions tissulaires étendues et défaillance d'organes multiples. Des études ont indiqué que les effets toxiques de l'inflammation incontrôlée peuvent être efficacement prévenues ou considérablement améliorées par l'inhibition de la RA (*Ramana, 2011*).

### **1.3.4. le cancer**

Le cancer du côlon est la troisième forme de cancer la plus courante et la deuxième cause de décès liés au cancer dans les pays occidentaux. Des études récentes indiquent que l'inflammation joue un rôle majeur dans le côlon carcinogène. Les résultats de nos enquêtes ont établi le rôle de la RA dans la signalisation cancérogène induite par les facteurs de croissance et les cytokines, et a fourni de nouvelles perspectives dans le rôle physiologique de

cette enzyme dans la mitogénicité des cellules cancéreuses du côlon ainsi que inflammation associée à la carcinogénèse du côlon. Nos études récentes indiquent que la signalisation induite par ROS qui active NF- $\kappa$ B et transcrit les gènes responsables de la tumeur la progression est empêchée par l'inhibition de l'AR dans les cellules cancéreuses humaines du côlon (*Ramana, 2011*).

### **1.3.5. L'athérosclérose**

Est une maladie inflammatoire chronique résultant de l'interaction entre les lipoprotéines modifiées et divers types de cellules du sang et de la paroi vasculaire, y compris les monocytes et les macrophages, les plaquettes et les cellules musculaires lisses vasculaires. Outre l'inflammation, le développement de la plaque athérosclérotique implique la modulation phénotypique des cellules musculaires lisses vasculaires en cellules proliférantes et différenciées. En revanche, la resténose est le processus de rétrécissement luminal dans une artère athérosclérotique après une intervention intra-artérielle, comme l'angioplastie par ballonnet et la mise en place d'un stent. Les caractéristiques de la resténose comprennent la migration et la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires et l'accumulation de matrice extracellulaire. Les inhibiteurs de La RA ont été impliqués dans le retard et / ou la prévention de l'apparition de complications cardiovasculaires majeures telles que les lésions ischémiques, la resténose et l'athérosclérose (*Pandey et al., 2012*).

### **1.3.6. Le diabète**

Le diabète par définition peut être regroupé en deux types majeurs: le diabète de type 1 appelé aussi diabète insulino-dépendant qui est causé par la destruction des cellules bêta du pancréas, d'où l'incapacité de la personne atteinte à sécréter de l'insuline ; le diabète de type 2 appelé aussi diabète sucré, qui se caractérise par une résistance à l'insuline et qui se traduit par l'élévation chronique de la concentration de glucose dans le sang (hyperglycémie). Dans la majorité des cas, le diabète est associé à un ensemble d'anomalies regroupé sous le vocable de syndrome métabolique qui représente un risque majeur de morbidité .Le diabète est incurable, l'absence d'un traitement efficace peut causer différentes complications: à savoir la rétinopathie; la néphropathie, les cardiopathies et les amputations, d'où la nécessité d'un traitement à vie (*Lotfi , Z et al., 2017*).

### **1.4. Conséquences physiopathologiques du polymorphisme d'ALR**

**1.4.1. La rétinopathie diabétique :** est une complication potentiellement aveuglante du diabète sucré. Les raisons de la perte de vision sont la maculopathie diabétique et les complications de la rétinopathie diabétique proliférative (PDR) telles que l'hémorragie vitréenne, le décollement de la rétine tractionnelle et le glaucome néovasculaire (*Nentwich, 2015*)

**1.4.2. La néphropathie diabétique (DN) :** est une complication majeure associée au diabète de type 1 et de type 2 (T1DM et T2DM, respectivement) et est la principale cause d'insuffisance rénale terminale (IRT) (*Dias et al., 2019*). La DN suit des phases distinctes, dans lesquelles l'hyperfiltration glomérulaire est suivie d'un déclin implacable de la fonction rénale (*Modafferi et al., 2019*).

**1.4.3. La neuropathie diabétique :** La neuropathie, ou lésion des nerfs du système nerveux périphérique, est une maladie débilitante mais étonnamment commune et complexe. Sa prévalence est supérieure à 2% dans la population générale (*Savettieri et al., 1993*) et à environ 15% chez les plus de 40 ans (*Ngelgau, 2004*). De loin, la cause la plus fréquente de neuropathie est le diabète (*Johannsen et al., 2001*).

# **Chapitre II**

## **Matériels et méthodes**

Ce présent travail est une thématique proposé par Mme Eddaikra qui s'est déroulé pendant la période de confinement liée à la pandémie covid19 du mois d'Avril jusqu'au mois de juillet 2020.

Rappelons que notre objectif principal était l'étude du polymorphisme du gène Aldose Réductase (AKR1B1) et ses associations pathologiques chez l'homme en utilisant les bases de données internationales et les outils bio-informatique open source.

Notre étude *in silico* est basée sur l'utilisation des bases de données protéomique et génomique des bases de données open source.

Nous tenons à préciser que le suivi de notre formation par notre promotrice s'est réalisé par visioconférence pendant la durée de confinement.

### **2.1. Matériel**

#### **2.1.1 Matériel biologique**

Pour répondre à notre problématique, nous avons adopté une méthodologie *in silico* basée sur l'interrogation de bases de données open source : NCBI, UCSC Genome Browser, le navigateur du génome Ensembl et Galaxy.

Les références et identifiants des séquences moléculaires (refseqgene) du gène AKR1B1 (aldo-keto reductase family 1 member B1 isoform 1) que nous avons utilisées dans notre étude *in silico* sont présentés dans le tableau I.

Nous avons utilisé des séquences nucléotidiques transcrites et protéiques (format Fasta), ce format nous a permis de retrouver par la suite les SNP avec leurs rs (références snip) associés aux différentes pathologies.

**Tableau I :** Description des molécules biologiques.

<i>NCBI Reference Sequence</i>	NA	ID	Format	Source	Nbp	Exon	Début et fin de la séquence
<b>AKR1B1</b> (refseqgene) DNA	NM_001628.4	231	Fasta	NCBI (GenBank)	16890 bp	10	Chr7 : 134442350 - 134459239
<b>AKR1B1</b> (refseqproteine) Protéine	NP_001619.1	/	Fasta	NCBI (GenBank)	316 aa	/	/

**NA :** Numéro d'accension

**ID :** Identifiant

**Nbp :** Nombre de Paire de Bases

### 2.1.2. Matériel non biologique

Pour l'analyse de nos échantillons moléculaires nous avons utilisé des interfaces web, des logiciels, des softwares qui se base sur des algorithmes. Ces outils bio-informatiques sont répertoriés dans le tableau II.

**Tableau II** : Description des outils bio-informatiques.

Bases de données	But d'utilisation	url
NCBI	Recherche de séquences et études cliniques	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/</a>
UCSC genome browser	Visualisation du gène	<a href="https://genome.ucsc.edu/">https://genome.ucsc.edu/</a>
Ensembl	crée une annotation factuelle des séquences du génome et intègre ces données avec d'autres informations biologiques.	<a href="https://www.ensembl.org/index.html">https://www.ensembl.org/index.html</a>
Usegalaxy	Analyse des reads des séquences RNAseq et recherche des snp	<a href="https://usegalaxy.org/">https://usegalaxy.org/</a>
Varsome	l'annotation, la recherche de variantes génomiques humaines et le partage de connaissances sur des variantes spécifiques.	<a href="https://varsome.com/">https://varsome.com/</a>
LitVar	la recherche et la récupération d'informations pertinentes sur les variantes	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/CBBresearch/Lu/Demo/LitVar/#!?query=">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/CBBresearch/Lu/Demo/LitVar/#!?query=</a>

2.1.3. Outils bio-informatiques

2.2 Méthodes

Le protocole de notre étude est schématisé en organigramme par la figure ci-dessous.

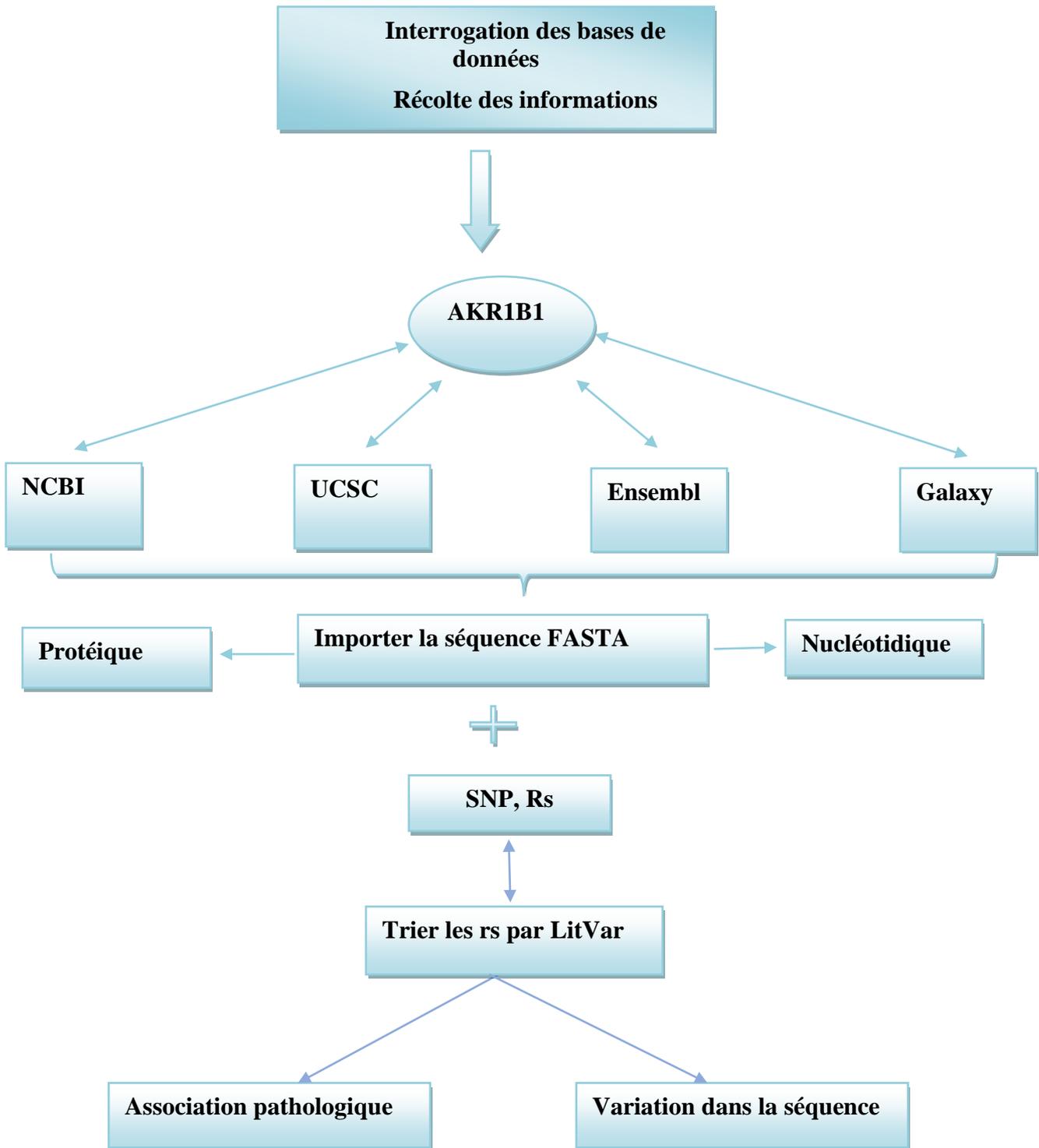


Figure12 : Méthode de recherche des SNP du gène AKR1B1.

## 2.2.1. Interrogation des bases de données

### 2.2.1.1. Outil NCBI

**Principe :** L'initiation de notre travail a sollicité l'Interrogation de la base de données NCBI (*National Center for Biotechnology Information*), <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>, qui fournit une large gamme de ressources en ligne pour les informations et données biologiques, y compris la base de données de séquences d'acides nucléiques GenBank et la base de données PubMed de citations et de résumés pour les revues publiées sur les sciences de la vie (*Agarwala et al., 2018*).

### Méthode

-Accéder à <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

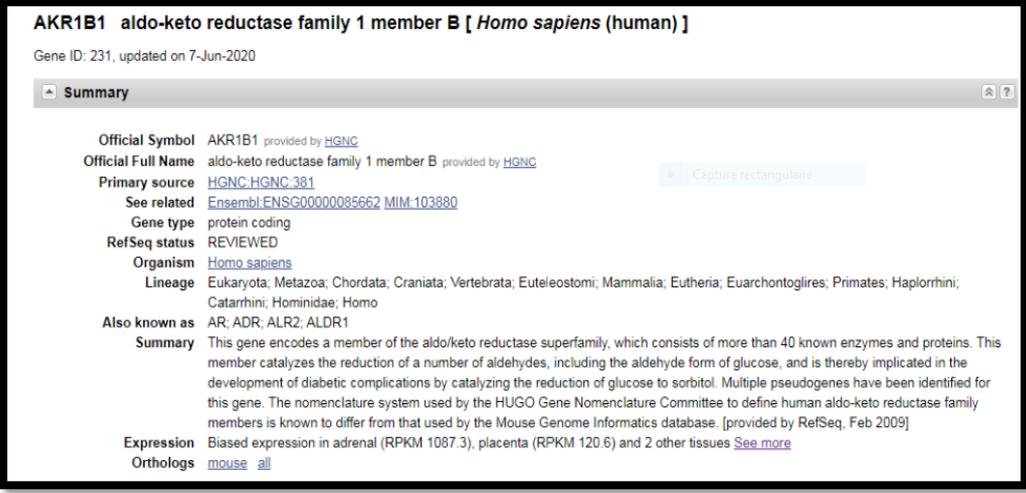
-Lancer la recherche en introduisant notre mot clé caractérisé par le symbole de notre gène « AKR1B1 ».

-Aller à « **Gene** », choisir « AKR1B1 Homosapiens »

Name/Gene ID	Description	Location	Aliases	MIM
<input type="checkbox"/> <b>AKR1B1</b> ID: 231	aldo-keto reductase family 1 member B [ <i>Homo sapiens</i> (human)]	Chromosome 7, NC_000007.14 (134442350..134459239, complement)	ADR, ALDR1, ALR2, AR	103880
<input type="checkbox"/> <b>Akr1b1</b> ID: 24192	aldo-keto reductase family 1 member B [ <i>Rattus norvegicus</i> (Norway rat)]	Chromosome 4, NC_005103.4 (61706866..61720959, complement)	ALDRED, ALR-P-I, Akr1b3, Akr1b4, Aldr1, Alr, RATALDRED	

**Figure 13 :** Les étapes de recherche sur NCBI.

-Une fiche du gène va s'afficher renferme de nombreuses informations sur le gène



The image shows a screenshot of a gene summary page for AKR1B1. The title is "AKR1B1 Aldo-keto reductase family 1 member B [ Homo sapiens (human) ]". Below the title, it says "Gene ID: 231, updated on 7-Jun-2020". There is a "Summary" tab selected. The main content area lists various attributes: Official Symbol (AKR1B1), Official Full Name (aldo-keto reductase family 1 member B), Primary source (HGNC:HGNC:381), See related (Ensembl:ENSG00000085662, MIM:103880), Gene type (protein coding), RefSeq status (REVIEWED), Organism (Homo sapiens), Lineage (Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Euarchontoglires; Primates; Haplorrhini; Catarrhini; Hominidae; Homo), Also known as (AR; ADR; ALR2; ALDR1), Summary (This gene encodes a member of the aldo/keto reductase superfamily...), Expression (Biased expression in adrenal (RPKM 1087.3), placenta (RPKM 120.6) and 2 other tissues), and Orthologs (mouse, all). There is a "Capture rectangulaire" button on the right side of the page.

**Figure 14 :** Une fiche représentant en bref les informations sur le gène AKR1B1.

### 2.2.1.1. Recherche des polymorphismes « SNP »

Il existe plusieurs possibilités pour accéder au polymorphisme du gène d'intérêt « AKR1B1 » plus particulièrement les SNP.

Afin de répondre à notre problématique nous avons choisi trois possibilités : UCSC, Ensembl, et Galaxy.

### 2.2.1.2. Outil UCSC

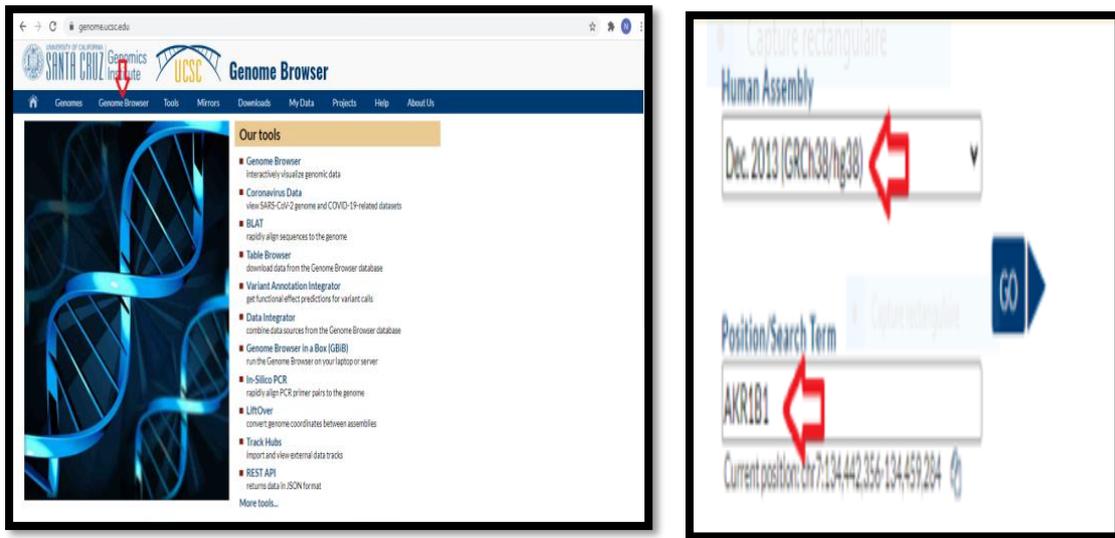
**Principe :** Le site Web Genome Bioinformatics de l'Université de Californie à Santa Cruz (UCSC) à l'adresse <https://genome.ucsc.edu/> fournit des liens vers divers outils d'analyse du génome, notamment l'UCSC Genome Browser (*Kent, 2002; Kuhn et al., 2009*), un outil graphique permettant de visualiser une région spécifiée d'un génome et une collection de « pistes » d'annotations alignées. Un autre outil du site Web - le navigateur de tables UCSC - fournit un accès pratique aux tables de la base de données MySQL (*Karolchik et al., 2003*) sous-jacente aux annotations du navigateur Genome. Les deux navigateurs prennent en charge une fonction de pistes d'annotations personnalisées qui permet aux utilisateurs de télécharger leurs propres données à des fins d'affichage et de comparaison.

### Méthode

-Accéder à <https://genome.ucsc.edu/>

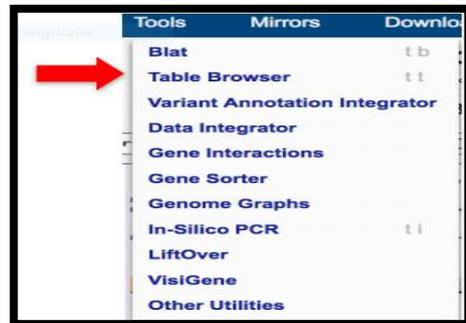
-Récupérer une liste de SNP communs du gène AKR1B1

- Accéder au locus du gène AKR1B1 à l'aide du champ de recherche

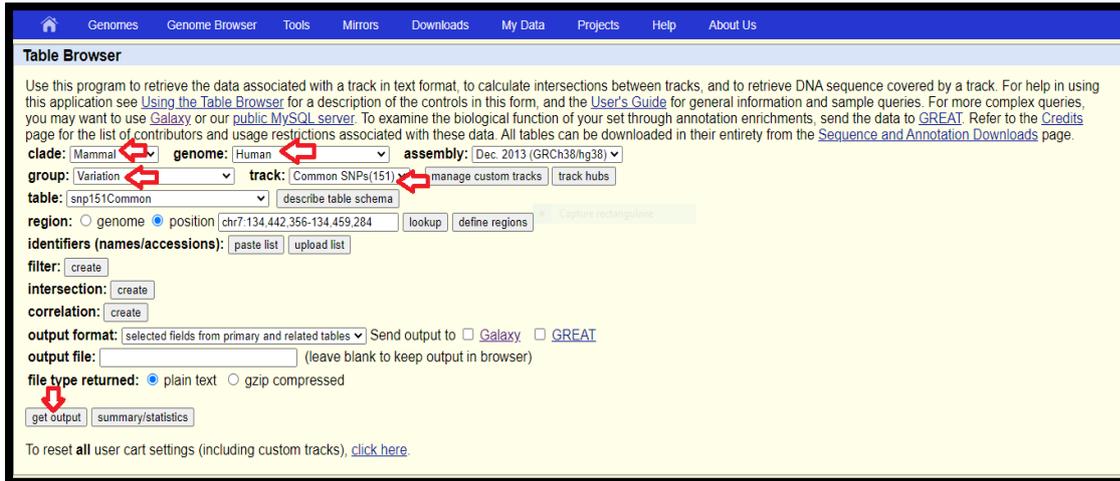


**Figure 15:** Page d'accueil d'UCSC.

- Aller dans “**Tools**” puis “**Table Browser**”.
- Sélectionner:
  - Assembly : GRCh38/hg38
  - Group : Variation
  - Track : Common SNPs(151)
  - Table : snp151Common
  - Region : position (ces coordonnées seront la position du gène AKR1B1)
  - Appuyer sur “**get output**”
  - Pour limiter à quelques colonnes, revenez en arrière et choisissez:



Output format: “selected fields from primary and related tables”

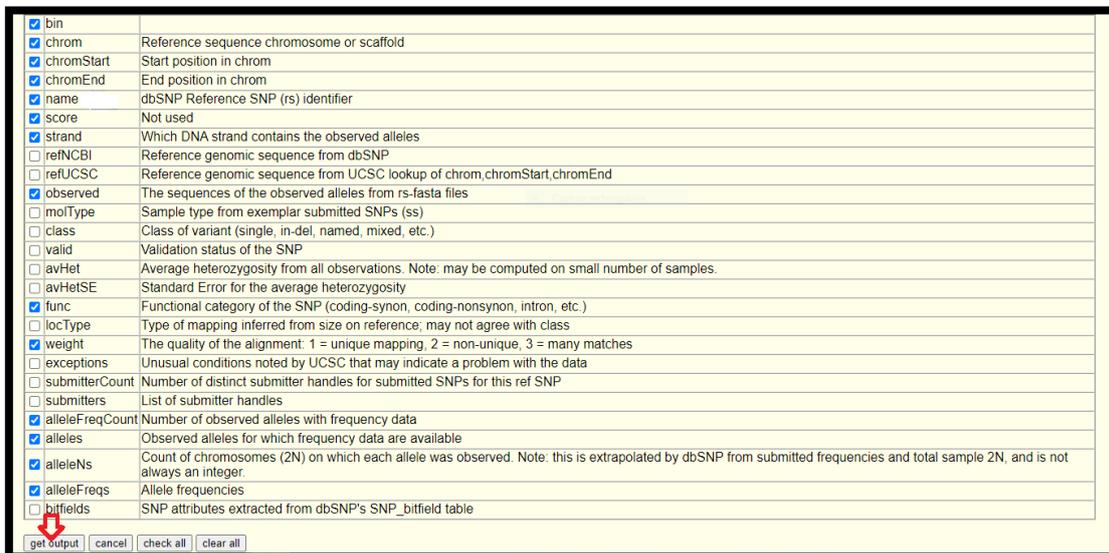


**Figure 16:** Page d'accueil de Table Browser et de paramètres de filtrage des SNPs.

-Une deuxième table apparaît

-Sélectionner uniquement ces champs: bin, chrom, chromStart, chromEnd, name, score, observed, valid, func, alleleFreqCount, alleleFreqs.

-Appuyer sur “get output”



**Figure 17 :** Table permettant la sélection des champs souhaités sur la table.

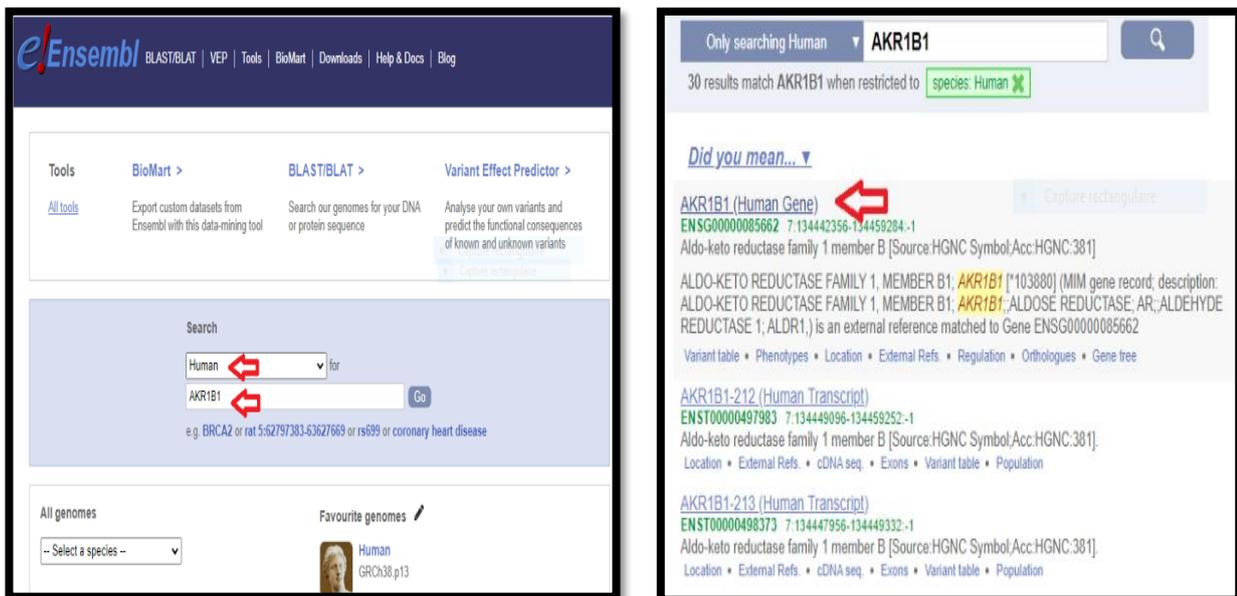
## 2.2.1.3. Outil Ensembl Genome Browser

**Principe :** Le projet Ensembl (<https://www.ensembl.org/index.html>) a été initialement lancé en 1999 dans le but de développer des méthodologies pour l'annotation automatique de la séquence génomique (humaine) avec les gènes et leurs transcrits constitutifs. Ce navigateur nous permet de filtrer les données des SNP codants : promoteur \ exon du gène AKR1B1 (*Xenbase et al., 2018*).

### Méthode

-Pour commencer : Tapez "AKR1B1" dans la boîte de recherche sur la page d'accueil <https://www.ensembl.org/index.html> puis choisir l'espèce Human et cliquez sur "Go".

Cela va générer une page de résultats de recherche avec "AKR1B1 (Human Gene)" comme premier hit, Cliquer sur le lien du titre pour accéder directement à l'onglet "Gene AKR1B1"



-Cliquer sur "Variant table" dans le menu de Gauche pour obtenir un tableau décrivant toutes les variantes dans les régions du gène AKR1B1 Avec de nombreuses options de filtrage.



**Figure 18 :** Les étapes de recherche des SNPs sur Ensembl.

## 2.2.1.4. Outil Galaxy

**Principe :** Galaxy <https://usegalaxy.org/> est conçu comme un ensemble de composants logiciels distincts qui fonctionnent ensemble pour effectuer des tâches (*Giardinet al., 2005*). Galaxy est utilisé pour l'expression des gènes, l'assemblage du génome protéomique, épigénomique, transcriptomique, et une foule d'autres disciplines dans les sciences de la vie.

### Méthode

- Accéder à Galaxy par le lien <https://usegalaxy.org/>
- Une liste d'outils "Tools" s'affiche sur la page d'accueil.
- Cliquer sur "Get Data"
- Puis cliquer sur " UCSC Main table browser"

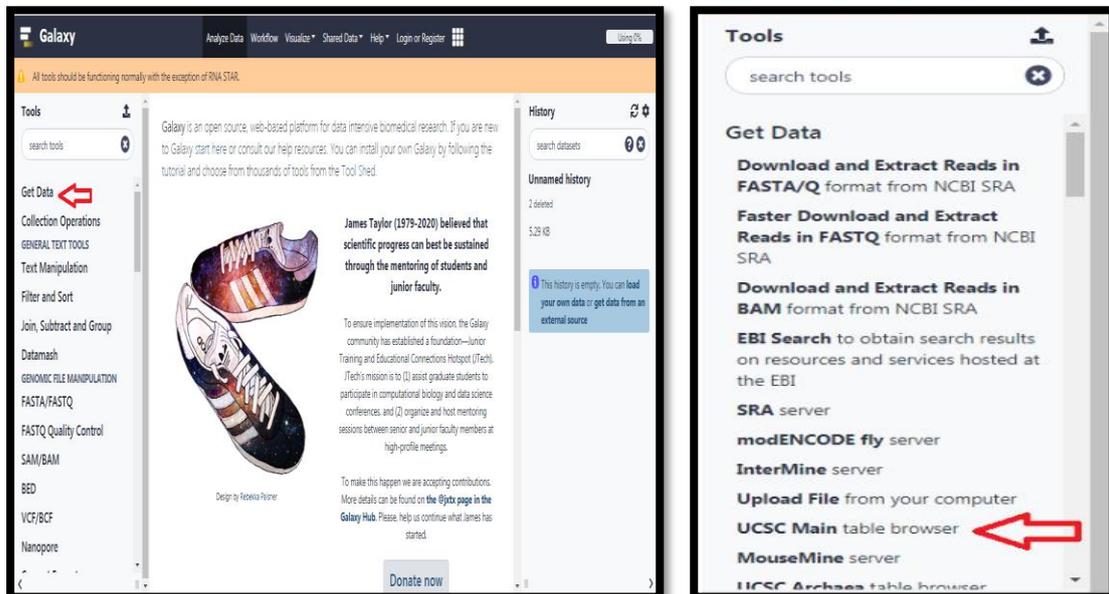
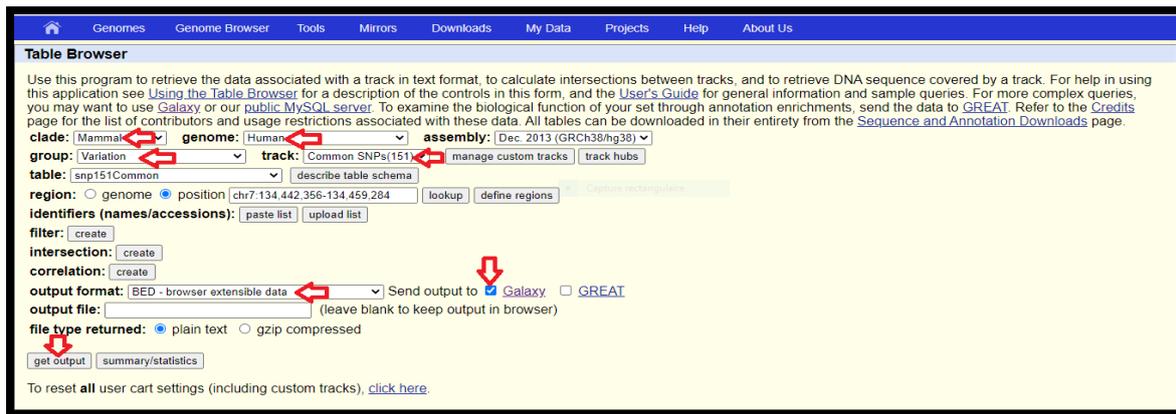


Figure 19 : Les étapes de recherche sur Galaxy.

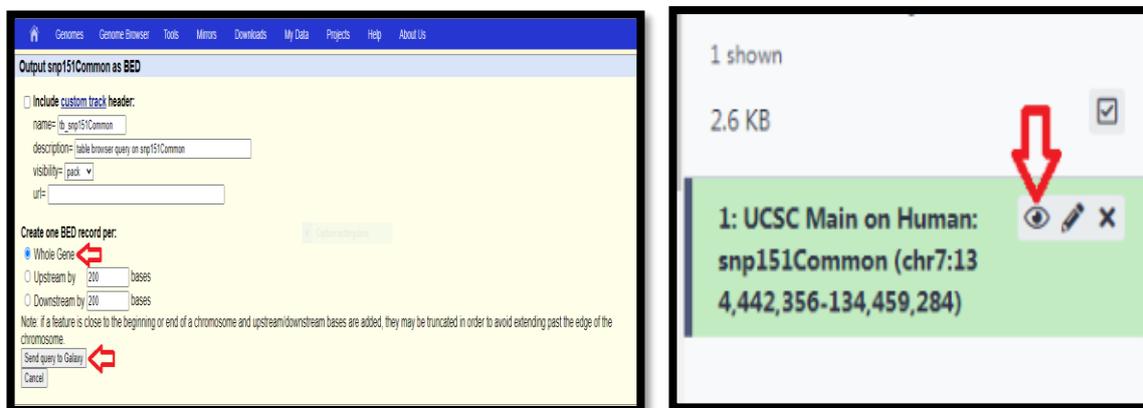
-Sélectionner:

- Assembly: GRCh38/hg38
- Group: Variation
- Track: Common SNPs (151)
- Table: snp151Common
- Region: position (ces coordonnées seront la position du gène AKR1B1)
- Output format :BED (Browser Extensible Data )
- Send output to : cocher Galaxy
- Cliquer sur "Get output"



**Figure 20 :** Page d'accueil de Table Browser et de paramètres de filtrage des SNPs et transmettre à Galaxy.

- Une autre page de configuration s'affiche Cocher "Whole Gene", puis sur "Send query to Galaxy"
- Appuyez sur l'œil pour voir le tableau montrant les variantes de notre gène AKR1B1



**Figure 21 :** Visualisation des variantes en format BED.

### 2.2.2. Identification d'association pathologique par LitVar

**Principe :** LitVar améliore l'accès aux informations spécifiques aux variantes dans la littérature biomédicale. LitVar a non seulement traité l'ensemble complet des résumés PubMed, mais également les articles en texte intégral PMC-OA applicables. En outre, il permet aux utilisateurs d'examiner d'autres entités connexes (*Allot et al., 2018*), telles que les maladies et les produits chimiques.. LitVar est accessible au public sur (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/CBBresearch/Lu/Demo/LitVar/#!?query=>).

## Méthode

- Accédez à LitVar.
- Tapez le mot clé du notre gène "AKR1B1" dans la boîte de recherche sur la page d'accueil.
- un tableau de variantes (rs) du gène AKR1B1 apparaîtra associant chaque "rs" à sa pathologie.



Figure 22 : Interface de LitVar.

Variant	Clinical Significance	MAF	Diseases	Publications
rs759853 [c.-106C>T]	—	n/a	DIABETES MELLITUS, DIABETIC RETINOPATHY, DIABETIC NEPHROPATHIES, DIABETES MELLITUS, TYPE 2, DIABETES MELLITUS, TYPE 1	40
rs564547015 [c.1A>C]	—	n/a	DIABETES MELLITUS, HYPERTENSION, ALBUMINURIA, DEATH, STROKE	3
rs749559219 [p.S304C]	—	n/a		2

Figure 23 : Tableau des rs du gène AKR1B1 filtrés par LitVar.

# **Partie III**

## **Résultats et discussion**

### 3. Résultat

#### 3.1 NCBI

L'interrogation de la base de données NCBI nous a permis d'obtenir les informations associées au gène AKR1B1 Humain (tableau III). Les résultats de la recherche montrent que ce gène AKR1B1 Humain est caractérisé par un très grand nombre de SNP. Ces derniers incluent des SNP codants (synonyme et non-synonyme), le reste des SNP forment la partie non codante.

**Tableau III:** Références GenBank NCBI du gène humain AKR1B1.

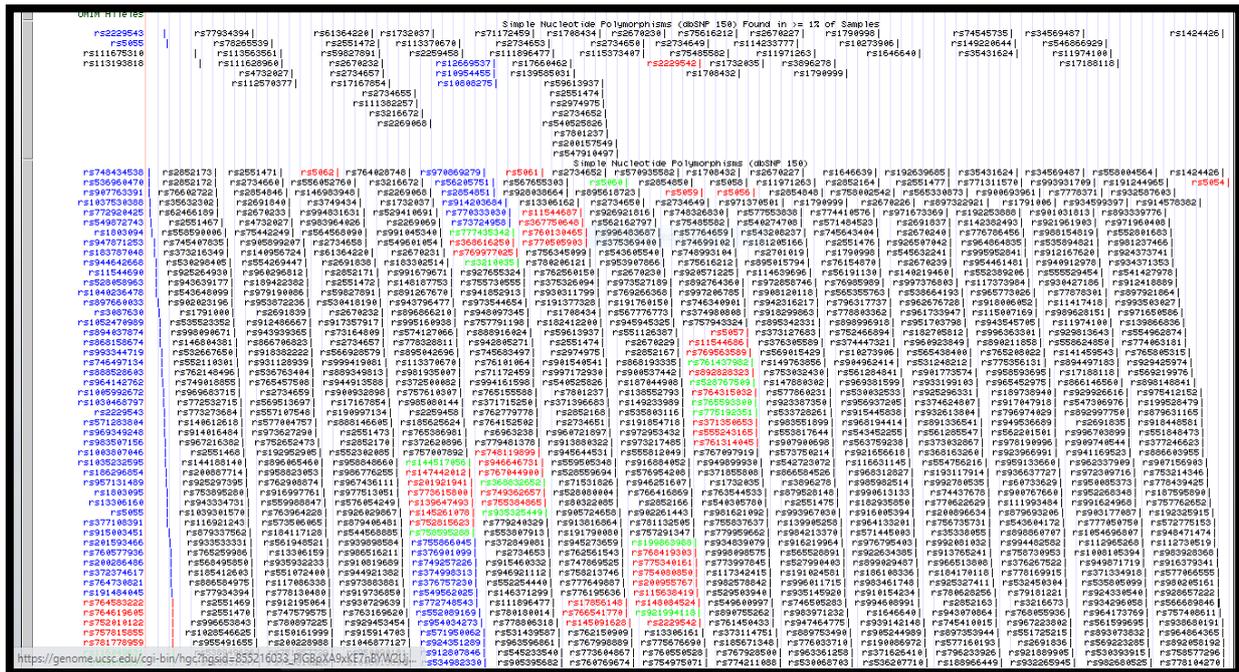
	NCBI
Nature	Nucléotide
Source	Homo sapiens (humain)
Organisme	Homo sapiens
Locus	NM_001628
Bp	1361
RNAm	Linéaire
Accession	NM_001628
Version (Séquence Reference de NCBI)	NM_001628.4
Cytogénétique localisation ou map	7q33
Synonyme	AR; ADR; ALR2; ALDR1
Nom	aldo-keto reductase family 1 member B
Gene groups	aldo/keto reductase superfamily
Nombre d'exons	10
Nombre des SNPs	5114

# Résultats et discussion

## 3.2. Outil UCSC

Pour rechercher et visualiser les SNPs du gène AKR1B1, Nous avons utilisé l'outil UCSC (The University of California Santa Cruz) Genome Browser Data Base.

Les différents résultats représentés par la (figure 24) nous indiquent visuellement si un SNP réside dans des régions non traduites ou s'il entraînerait une substitution d'un acide aminé dans la protéine (non synonyme), ainsi que les SNP retrouvés dans les régions codantes (synonyme) et non-codantes qui sont distribuées sur toute la longueur du gène AKR1B1.



**Figure 24:** La liste de tous les SNPs positionnés sur le gène AKR1B1 via Genome Browser. (<https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgTracks>).

**Tableau IV :** signification de couleurs Genome Browser

	Locus	En amont / en aval du gène variant
<b>Noir</b>	Locus	En amont / en aval du gène variant
	Intron	Intron variant
<b>Vert</b>	Codage synonyme	Variant synonyme
<b>Rouge</b>	Codage non synonyme	Gain-stop, faux sens-variant, perte-stop, décalage de cadre-variant, dans le cadre-inde Site d'épissage : splice accepteur variant, splice donneur variant.
<b>Bleu</b>	Non traduit	5 prime UTR variant, 3prime UTR variant. Non-coding (ncRNA) : (nctranscript variant)

## Résultats et discussion

Nous avons aussi obtenu une liste des SNP communs (151), avec l'emplacement, leur nom (rs) ou ID, le nucléotide de référence et les données de séquence modifiées observées, la classe de SNP et la fonction du SNP.

#bin	chrom	chromStart	chromEnd	name	score	strand	observed	func	weight	alleleFreqCount	alleles	alleleNs	alleleFreqs
1610	chr7	134442602	134442603	rs22239543	0	-	A/C	ncRNA,untranslated-3	1	2	A,C	119.000000,4889.000000	0.023762,0.976238,
1610	chr7	134442649	134442650	rs5955	0	-	G/T	ncRNA,untranslated-3	1	2	G,T	4.000000,76.000000	0.050000,0.950000,
1610	chr7	134443091	134443092	rs111675310	0	+	C/T	intron 1	2	2	C,T	4939.000000,69.000000	0.986222,0.013778,
1610	chr7	134443150	134443151	rs113193818	0	+	C/T	intron 1	2	2	C,T	69.000000,4939.000000	0.013778,0.986222,
1610	chr7	134443972	134443973	rs77934394	0	+	A/C	intron 1	2	2	A,C	69.000000,4939.000000	0.013778,0.986222,
1610	chr7	134444264	134444265	rs78265539	0	+	C/T	intron 1	2	2	C,T	4820.000000,188.000000	0.962460,0.037540,
1610	chr7	134444412	134444413	rs113563561	0	+	A/C	intron 1	2	2	A,C	83.000000,4925.000000	0.016573,0.983427,
1610	chr7	134444425	134444426	rs111628960	0	+	A/G	intron 1	2	2	A,G	69.000000,4939.000000	0.013778,0.986222,
1610	chr7	134444570	134444571	rs4732027	0	-	A/G	intron 1	2	2	A,G	1605.000000,3403.000000	0.320487,0.679513,
1610	chr7	134444631	134444632	rs112570377	0	+	C/T	intron 1	2	2	C,T	4934.000000,74.000000	0.985224,0.014776,
1610	chr7	134445810	134445811	rs61364220	0	+	A/C	intron 1	2	2	A,C	269.000000,4739.000000	0.053714,0.946286,
1610	chr7	134445916	134445917	rs2551472	0	+	A/C/G/T	intron 1	2	2	G,T	1354.000000,3654.000000	0.270367,0.729633,
1610	chr7	134445920	134445921	rs59827891	0	+	C/G	intron 1	2	2	C,G	269.000000,4739.000000	0.053714,0.946286,
1610	chr7	134445967	134445968	rs2670232	0	-	C/T	intron 1	2	2	C,T	2226.000000,2782.000000	0.444489,0.555511,
1610	chr7	134445978	134445979	rs2734657	0	-	A/G	intron 1	2	2	A,G	1353.000000,3655.000000	0.270168,0.729832,
1610	chr7	134446075	134446076	rs17167854	0	+	C/G/T	intron 1	2	2	G,T	1128.000000,3880.000000	0.225240,0.774760,
1610	chr7	134446469	134446470	rs2734655	0	-	A/C/G	intron 1	2	2	A,G	1353.000000,3655.000000	0.270168,0.729832,
1610	chr7	134446498	134446499	rs111382257	0	+	A/T	intron 1	2	2	A,T	69.000000,4939.000000	0.013778,0.986222,
1610	chr7	134446581	134446582	rs3216672	0	+	-/C	intron 1	2	2	-,C	5008.000000,0.000000	1.000000,0.000000,
1610	chr7	134446703	134446704	rs2269068	0	+	C/G/T	intron 1	2	2	C,G	2303.000000,2705.000000	0.459864,0.540136,
1610	chr7	134446751	134446752	rs1732037	0	-	C/T	intron 1	2	2	C,T	5008.000000,0.000000	1.000000,0.000000,
1610	chr7	134447154	134447155	rs113370670	0	+	C/T	intron 1	2	2	C,T	4932.000000,76.000000	0.984824,0.015176,
1610	chr7	134447202	134447203	rs2259458	0	+	A/G/T	intron 1	2	2	G,T	3701.000000,1307.000000	0.739018,0.260982,
1610	chr7	134447690	134447691	rs12669537	0	+	A/C/T	intron,ncRNA	1	2	C,T	4135.000000,873.000000	0.825679,0.174321,
1610	chr7	134447699	134447700	rs10954455	0	+	C/G	intron,ncRNA	1	2	C,G	2225.000000,2783.000000	0.444289,0.555711,
1610	chr7	134447722	134447723	rs10808275	0	+	C/G	intron,ncRNA	1	2	C,G	3701.000000,1307.000000	0.739018,0.260982,
1610	chr7	134448295	134448296	rs71172459	0	+	-/A	intron 1	2	2	-,A	898.000000,4110.000000	0.179313,0.820687,
1610	chr7	134448538	134448539	rs2734653	0	-	C/T	intron 1	2	2	C,T	87993.000000,30749.000000	0.741844,0.258956,
1610	chr7	134448600	134448601	rs111896477	0	+	A/G	intron 1	2	2	A,G	4941.000000,67.000000	0.986621,0.013379,
1610	chr7	134448867	134448868	rs17660462	0	+	G/T	intron 1	2	2	G,T	352.000000,4656.000000	0.070288,0.929712,
1610	chr7	134448925	134448926	rs139585031	0	+	A/G	intron 1	2	2	A,G	70.000000,4938.000000	0.013978,0.986022,
1610	chr7	134449324	134449325	rs1708434	0	-	C/G/T	intron 1	2	2	C,T	3576.000000,1432.000000	0.714858,0.285942,
1610	chr7	134449360	134449361	rs59613937	0	+	A/C/T	intron 1	2	2	A,C	65.000000,4943.000000	0.012979,0.987021,
1610	chr7	134449362	134449363	rs2551474	0	+	A/G	intron 1	2	2	A,G	4867.000000,141.000000	0.971845,0.028155,
1610	chr7	134449382	134449383	rs2974975	0	-	A/C/G/T	intron 1	2	2	C,T	1231.000000,3777.000000	0.245807,0.754193,
1610	chr7	134449401	134449402	rs2734652	0	-	A/C/G/T	intron 1	2	2	A,G	3726.000000,1282.000000	0.744010,0.255990,
1610	chr7	134449422	134449423	rs540525826	0	+	-/A	intron 1	2	2	-,A	99.000000,4909.000000	0.019768,0.980232,
1610	chr7	134449442	134449443	rs7801237	0	+	C/T	intron 1	2	2	C,T	4843.000000,165.000000	0.967053,0.032947,
1610	chr7	134449577	134449578	rs200157549	0	+	-/C	intron 1	2	2	-,C	4888.000000,120.000000	0.976038,0.023962,
1610	chr7	134449588	134449589	rs547910497	0	+	-/A	intron 1	2	2	-,A	2878.000000,2127.000000	0.575025,0.424975,
1610	chr7	134449992	134449993	rs2734650	0	-	A/G	intron 1	2	2	A,G	2552.000000,2456.000000	0.509585,0.490415,
1610	chr7	134449993	134449994	rs115373407	0	+	A/G	intron 1	2	2	A,G	133.000000,4875.000000	0.026557,0.973442,

**Figure 25:**liste des références des SNP communs (151) obtenue par UCSC Genome Browser

(<https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgTables>).

## 3.3 Outil Ensembl Genome Browser

Ce navigateur nous permet de filtrer les données, Nous nous sommes donc intéressé aux SNP codants : promoteur \ exon du gène AKR1B1

Le tableau des variantes répertorie les variantes trouvées dans les régions codantes du gène AKR1B1, avec leurs positions, allèles, conséquences et effets protéiques prévus. Les boutons au-dessus du tableau nous permettent de filtrer les données pour n'afficher que les variantes qui nous intéressent.

Variant ID	Chr: bp	Alleles	Global MAF	Class	Source	Evidence	Clin. Sig.	Conseq. Type	AA	AA coord	SI FT	Pol y-Phe n	CA DD	REV EL	Met aLR	Mut atio n Ass ess or	Transcript
<a href="#">rs764583222</a>	7:134442730	A/G	-	SNP	dbSNP		-	stop lost	*R	317	-	-	-	-	-	-	ENST00000285930.9
<a href="#">rs764619605</a>	7:134442732	A/C	-	SNP	dbSNP		-	missense variant	F/C	316	0	0.892	24	0.114	0.107	0.499	ENST00000285930.9
<a href="#">rs752010122</a>	7:134442733	A/T	-	SNP	dbSNP		-	missense variant	F/I	316	0	0.395	22	0.156	0.076	0.63	ENST00000285930.9
<a href="#">rs1274552433</a>	7:134442735	T/C	-	SNP	dbSNP		-	missense variant	E/G	315	0.02	0.591	24	0.164	0.143	0.7	ENST00000285930.9
<a href="#">rs757815855</a>	7:134442737	T/A	-	SNP	dbSNP		-	missense variant	E/D	314	0.52	0	0	0.047	0.019	0.079	ENST00000285930.9
<a href="#">rs781778959</a>	7:134442741	T/A/C/G	-	SNP	dbSNP		-	missense variant	H/L	313	0.07	0.001	12	0.127	0.074	0.195	ENST00000285930.9
<a href="#">rs781778959</a>	7:134442741	T/A/C/G	-	SNP	dbSNP		-	missense variant	H/R	313	0.11	0.001	9	0.018	0.063	0.318	ENST00000285930.9
<a href="#">rs781778959</a>	7:134442741	T/A/C/G	-	SNP	dbSNP		-	missense variant	H/P	313	0.03	0.221	16	0.159	0.079	0.389	ENST00000285930.9
<a href="#">rs116049631</a>	7:134442743	G/A	< 0.001 (A)	SNP	dbSNP		-	synonymous variant	F	312	-	-	-	-	-	-	ENST00000285930.9
<a href="#">rs1442026734</a>	7:134442748	G/A	-	SNP	dbSNP		-	missense variant	P/S	311	0.01	0.569	26	0.241	0.063	0.831	ENST00000285930.9
<a href="#">COSV5364773.1</a>	7:134442752	COSMIC	-	somatic SNV	COSMIC		-	coding sequence variant	-	309	-	-	-	-	-	-	ENST00000285930.9
<a href="#">rs780078330</a>	7:134442755	C/T	-	SNP	dbSNP		-	synonymous	K	308	-	-	-	-	-	-	ENST00000285930.9

**Figure26** : Tableau montrant les résultats obtenus par Ensembl Browser

(<http://www.ensembl.org/index.html>).

### 3.4 .Outil Galaxy

Galaxy nous a permis d’obtenir un tableau contenant les références des SNPs communs (151) du gène AKR1B1 ainsi que leur position (Start et End), score et (strand) sur quel brin se trouve la variante.

Ces données ont été fournies à l’aide du format BED.

Chrom	Start	End	Name	Score	Strand
chr7	134442602	134442603	rs2229543	0	-
chr7	134442649	134442650	rs5055	0	-
chr7	134443091	134443092	rs111675310	0	+
chr7	134443150	134443151	rs113193818	0	+
chr7	134443972	134443973	rs77934394	0	+
chr7	134444264	134444265	rs78265539	0	+
chr7	134444412	134444413	rs113563561	0	+
chr7	134444425	134444426	rs111628960	0	+
chr7	134444570	134444571	rs4732027	0	+
chr7	134444631	134444632	rs112570377	0	+
chr7	134445810	134445811	rs61364220	0	+
chr7	134445916	134445917	rs2551472	0	+
chr7	134445920	134445921	rs59827891	0	+
chr7	134445967	134445968	rs2670232	0	-
chr7	134445978	134445979	rs2734657	0	-
chr7	134446075	134446076	rs17167854	0	+
chr7	134446469	134446470	rs2734655	0	-
chr7	134446498	134446499	rs111382257	0	+
chr7	134446581	134446582	rs3216672	0	+
chr7	134446703	134446704	rs2269068	0	+
chr7	134446751	134446752	rs1732037	0	-
chr7	134447154	134447155	rs113370670	0	+

**Figure27** : Tableau des variantes (rs) obtenus par l’outil Galaxy  
[\(https://usegalaxy.org/\)](https://usegalaxy.org/)

### Outil LitVar

Les résultats LitVar montrent les relations biologiques entre les variantes et les pathologies associées. Nous avons identifiés 11 polymorphismes nucléotidiques (SNPs) du gène AKR1B1:

**Tableau V** : Les rs identifiés par l’outil LitVar et leurs associations pathologiques.

Gène	Exon	Intron	Rs /mutation	Pathologies
AKR1B1	Exon 1 (5'UTR)	/	<b>rs759853</b>  (C-106)T : une transition de Cytosine en Thymine au nucléotide 106 dans la région du promoteur du gène AR	-La rétinopathie diabétique -Néphropathies diabétiques -Diabète sucré, type 2 -Diabète sucré, type 1
	Exon 10	/	<b>rs749559219</b>  -Une transversion de la guanine en cytosine (c.911G>C). entraîne : -Substitution de Cystéine en Serine (p.Cys304Ser) en position 304	/
	Exon 1	/	<b>rs5053</b>  -Une transversion de cytosine en guanine dans la région 5'UTR (c.-49C>G) résultant la mutation : -substitution de la lysine en glutamine (p.Lys90Glu)	/
	/	Intron 8-9	<b>rs2259458</b>  -transversion de la guanine en thymine	Diabète sucré, type 2
	Exon 9	/	<b>rs779176563</b>  -transversion de la guanine en cytosine en position 896 (c.896G>C). Entraîne : -Remplacement du résidu Cystéine par Serine en position 299 (p.Cys299Ser).	/

## Résultats et discussion

Exon 5	/	<p><b>rs1480104657</b></p> <p>-une transversion de la thymine en guanine.</p> <p>Provoquant :</p> <p>-une substitution de serine en tyrosine en position 160 (p.Ser160Tyr)</p>	Anomalies du tube neural
Intron		<p><b>rs3896278</b></p> <p>-une transversion de la guanine en cytosine et une transition de la thymine en cytosine. (c.67-1200G&gt;C).</p> <p><b>rs17188118</b></p> <p>-une transversion de la cytosine en adénine.</p> <p><b>rs1424426</b></p> <p>-une transition de la cytosine en thymine et une transversion de la guanine en thymine.</p>	Diabète sucré, type 2
Exon1 (5'UTR)	/	<p><b>rs758266634</b></p> <p>-Une transversion de cytosine en guanine en position -11 dans la région du promoteur (c.-11C&gt;G)</p>	/
Exon 3	/	<p><b>rs2229542</b></p> <p>-une transition de la cytosine en thymine.</p> <p>La variation entraîne :</p> <p>-la substitution de lysine en glutamine (p.Lys90Glu)</p>	<p>-Hypersensibilité aux médicaments</p> <p>-Rhinite</p> <p>-Asthme</p>

### 4. Discussion

#### Les SNPs du gène AKR1B1 associés aux différentes pathologies :

Rappelons que notre étude a été réalisée pour étudier le polymorphisme du gène aldose réductase (AKR1B1) et son association aux pathologies humaines en utilisant les bases de données génomiques et les outils bioinformatique open source. Le tableau de LitVar représente 15 résultats (SNP) parmi eux nous citons 11 SNPs (Tableau IV) :

D'après nos résultats la variante polymorphique **rs759853** (C-106 T) est associée aux complications diabétiques à la fois de diabète de type 1 et de type 2 telles que la néphropathie diabétique, la rétinopathie diabétique et la neuropathie périphérique diabétique.

La mutation C-106 T (**rs759853**) a été bien étudiée dans un nombre croissant d'études qui ont examiné l'association entre le polymorphisme **rs759853** et le risque de la néphropathie diabétique (DN) dans plusieurs populations.

Cependant, ces résultats ont généré une controverse considérable (*Moczulski et al., 2000; So et al., 2008*) Pour la néphropathie diabétique (DN) dans le diabète de type 2, le polymorphisme **rs759853** a été confirmé comme étant un risque (*Wang et al., 2003; Sivenius et al., 2004; So et al., 2008; Vandenberghe et al., 2008*) ou un facteur neutre (*Gosek et al., 2005; Wolford et al., 2006*) de développement de cette maladie. De même, des conclusions discordantes ont également été montrées dans des recherches menées sur des sujets diabétiques de type 1, une relation apparente entre le polymorphisme **rs759853** du gène AR et la sensibilité du DN a été révélée à la fois dans la population britannique et la population américaine (*Moczulski et al., 2000; Neamat-Allah et al., 2001*) mais non montrée dans une enquête française, une autre recherche documentaire complète des bases de données électroniques menée par Cui et al montre des corrélations significatives entre le polymorphisme AR **rs759853** et la sensibilité au DN des deux types de diabète. Dans les méta-analyses stratifiées du diabète de type 2, des résultats similaires ont été trouvés chez les Caucasiens et les Asiatiques.

Nous concluons que le polymorphisme AR **rs759853** peut être corrélé avec la sensibilité du DN. Cependant, les données ne soutiennent pas le lien entre cette mutation génique et la progression du DN.

Le mécanisme moléculaire exact de l'association observée entre le polymorphisme **rs759853** dans le gène AR et la sensibilité du DN n'est toujours pas clair. Une situation possible pourrait

être que ce polymorphisme est localisé dans le promoteur du gène AR, ce qui pourrait affecter la transcription de ce gène.

Nous avons aussi constaté que la variante polymorphique **rs759853** (C (-106) T) est associée à la rétinopathie diabétique. Des études antérieures menées en Australie, dans la population chinoise, japonaise et indonésienne ont trouvé un polymorphisme C (-106) T, qui aurait été corrélé avec la rétinopathie diabétique (DR) (*Wang et al., 1993; Kao et al., 1999*). Cependant deux nouveaux polymorphismes, le C - (-104) T et C (-9) G au niveau de la région régulatrice du gène ALR2 qui n'ont pas été rapporté précédemment ont été trouvé par rapport à d'autres études (C (-106) T), en particulier, avec une autre étude en population indonésienne (*Cahyono et Sadewa, 2015*). La différence peut être causée par différentes méthodes utilisées pour détecter le polymorphisme.

L'étude menée par Cahyono et al. (2011) ainsi que d'autres études à l'exception de Li et al. (2001), qui ont utilisé la PCR-SSCP et le séquençage, ont trouvé le nucléotide T en position -106 en employant la PCR-RFLP pour leur méthode de détection avec l'enzyme de restriction BfaI (*Cahyono et Sadewa, 2015*). Cette enzyme de restriction a reconnu un C et un T au site de restriction CTAG. Dans l'étude faite par Cahyono, C (-104) T a été trouvé sur la base des résultats de séquençage qui ont été confirmés par BLAST avec la séquence de référence dans la banque de gènes (ID de séquence: gb | U72619.1 | HSU72619) comme rapporté par Ko et al. (1995). Le résultat BLAST a indiqué que le polymorphisme C (-106) T était déplacé de deux pb en amont vers la position -104. Une analyse plus poussée utilisant plusieurs alignements a révélé que le polymorphisme C (-104) T dans cette étude était identique à C (-106) T.

Nous pouvons conclure que le polymorphisme C (-104) T qui est identique à C (-106) T dans la région régulatrice du gène de l'aldose réductase (ALR2) était le facteur de risque de RD chez les patients atteints de DT2 à Bali, en Indonésie tandis que C (-9) G ne l'était pas.

La variante **rs759853** (C (-106) T) est aussi associée à la neuropathie diabétique, nos résultats ont été confirmés par une étude réalisée par Sivenius et al sur des patients du nord d'Inde atteints de DT2. Un génotypage de C (-106) T a été réalisé en utilisant le polymorphisme de longueur des fragments de restriction par réaction en chaîne par polymérase (PCR-RFLP) et des méthodes de séquençage direct cette étude a suggéré que le polymorphisme C-106 T du gène AKR1B1 a augmenté le risque de développement d'un dysfonctionnement nerveux périphérique. Ainsi, l'expression du gène de l'aldose réductase semblait avoir un rôle dans la

pathogénèse de la neuropathie diabétique périphérique chez les patients atteints de diabète sucré de type 2 (*Gupta et Singh, 2017*).

Donc nous pouvons conclure que la variante (C (-106) T) est associée à la neuropathie diabétique.

-Nous avons constaté que la variante **rs749559219** (p.Cys304Ser) n'avait pas une signification clinique pathologique d'après LitVar. Cependant AKR1B1 s'est avéré être impliqué dans les carcinomes du côlon par (*Tammali et al., 2006*). Les plus substitutions d'acides aminés remarquables dans les résidus participant à une liaison rétinolide entre AKR1B1 et AKR1B10 ont été observée aux positions 125 (Leu à Lys) et 304 (Cys à Ser) ce qui provoque un carcinome du côlon (*Ruiz et al., 2012*).

-Nous avons identifiés trois autres SNPs **rs3896278**, **rs17188118** et **rs1424426** associées au diabète de type 2. Une étude faite par Abhary a recruté 909 personnes atteintes de diabète. Les participants ont été génotypés pour un microsatellite AKR1B1 (CA) n et 14 polymorphismes nucléotidiques uniques marqueurs dont les 3 SNPs que nous avons identifiés, et une évaluation ophtalmologique a été réalisée. Bien que la variation de l'AKR1B1 soit associée à la RD, une fois les facteurs de risque établis, y compris la durée du diabète et l'A1C, ont été pris en compte, aucune association n'a persisté. Cela suggère que des SNPs particuliers peuvent être associés aux covariables cliniques plutôt que d'avoir une association directe avec la RD. L'association communément rapportée d'AKR1B1 avec la DR peut être due à une association du gène avec un âge plus jeune au début du diabète (*Abhary et al., 2010*).

-La variante **rs758266634** (c.-11C>G): D'après les résultats obtenus par LitVar cette variation n'a aucune signification clinique pathologique. Une étude sur des sujets japonais atteints de diabète sucré de type 2 a été menée le polymorphisme C-106T du gène AKR1B1 a été génotypé dans 228 cas (microalbuminurie ou protéinurie manifeste) et 220 témoins (normo albuminurie avec durée du diabète  $\geq 10$  ans) pour une comparaison cas-témoins, De plus, un nouveau polymorphisme C-11G dans la région promotrice d' AKR1B1 a été génotypé et il s'est avéré que la distribution des génotypes du polymorphisme C-106T dans les cas était significativement différente de celle des témoins. Cependant, la distribution des génotypes du polymorphisme C-11G ne différait pas entre les cas et les témoins. Nous concluons que le polymorphisme C-106T de AKR1B1 augmente le risque de DN chez les sujets japonais atteints de diabète sucré de type 2, ce qui pourrait être lié en partie à une plus grande expression de la RA (*Makiishi et al., 2003*).

Nous suggérons que la variante **rs758266634** (C-11G) n'a aucune association pathologique.

-le polymorphisme nucléotidique **rs2259458** : cette variante est associée au risque de diabète de type 2 entraînant des complications. Une étude d'association candidat-gène dans une population du sud-est de la Méditerranée a été menée pour étudier l'association de cinq variantes du gène AKR1B1 (rs2259458 G/T, rs2734653 G/A, rs2670230 C/A, rs1790998 C/A, rs17188118 A/C) avec i) progression du diabète et ii) risque de diabète entraînant des complications microvasculaires. La progression de la maladie a été testée en utilisant le rapport de cotes généralisé (ORG). Le risque de diabète entraînant des complications a été testé à l'aide des OR des modèles additifs et co-dominants. L'analyse a montré que les cinq variantes du gène AKR1B1 ne sont pas impliquées dans la progression de la maladie. Cependant, les mêmes variantes d'AKR1B1 sont associées au risque de diabète entraînant des complications (*Tachmitzi et al ., 2014*)

Nous concluons que le polymorphisme nucléotidique **rs2259458** et quatre autres SNPs du gène AKR1B1 sont associés au risque de diabète entraînant des complications.

-la variante **rs779176563** (c.896G>C) n'a aucun impact selon les résultats obtenus, cependant elle a été découverte dans diverses circonstances telles que le cancer colorectal et utérin par (*Shumer et Spack ., 2017*).

En revanche nos résultats ne sont pas dans le même sens que Daniel et Shumer, il s'est avéré que la variante (c.896G>C) est associée à plusieurs formes de cancer.

-la variation génétique **rs1480104657** provoque une substitution de la serine en tyrosine en position 160 (p.Ser160Tyr) entraînant des défauts de tube neural, nos résultats ont été confirmé par une étude en mesurant le champ électrique dans certains protéines y compris l'aldose réductase (*Wang et He, 2018*).

-**rs2229542, rs5053** : le polymorphisme nucléotidique **rs2229542** entraîne une substitution de la lysine en glutamine (p.Lys90Glu) cette dernière est associée à l'asthme et à la rhinite contrairement à la variante **rs5053** d'après les résultats obtenues. L'analyse des variants simple brin sur la séquence du gène AKR1B1 a révélé que le variant **rs2229542** s'associe à l'asthme et à la rhinite, L'étude de la stabilité des protéines réalisée par CETSA a montré que la présence de la mutation p.Lys90Glu augmentait modérément la sensibilité de la protéine à la dénaturation. Cette stabilité compromise pourrait contribuer à réduire les niveaux de protéines et à l'altération de la fonction globale de l'AKR1B1, d'autre part la variante

**rs5053** compromet les niveaux de protéines du gène AKR1B1 en causant l'asthme et la rhinite allergique.

Les analyses statistiques ont montré une augmentation significative de la fréquence de la variante non synonyme **rs2229542** dans l'hétérozygotie chez l'ensemble des patients .La variante **rs5053** a montré une fréquence légèrement plus élevée, bien que non statistiquement significative (*García-Martín et al., 2018*).

Nous concluons que les variantes **rs2229542** et **rs5053** sont associées à l'asthme et à la rhinite.

# **Conclusion**

## Conclusion

---

Les polymorphismes mononucléotidiques (SNP), qui constituent le type de variation génétique le plus abondant, sont désormais la principale matière première sous-jacente à la plupart des études et bases de données génétiques. Les SNP sont largement les plus faciles à déterminer et les marqueurs les plus utiles et les plus largement appliqués dans les études génétiques à l'ère moderne.

Grâce aux outils bioinformatiques nous avons pu identifier les SNP du gène AKR1B1 qui ont une signification clinique pathologique, Nous avons trouvés les différents polymorphismes mononucleotidiques majeurs qui sont associés aux maladies inflammatoires, les maladies auto-immunes et le cancer. Ces polymorphismes peuvent altérer la fonction de l'aldose réductase en modifiant sa structure ce qui pourrait contribuer à réduire ou à augmenter les niveaux d'expression de la protéine et à l'altération de la fonction globale de l'AKR1B1.

Compte tenu de ces limites de notre étude, des études supplémentaires avec une sélection plus stricte des patients, une taille d'échantillon beaucoup plus grande et des contrôles bien appariés seront nécessaires. De plus, les interactions gène-gène et gène-environnement devraient également être prises en compte dans les études futures.

Nous suggérons que les SNP identifiés par les navigateurs Web que nous avons utilisés puissent être considérés pour des études cas-témoins afin d'identifier la sensibilité et l'association du polymorphisme du gène AKR1B1 aux maladies auto-immunes, les maladies inflammatoires et le cancer. Ils peuvent ensuite être utilisés comme marqueurs génétiques qui permettront d'identifier le polymorphisme entre famille, genres, espèces, variétés, populations et même entre individus... Ainsi, les marqueurs génétiques sont des outils très efficaces pour la phylogénie moléculaire puisqu'ils peuvent établir des relations de parenté entre individus.

La bioinformatique est en effet un outil essentiel dans l'identification des SNP et la prédiction de la fonction du gène AKR1B1 et les pathologies associées.

# **Références bibliographiques**

Abhary, S. *et al.* (2010) 'Aldose reductase gene polymorphisms and diabetic retinopathy susceptibility', *Diabetes Care*, 33(8), pp. 1834–1836. doi: 10.2337/dc09-1893.

Agarwala, R. *et al.* (2018) 'Database resources of the National Center for Biotechnology Information', *Nucleic Acids Research*. Oxford University Press, 46(D1), pp. D8–D13. doi: 10.1093/nar/gkx1095.

Allot, A. *et al.* (2018) 'LitVar: A semantic search engine for linking genomic variant data in PubMed and PMC', *Nucleic Acids Research*. Oxford University Press, 46(W1), pp. W530–W536. doi: 10.1093/nar/gky355.

Barski, O. A. and , Srinivas M. Tipparaju, and A. B. (2009) *The Aldo-Keto Reductase Superfamily and its Role in Drug.pdf*, *Drug Metab Rev.* doi: 10.1080/03602530802431439.The.

Barski, O. A., Tipparaju, S. M. and Bhatnagar, A. (2008) *The aldo-keto reductase superfamily and its role in drug metabolism and detoxification*, *Drug Metabolism Reviews*. doi: 10.1080/03602530802431439.

Berlett, B. S. and Stadtman, E. R. (1997) 'Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress', *Journal of Biological Chemistry*, 272(33), pp. 20313–20316. doi: 10.1074/jbc.272.33.20313.

Cahyono, J. A. and Sadewa, A. H. (2015) 'Aldose reductase genetic polymorphism is a risk factor of diabetics retinopathy among type 2 diabetes mellitus in Yogyakarta, Indonesia', *Journal of the Medical Sciences (Berkala Ilmu Kedokteran)*, 43(02), pp. 57–63.

Chatzopoulou, M. *et al.* (2013) 'Development of aldose reductase inhibitors for the treatment of inflammatory disorders', *Expert Opinion on Drug Discovery*. Informa UK, Ltd., 8(11), pp. 1365–1380. doi: 10.1517/17460441.2013.843524.

Chung, S. and Chung, S. (2005) 'Genetic Analysis of Aldose Reductase in Diabetic Complications', *Current Medicinal Chemistry*, 10(15), pp. 1375–1387. doi: 10.2174/0929867033457322.

Chung, S. S. M. *et al.* (2003) 'Contribution of polyol pathway to diabetes-induced oxidative stress', *Journal of the American Society of Nephrology*, 14(SUPPL. 3), pp. 233–236. doi: 10.1097/01.asn.0000077408.15865.06.

Daniel E Shumer Norman P Spack, N. J. N. (2017) '乳鼠心肌提取 HHS Public Access', *Physiology & behavior*, 176(12), pp. 139–148. doi: 10.1016/j.physbeh.2017.03.040.

Dias, J. P. *et al.* (2019) 'Racial/Ethnic Trends in Prevalence of Diabetic Kidney Disease in the United States', *Kidney International Reports*, 4(2), pp. 334–337. doi: 10.1016/j.ekir.2018.10.018.

Dvornik, D. *et al.* (1973) 'Polyol accumulation in galactosemic and diabetic rats: Control by an aldose reductase inhibitor', *Science*, 182(4117), pp. 1146–1148. doi: 10.1126/science.182.4117.1146.

Fajardo, S. *et al.* (2016) 'We are IntechOpen , the world ' s leading publisher of Open Access books Built by scientists , for scientists TOP 1 %', *Intech*, i(tourism), p. 13. doi: <http://dx.doi.org/10.5772/57353>.

Feuk, L., Carson, A. R. and Scherer, S. W. (2006) 'Structural variation in the human genome', *Nature Reviews Genetics*, 7(2), pp. 85–97. doi: 10.1038/nrg1767.

Gabbay, K. H., Merola, L. O. and Field, R. A. (1966) 'Sorbitol pathway: Presence in nerve and cord with substrate accumulation in diabetes', *Science*, 151(3707), pp. 209–210. doi: 10.1126/science.151.3707.209.

García-Martín, E. *et al.* (2018) 'Asthma and allergic rhinitis associate with the rs2229542 variant that induces a p.Lys90Glu mutation and compromises AKR1B1 protein levels', *Human Mutation*, 39(8), pp. 1081–1091. doi: 10.1002/humu.23548.

Giardine, B. *et al.* (2005) 'Galaxy: A platform for interactive large-scale genome analysis', *Genome Research*, 15(10), pp. 1451–1455. doi: 10.1101/gr.4086505.

Gosek, K. *et al.* (2005) 'C-106T polymorphism in promoter of aldose reductase gene is a risk factor for diabetic nephropathy in type 2 diabetes patients with poor glycaemic control', *Nephron - Experimental Nephrology*, 99(3), pp. 63–68. doi: 10.1159/000083209.

Graham, A. *et al.* (1991) 'Structure of the human aldose reductase gene', *Journal of Biological Chemistry*, 266(11), pp. 6872–6877.

Graham, Alexander *et al.* (1991) 'The human aldose reductase gene maps to chromosome region 7q35', *Human Genetics*, 86(5), pp. 509–514. doi: 10.1007/BF00194644.

Grossmann, M. *et al.* (1999) 'New insights into the roles of Rel/NF- $\kappa$ B transcription factors in immune function, hemopoiesis and human disease', *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 31(10), pp. 1209–1219. doi: 10.1016/S1357-2725(99)00068-0.

Gupta, B. and Singh, S. K. (2017) 'Association of aldose reductase gene polymorphism (C-106T) in susceptibility of diabetic peripheral neuropathy among north Indian population', *Journal of Diabetes and its Complications*. Elsevier Inc., 31(7), pp. 1085–1089. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2017.04.011.

Hamada, Y., Nakamura, J. and Hotta, N. (1999) 'Aldose reductase', *Nippon rinsho. Japanese journal of clinical medicine*, 57 Suppl, pp. 425–427.

Hers, H. G. (1956) 'Le mécanisme de la transformation de glucose en fructose par les vésicules séminales', *Biochimica et Biophysica Acta*, 22(1), pp. 202–203. doi: 10.1016/0006-3002(56)90247-5.

Hyndman, D. J. and Flynn, T. G. (1998) 'Sequence and expression levels in human tissues of a new member of the aldo-keto reductase family', *Biochimica et Biophysica Acta - Gene Structure and Expression*, 1399(2–3), pp. 198–202. doi: 10.1016/S0167-4781(98)00109-2.

Johannsen, L. *et al.* (2001) 'Evaluation of patients with symptoms suggestive of chronic polyneuropathy', *Journal of Clinical Neuromuscular Disease*, 3(2), pp. 47–52. doi: 10.1097/00131402-200112000-00001.

Johanson, U. *et al.* (2000) 'Molecular analysis of FRIGIDA, a major determinant of natural variation in Arabidopsis flowering time', *Science*, 290(5490), pp. 344–347. doi: 10.1126/science.290.5490.344.

Kador, P. F. and Kinoshita, J. H. (1985) 'Role of aldose reductase in the development of diabetes-associated complications', *The American Journal of Medicine*, 79(5 SUPPL. 1), pp. 8–12. doi: 10.1016/0002-9343(85)90504-2.

Kao, Y. *et al.* (1999) 'D i a b e t e s', 48(June), pp. 6–8.

Karolchik, D. *et al.* (2003) 'The UCSC Genome Browser Database', *Nucleic Acids Research*, 31(1), pp. 51–54. doi: 10.1093/nar/gkg129.

Kent, W. J. (2002) 'BLAT---The BLAST-Like Alignment Tool', *Genome Research*, 12(4), pp. 656–664. doi: 10.1101/gr.229202.

Khayami, R., Hashemi, S. R. and Kerachian, M. A. (2020) 'Role of aldo-keto reductase family 1 member B1 (AKR1B1) in the cancer process and its therapeutic potential', *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, (May), pp. 8890–8902. doi: 10.1111/jcmm.15581.

Ko, B. C. B. *et al.* (1997) 'Identification and characterization of multiple osmotic response sequences in the human aldose reductase gene', *Journal of Biological Chemistry*, 272(26), pp. 16431–16437. doi: 10.1074/jbc.272.26.16431.

Krieger, U., Lippman, Z. B. and Zamir, D. (2010) 'The flowering gene SINGLE FLOWER TRUSS drives heterosis for yield in tomato', *Nature Genetics*, 42(5), pp. 459–463. doi: 10.1038/ng.550.

Kuhn, R. M. *et al.* (2009) 'The UCSC Genome Browser Database: Update 2009', *Nucleic Acids Research*, 37(SUPPL. 1), pp. 755–761. doi: 10.1093/nar/gkn875.

Lambert-Langlais, S. *et al.* (2009) 'Aldo keto reductase 1B7 and prostaglandin F2 $\alpha$  are regulators of adrenal endocrine functions', *PLoS ONE*, 4(10). doi: 10.1371/journal.pone.0007309.

LEE, A. Y. W. and CHUNG, S. S. M. (1999) 'Contributions of polyol pathway to oxidative stress in diabetic cataract', *The FASEB Journal*, 13(1), pp. 23–30. doi: 10.1096/fasebj.13.1.23.

Lotfi, Z. *et al.* (2017) 'Le surpoids, l'obésité et le contrôle glycémique chez les diabétiques du centre de référence provincial de diabète (CRD), Kénitra, Maroc', *Pan African Medical Journal*, 27, pp. 1–7. doi: 10.11604/pamj.2017.27.189.9535.

Mara, L. and Oates, P. J. (2008) 'The Polyol Pathway and Diabetic Retinopathy', *Diabetic Retinopathy*, (August 2014), pp. 159–186. doi: 10.1007/978-1-59745-563-3\_6.

Markus, H. B., Raducha, M. and Harris, H. (1983) 'Tissue distribution of mammalian aldose reductase and related enzymes', *Biochemical medicine*, 29(1), pp. 31–45. doi: 10.1016/0006-2944(83)90051-0.

McCracken, E. *et al.* (2001) '4-Hydroxynonenal immunoreactivity is increased in human hippocampus after global ischemia', *Brain Pathology*, 11(4), pp. 414–421. doi: 10.1111/j.1750-3639.2001.tb00409.x.

Mitchell-Olds, T. and Schmitt, J. (2006) 'Genetic mechanisms and evolutionary significance of natural variation in Arabidopsis', *Nature*, 441(7096), pp. 947–952. doi: 10.1038/nature04878.

Moczulski, D. K. *et al.* (2000) 'Aldose reductase gene polymorphisms and susceptibility to diabetic nephropathy in Type 1 diabetes mellitus', *Diabetic Medicine*, 17(2), pp. 111–118. doi: 10.1046/j.1464-5491.2000.00225.x.

Modafferi, S. *et al.* (2019) 'Clinical Trials on Diabetic Nephropathy: A Cross-Sectional Analysis', *Diabetes Therapy*. Springer Healthcare, 10(1), pp. 229–243. doi: 10.1007/s13300-018-0551-9.

Neamat-Allah, M. *et al.* (2001) 'Analysis of the association between diabetic nephropathy and polymorphisms in the aldose reductase gene in Type 1 and Type 2 diabetes mellitus', *Diabetic Medicine*, 18(11), pp. 906–914. doi: 10.1046/j.0742-3071.2001.00598.x.

Nentwich, M. M. (2015) 'Diabetic retinopathy - ocular complications of diabetes mellitus', *World Journal of Diabetes*, 6(3), p. 489. doi: 10.4239/wjd.v6.i3.489.

Ngelgau, M. I. E. (2004) 'Prevalence of Lower-Extremity Disease in the U . S . Adult Population > 40 Years', 27(7).

Oates, P. J. (2002) 'Polyol pathway and diabetic peripheral neuropathy', *International Review of Neurobiology*, 50. doi: 10.1016/s0074-7742(02)50082-9.

Pandey, S., Srivastava, S. K. and Ramana, K. V. (2012) 'A potential therapeutic role for aldose reductase inhibitors in the treatment of endotoxin-related inflammatory diseases', *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 21(3), pp. 329–339. doi: 10.1517/13543784.2012.656198.

Patel, A. *et al.* (1993) 'Polymorphisms of the aldose reductase locus (ALR2) and susceptibility to diabetic microvascular complications', *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 328, pp. 325–332. doi: 10.1007/978-1-4615-2904-0\_34.

Pillon, N. J. *et al.* (2012) 'The lipid peroxidation by-product 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE) induces insulin resistance in skeletal muscle through both carbonyl and oxidative stress', *Endocrinology*, 153(5), pp. 2099–2111. doi: 10.1210/en.2011-1957.

Qi, J. *et al.* (2014) 'Detection of genomic variations and DNA polymorphisms and impact on analysis of meiotic recombination and genetic mapping', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(27), pp. 10007–10012. doi: 10.1073/pnas.1321897111.

Ramana, K. V. *et al.* (2000) 'Selective recognition of glutathiolated aldehydes by aldose reductase', *Biochemistry*, 39(40), pp. 12172–12180. doi: 10.1021/bi000796e.

Ramana, K. V. *et al.* (2002) 'Aldose reductase mediates mitogenic signaling in vascular smooth muscle cells', *Journal of Biological Chemistry*, 277(35), pp. 32063–32070. doi: 10.1074/jbc.M202126200.

Ramana, K. V. (2011) 'Aldose reductase: New insights for an old enzyme', *Biomolecular Concepts*, 2(1–2), pp. 103–114. doi: 10.1515/bmc.2011.002.

Rowe (2008) '基因的改变NIH Public Access', *Bone*, 23(1), pp. 1–7. doi: 10.1038/jid.2014.371.

Ruef, J. *et al.* (2000) 'Involvement of aldose reductase in vascular smooth muscle cell growth and lesion formation after arterial injury', *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 20(7), pp. 1745–1752. doi: 10.1161/01.ATV.20.7.1745.

Ruiz, F. X. *et al.* (2012) 'Biological role of aldo – keto reductases in retinoic acid biosynthesis and signaling', 3(April), pp. 1–13. doi: 10.3389/fphar.2012.00058.

Savettieri, G. *et al.* (1993) 'Prevalence of diabetic neuropathy with somatic symptoms: A door-to-door survey in two sicilian municipalities', *Neurology*, 43(6), pp. 1115–1120. doi: 10.1212/wnl.43.6.1115.

Sivenius, K. *et al.* (2004) 'Aldose reductase gene polymorphisms and susceptibility to microvascular complications in Type 2 diabetes', *Diabetic Medicine*, 21(12), pp. 1325–1333. doi: 10.1111/j.1464-5491.2004.01345.x.

So, W.-Y. *et al.* (2008) 'Aldose Reductase Genotypes and Cardiorenal Complications', *Diabetes care*, 31(11), pp. 2148–2153. doi: 10.2337/dc08-0712.

Sophia V Tachmitzi *et al.* (2014) 'International Journal of Medical and Health Sciences', *International journal of occupational and environmental health*, (4), pp. 301–307.

Sripichai, O. and Fucharoen, S. (2007) 'Genetic polymorphisms and implications for human diseases', *Journal of the Medical Association of Thailand*, 90(2), pp. 394–398.

Srivastava, S. K., Ramana, K. V. and Bhatnagar, A. (2005) 'Role of aldose reductase and oxidative damage in diabetes and the consequent potential for therapeutic options', *Endocrine Reviews*, 26(3), pp. 380–392. doi: 10.1210/er.2004-0028.

Stankiewicz, P. and Lupski, J. R. (2002) 'Genome architecture, rearrangements and genomic disorders', *Trends in Genetics*, 18(2), pp. 74–82. doi: 10.1016/S0168-9525(02)02592-1.

Stankiewicz, P. and Lupski, J. R. (2010) 'Structural variation in the human genome and its role in disease', *Annual Review of Medicine*, 61, pp. 437–455. doi: 10.1146/annurev-med-100708-204735.

Tammali, R. *et al.* (2006) 'Aldose reductase regulates growth factor-induced cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin E2 production in human colon cancer cells', *Cancer Research*, 66(19), pp. 9705–9713. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-2105.

Thomas, P. E. *et al.* (2011) 'Challenges in the association of human single nucleotide polymorphism mentions with unique database identifiers', *BMC Bioinformatics*, 12(SUPPL. 4), pp. 1–18. doi: 10.1186/1471-2105-12-S4-S4.

Valko, M. *et al.* (2007) 'Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease', *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39(1), pp. 44–84. doi: 10.1016/j.biocel.2006.07.001.

Vandenberghe, I. *et al.* (2008) 'Physalin B, a novel inhibitor of the ubiquitin-proteasome pathway, triggers NOXA-associated apoptosis', *Biochemical Pharmacology*, 76(4), pp. 453–462. doi: 10.1016/j.bcp.2008.05.031.

Vuillaume, M. (1987) 'Reduced oxygen species, mutation, induction and cancer initiation', *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 186(1), pp. 43–72. doi: 10.1016/0165-1110(87)90014-5.

Wang, K., Bohren, K. M. and Gabbay, K. H. (1993) 'Characterization of the human aldose reductase gene promoter', *Journal of Biological Chemistry*, 268(21), pp. 16052–16058.

Wang, X. and He, X. (2018) 'An ab initio QM/MM study of the electrostatic contribution to catalysis in the active site of ketosteroid isomerase', *Molecules*, 23(10). doi: 10.3390/molecules23102410.

Wang, Y. *et al.* (2003) 'Phenotypic heterogeneity and associations of two aldose reductase gene polymorphisms with nephropathy and retinopathy in type 2 diabetes', *Diabetes Care*, 26(8), pp. 2410–2415. doi: 10.2337/diacare.26.8.2410.

Wolford, J. K. *et al.* (2006) 'Variants in the gene encoding aldose reductase (AKR1B1) and diabetic nephropathy in American Indians', *Diabetic Medicine*, 23(4), pp. 367–376. doi: 10.1111/j.1464-5491.2006.01834.x.

Xenbase, N. *et al.* (2018) 'Chapter 10 Icing', 1757, pp. 493–512. doi: 10.1007/978-1-4939-7737-6.

Yadav, U. C. S. and Ramana, K. V. (2013) 'Regulation of NF- $\kappa$ B-induced inflammatory signaling by lipid peroxidation-derived aldehydes', *Oxidative Medicine and Cellular*

*Longevity*, 2013. doi: 10.1155/2013/690545.

Yan, L. (2018) 'Redox imbalance stress in diabetes mellitus: Role of the polyol pathway', *Animal Models and Experimental Medicine*, 1(1), pp. 7–13. doi: 10.1002/ame2.12001.

# **Annexes**

Annexe relatif au chapitre III

Annexe 1 NCBI

```
NCBI Reference Sequence: NM_001628.4
GenBank Graphics
>NM_001628.4 Homo sapiens aldo-keto reductase family 1 member B (AKR1B1),
transcript variant 1, mRNA
GCACCGTACTGGGCGGGGGTCTGGGGAGCGCAGCAGCCATGGCAAGCCGTCTCCTGCTCAACAACGGCGC
CAAGATGCCCATCTCTGGGGTTGGGTACCTGGAAAGTCCCCTCCAGGGCAGGTGACTGAGGCCGTGAAGGTG
GCCATTGACGTCGGGTACCGCCACATCGACTGTGCCATGTGTACCAGAAATGAGAAATGAGGTGGGGGTGG
CCATTGAGGAGAAGCTCAGGGAGCAGGTGGTGAAGCGTGAGGAGCTCTTCATCGTCAGCAAGCTGTGGTG
CACGTACCATGAGAAGGGCCTGGTGAAGAGCCTGCCAGAAGACACTCAGCGACCTGAAGCTGGACTAC
CTGGACCTCTACCTTATTCACTGGCCGACTGGCTTTAAGCCTGGGAAGGAATTTTTCCCATTGGATGAGT
CGGGCAATGTGGTTCCAGTGACACCAACATTCTGGACACGTGGGCGGCCATGGAAGAGCTGGTGGATGA
AGGGCTGGTGAAGCTATTGGCATCTCCAACCTCAACCATCTCCAGGTGGAGATGATCTTAAACAAACCT
GGCTTGAAGTATAAGCCTGCAGTTAACCAGATTGAGTGCCACCCATACTCACTCAGGAGAAGTTAATCC
AGTACTGCCAGTCCAAAGGCATCGTGGTGACCGCCTACAGCCCCCTCGGCTCTCCTGACAGGCCCTGGGC
CAAGCCCGAGGACCCTTCTCTCCTGGAGGATCCCAGGATCAAGGCGATCGCAGCCAAGCACAATAAACT
ACAGCCAGGTCTGATCCGGTTCATGAGAGGAACTTGGTGGTGATCCCCAAGTCTGTGACACCAG
AACGCATTGCTGAGAACTTTAAGGTCTTTGACTTTGAACTGAGCAGCCAGGATATGACCACCTTACTCAG
CTACAACAGGAACTGGAGGGTCTGTGCCCTTGTGAGCTGTACCTCCCAAGGATTACCCCTTCCATGAA
GAGTTTTGAAGCTGTGGTTGCCTGCTCGTCCCCAAGTGACCTATACCTGTGTTTCTTGCCTCATTTTTTT
CCTTGCAAATGTAGTATGGCCTGTGTCACTCAGCAGTGGGACAGCAACCTGTAGAGTGGCCAGCGAGGGC
GTGTCTAGCTTGATGTTGGATCTCAAGAGCCCTGTGAGTAGAGTAGAAGTCTCTCCAGTTTGCTTTGCC
CTTCTTTCTACCCTGCTGGGGAAAGTACAACCTGAATACCCTTTTCTGACCAAAGAGAAGCAAAATCTAC
CAGGTCAAATAGTGCCACTAACGGTTGAGTTTTGACTGCTTGGAACTGGAATCCTTTCAGCAAGACTTC
TCTTTGCCTCAAATAAAAAGTGCTTTTGTGA
```

Figure 28 : La séquence FASTA (nucléotidique) du gène aldose réductase

```
Aldo-keto reductase family 1 member B1 isoform 1 [Homo sapiens]
NCBI Reference Sequence: NP_001619.1
GenPept Identical Proteins Graphics
>NP_001619.1 aldo-keto reductase family 1 member B1 isoform 1 [Homo
sapiens]
MASRLLLNNGAKMPILGLGTWKSPPGQVTEAVKVAIDVGYRHIDCAHVYQNEVEGVVAIQEKLREQVVKR
EELFIVSKLWCTYHEKGLVKGACQKTLSDLKLDYLDLYLIHWPTGFKPGKEFFPLDESGNVVPSDTNILD
TWAAMEELVDEGLVKAIGISNFNHLQVEMILNKPLKYPKAVNQIECHPYLTQEKLIQYCSKGIIVVTAY
SPLGSPDRPWAKPEDPSLLEDPRIKAIKAAKHNKTTAQLIRFPMQRNLVVIKSVTPERIAENFKVDFE
LSSQDMTLLSYNRNWRVCALLSCTSHKDYPFHEEF
```

figure 29 : la séquence FASTA (protéique) du gène aldose réductase

## Annexes

### Annex 2 Varsome

**Tableau VI** : liste des références (rs) des SNP

Rs /ID	Position	Séquence RFE	Séquence ALT	HGVS
rs759853	134143958	G	A	(NM_001346142.1):c.-451C>T
rs564547015	134143814	T	C	(NM_001628.4):c.1A>G(p.Met1Val)
		T	G	(NM_001628.4):c.1A>C (p.Met1Leu)
rs749559219	134127520	C	G	(NM_001628.4):c.911G>C(p.Cys304Ser)
rs5053	134143863	G	C	(ENST00000285930.4):c.-49C>G
rs2259458	134131955	T	A	(NM_001628.4):c.825+95A>T
		T	G	(NM_001628.4):c.825+95A>C
rs779176563	134130002	C	G	(NM_001628.4):c.896G>C(p.Cys299Ser)
rs1480104657	134133822	G	T	(NM_001628.4):c.479C>A(p.Ser160Tyr)
rs1380748552	134132069	C	T	(NM_001628.4):c.806G>A(p.Arg269His)
rs5058	134136331	A	C	(NM_001628.4):c.234+7T>G
rs3896278	134137705	C	G	(NM_001628.4):c.67-1200G>C
		C	T	(NM_001628.4):c.67-1200G>A
rs17188118	134142068	A	C	(NM_001628.4):c.66+1681T>G
rs1424426	134143690	T	C	(NM_001628.4):c.66+59A>G
		T	G	(NM_001628.4):c.66+59A>C
rs758266634	134143825	C	G	(NM_001628.4):c.-11G>C
rs2229542	134135621	T	C	(NM_001628.4): c.268A> G (p.Lys90Glu)
rs1003776570	134133789	A	G	(NM_001628.4):c.512T>C(p.Leu171Ser)

## Annex 3 Glaxy

Tableau VII : liste des SNP obtenus par Galaxy.

#bin	chrom	chromStart	chromEnd	name
1610	chr7	134449324	134449325	rs1708434
1610	chr7	134449360	134449361	rs59613937
1610	chr7	134449362	134449363	rs2551474
1610	chr7	134449382	134449383	rs2974975
1610	chr7	134449401	134449402	rs2734652
1610	chr7	134449422	134449423	rs540525826
1610	chr7	134449442	134449443	rs7801237
1610	chr7	134449577	134449577	rs200157549
1610	chr7	134449588	134449589	rs547910497
1610	chr7	134449992	134449993	rs2734650
1610	chr7	134449993	134449994	rs115373407
1610	chr7	134450324	134450325	rs2670230
1610	chr7	134450868	134450869	rs2229542
1610	chr7	134450998	134450999	

## Annexes

---

rs2734649			
1610	chr7	134451303	134451304
rs75485582			
1610	chr7	134451424	134451425
rs75616212			
1610	chr7	134451466	134451467
rs1708432			
1610	chr7	134451831	134451832
rs1732035			
1610	chr7	134452368	134452369
rs114233777			
1610	chr7	134452454	134452455
rs2670227			
1610	chr7	134452640	134452641
rs11971263			
1610	chr7	134452952	134452953
rs3896278			
1610	chr7	134453135	134453136
rs1790999			
1610	chr7	134453627	134453628
rs1790998			
1610	chr7	134453910	134453911
rs10273906			
1610	chr7	134454248	134454249
rs1646640			
1610	chr7	134455676	134455677
rs74545735			
1610	chr7	134455732	134455733
rs149220644			
1610	chr7	134455763	134455763

## Annexes

---

rs35431624				
1610	chr7	134456781	134456784	
rs34569487				
1610	chr7	134457135	134457135	
rs546866929				
1610	chr7	134457203	134457204	
rs11974100				
1610	chr7	134457315	134457316	
rs17188118				
1610	chr7	134458937	134458938	
rs1424426				
1610	chr7	134459110	134459111	rs5053
1610	chr7	134459205	134459206	
rs759853				

# Annexes

Select a variant Filter  15/15

Variant	Clinical Significance	MAF	Diseases	Publications
rs759853 [c.-106C>T]	—	n/a	DIABETES MELLITUS, DIABETIC RETINOPATHY, DIABETIC NEPHROPATHIES, DIABETES MELLITUS, TYPE 2, DIABETES MELLITUS, TYPE 1	40
rs564547015 [c.1A>C]	—	n/a	201300, DIABETES MELLITUS, HYPERTENSION, ALBUMINURIA, HYPOTENSION	3
rs749559219 [p.S304C]	—	n/a		2
rs5053 [rs5053]	—	n/a		2

< Page 1 of 1 >

Select a variant Filter  15/15

rs5053 [rs5053]	—	n/a		2
rs2259458 [rs2259458]	—	n/a	DIABETES MELLITUS, TYPE 2	2
rs779176563 [p.C299S]	—	n/a		2
rs1480104657 [p.Y16S]	—	n/a	NEURAL TUBE DEFECTS	1
rs1380748552 [p.H269R]	—	n/a		1
rs5058 [p.D446D]	—	n/a		1

< Page 1 of 1 >

Select a variant Filter  15/15

rs17188118 [rs17188118]	—	n/a	DIABETES MELLITUS, TYPE 2	1
rs3896278 [rs3896278]	—	n/a	DIABETES MELLITUS, TYPE 2	1
rs1424426 [rs1424426]	—	n/a	DIABETES MELLITUS, TYPE 2	1
rs2229542 [p.K90E]	—	n/a	610906, DRUG HYPERSENSITIVITY, RHINITIS, ASTHMA	1
rs758266634 [c.-11C>G]	—	n/a		1
rs1003776570 [p.S27L]	—	n/a		1

< Page 1 of 1 >

figure 30 : tableau des rs du gène AKR1B1 filtrés par LitVar