

**RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR**  
**ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**



**Université des Frères Mentouri Constantine**  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Biologie Animale**

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : *Génétique Moléculaire***

Intitulé :

---

**ETUDE STATISTIQUE ET MOLECULAIRE DU CANCER DE LA VESSIE**

---

**Présenté et soutenu par :**

**Le : 30/06/2015**

- BENLATRACHE MIRYAM  
- MAHSENE LYLIA

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury :** SATTI D. (Pr - UFM Constantine).

**Rapporteur :** CHAOUI N. (MC- UFM Constantine).

**Examineurs :** REZGOUNE D. (MC- UFM Constantine).

*Année universitaire*  
**2014 - 2015**

# Remerciements et dédicaces

# *Dieu*

*Merci,*

*De nous combler toujours et à tout moment de Vos bienfaits.*

*De nous avoir permis de poursuivre des études alors que tant d'autres en sont privés.*

*De nous avoir octroyé santé et courage et permis de mener à son terme ce travail de recherche.*

*Pour cela et tout ce que l'on ne peut compter nous Vous remercions aujourd'hui et jusqu'à l'Eternité.*

قال تعالى: { يَرْفَعُ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَ الَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ } المجادلة : 11

*« Allah élèvera en degrés ceux d'entre vous qui auront cru et ceux qui auront reçu le savoir. Allah est parfaitement connaisseur de ce que vous faites. »*

# **REMERCIEMENTS**

*Au terme de ce travail de recherche, nous tenons à remercier chaleureusement et sincèrement toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire de Master.*

*En premier lieu, tous nos remerciements et toute notre gratitude s'adressent au **Dr. Chaoui. N** notre directrice de recherche ; Ses conseils avisés et ses recommandations nous ont été d'une aide précieuse. Pour son professionnalisme, son investissement inconditionnel, et le don de sa personne, sans lesquels nous n'aurions pas pu mener à bien notre projet de recherche, pour cela et bien plus, nous lui serions à jamais reconnaissantes.*

*Toute notre considération et nos meilleurs remerciements vont également au **Pr. Satta. D** qui nous fait l'honneur de présider le jury de soutenance ainsi que pour tout le soutien dont elle nous a fait profiter tout au long de notre cursus en Master.*

*Nous remercions également **Dr. Rezgoune-Chellat. D** pour nous avoir fait l'honneur de siéger au jury de notre soutenance, de lire et d'examiner notre travail.*

*Nous remercions également **Pr. Benlatrache C** et **Pr. Abadi N** pour l'accueil qu'il nous ont réservé au sein du CHU, de toute l'aide qu'ils nous ont apportée afin de nous permettre d'effectuer notre stage pratique dans les meilleures conditions.*

*Nous remercions chaleureusement **Mlle. Ribouh Asma** et **Mr. Hireche Ahmed** pour toute l'aide qu'ils nous ont apportée tout au long de notre stage pratique.*

*A tous nos enseignants et enseignantes qui nous ont tant transmis tout au long des cinq années passées, trouvez dans la réalisation de ce travail la concrétisation de vos efforts et tous nos remerciements les plus chaleureux et les plus sincères.*

*A tous et à chacun recevez l'expression sincère de nos remerciements les plus cordiaux.*

## **Dédicaces**

*Je dédie ce mémoire ;*

*A ma mère et mon père qui sont le don impérissable de Dieu à leurs enfants,  
pour leur amour et leur soutien inconditionnels.*

*A mes trois frères **Wahid, Redha et Raouf** qui alimentent ma vie.*

*A mes belles sœurs, cousins et cousines ; sans qui, la vie serait d'un ennui  
mortel.*

*A toute ma famille, une tendre pensée.*

*A mes amis ; précieuse pensées, **Miryam, Amina, Affef, Rym, Seif El  
Islam, Madjdi, Abderrahmène** et tous ceux que je n'oublie nullement mais que  
l'espace limité de la dédicace m'empêche de tous les citer, pour leur soutien infaillible, et  
leur présence réconfortante.*

*A tout ceux qui m'aiment et ceux que j'aime.*

*A tous, je vous dis **MERCI** du fond du cœur...*

**Mahsene Lylia**

## Dédicaces

*A ma chère et tendre **Mima**, qui m'a toujours ouvert les bras, qui sait me soutenir comme personne. Qu'elle retrouve dans ces lignes l'expression de tout mon amour et toute ma gratitude.*

*A Mon **père** et ma **mère**, qui m'ont tant donné, qui m'ont toujours encouragé et cru en moi, que ce travail fasse votre fierté*

*A mes frères et sœurs **Mohamed, Ines, Sara et Badrou** que j'adore et à qui Je souhaite beaucoup de succès dans la vie et surtout beaucoup de joie et de bonheur.*

*Leila et Nana, deux tantes exceptionnelles, votre soutien m'a sûrement éclairé dans cette aventure.*

*Mes oncles et tantes, cousins et cousines recevez cet humble travail, preuve de ma respectueuse admiration et de ma sincère reconnaissance.*

*A mes anges sur terres, **Lylia, Amina, Rym et Affef** avec qui je partage le meilleur comme le pire, et sans qui la vie n'aurait aucun charme*

*A mes amis **Salah, Ibrahim, Redha et Madjdi** qui ont toujours su me rendre le sourire*

*Vous avez tous contribué à votre manière à cette réussite.*

*Et pour cela je vous remercie infiniment*

*Merci à vous tous,*

**Benlatche Miryam**

# TABLE DES MATIERES

## REMERCIEMENT ET DEDICACE

## LISTE DES ABREVIATION

## LISTE DES FIGURE

## LISTE DES TABLEAUX

<b>INTRODUCTION</b> .....	1
<b>I- PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>1. Appareil urinaire</b> .....	2
1.1. La vessie.....	2
1.1.1 Anatomie de la vessie.....	2
1.1.2 Histologie .....	3
1.1.2.1 La muqueuse vésicale.....	3
1.1.2.2 La musculature (détrusor) .....	4
1.1.2.3 L'adventice .....	4
1.1.3 Physiologie et fonctionnement de la vessie .....	4
1.1.3.1 La continence.....	4
1.1.3.2 La miction .....	4
1.1.3.3 Les mécanismes de la sécrétion urinaire.....	5
<b>2. Epidémiologie</b> .....	6
2.1 Facteurs de risque .....	7
<b>3. Anatomopathologie</b> .....	8
3.1 Tumeurs épithéliales.....	8
3.2 Tumeurs non épithéliales.....	8
<b>4. Génétique du cancer de la vessie:</b> .....	10
4.1 FGFR3 (Fibroblast Growth Factor Receptor 3) .....	10
4.2 EGFR (Epidermal Growth Factor) : .....	10
4.3 Myelocytomatosis.....	11
4.4 Harvery Rat Sacrome .....	11
4.5 Le gène RB / P53 .....	11
4.6 Le gène MTHFR.....	12
4.6.1 La fonction.....	13
4.6.2 Les polymorphismes du gène MTHFR .....	14
4.6.2.1 Le polymorphisme c677t du gène de la MTHFR .....	14
4.6.2.2 Le polymorphisme a1298c du gène de la MTHFR .....	14
<b>5.SYMPTOMES,DIAGNOSTICET TRAITEMENT</b> .....	15
5.1 Les symptômes et signes cliniques .....	15
5.2 Examens à visée diagnostique .....	15
5.2.1 Interrogatoire : .....	15
5.2.2 Cytobactériologie des urines : .....	15

5.2.3 Examen abdominal : .....	15
5.2.4 Confirmation du diagnostic.....	16
5.2.4.1 Cytologie urinaire : .....	16
5.2.4.2 Echographie vésicale : .....	16
5.2.4.3 Urographie intraveineuse (uiv) : .....	16
5.2.4.4 La cystoscopie : .....	16
5.2.4.5 Examen anatomopathologique : .....	16
5.3 Traitement des tumeurs de la vessie .....	17
5.3.1 Résection transurétrale de la vessie (rtuv) .....	17
5.3.2 Cystectomie totale .....	17
5.3.3 Chimiothérapie .....	17
5.3.4 Radiothérapie.....	17
5.3.5 Immunothérapie par BCG.....	18

## **II- METHODOLOGIE**

<b>1. PATIENTS ET TEMOINS</b> .....	<b>19</b>
1.1 Recrutement des sujets .....	19
1.1.1 Critères d'inclusion .....	19
1.1.2 Critères d'exclusion .....	19
<b>2. METHODES</b> .....	<b>20</b>
2.1 Prélèvement sanguin .....	20
2.2 Questionnaire .....	20
2.3 Etude épidémiologique.....	20
2.4 Etude génétique .....	20
2.4.1 Extraction d'ADN.....	20
2.4.2 Détermination de la pureté de l'ADN .....	21
2.4.3 Génotypage du polymorphisme MTHFR A1298C .....	22
2.4.3.1 PCR (Polymerase Chain Reaction) .....	22
2.4.3.2 Contrôle PCR : .....	22
2.4.3.3 Digestion des produits de PCR : .....	23
2.5 Etude statistique .....	24
2.5.1 Statistique descriptive: .....	24
2.5.2 Statistique analytique: .....	24
2.5.2.1 Calcul de l'Odds Ratio.....	24
2.5.2.2 Les intervalles de confiance: .....	25
2.5.2.3 Choix de la "p value " .....	25

## **III- RESULTATS ET DISCUSSION**

<b>1. ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE</b> .....	<b>26</b>
1.1 Répartition des sujets selon le sexe .....	26
1.2 Répartition des sujets selon la tranche d'âge .....	27



1.3 Répartition des sujets selon le statut tabagique.....	28
1.4 Répartition des sujets selon l'exposition aux facteurs professionnels.....	29
1.5 Répartition selon les antécédents familiaux .....	30
<b>2. ETUDE GENETIQUE.....</b>	<b>31</b>
2.1 Profils RFLP obtenus.....	31
2.2 Répartition des fréquences génotypiques et association au risque du cancer vésical.....	32

#### **IV- CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

#### **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

#### **ANNEXES**

#### **RESUMES**

## LISTE DES ABREVIATIONS

<b>ADN</b>	Acide Désoxyribo Nucleique
<b>BBP</b>	Bleu de Bromophénol
<b>BCG</b>	Bacille Calmette Guérin
<b>BET</b>	Bromure d'Etidium
<b>CCT</b>	Le carcinome à cellule transitionnelle
<b>CHUC</b>	Centre Hospitalo Universitaire Constantine
<b>CMV</b>	Cisplatine, Methotrexate, Vinblastine
<b>DO</b>	Densité Optique
<b>EDTA</b>	Ethylene Diamine tetracetique
<b>EGF</b>	Epidermal Growth Factor
<b>EGFR</b>	Epidermal Growth Factor
<b>FAD</b>	Dinucléotide adénine flavine
<b>FGFR3</b>	Fibroblast Growth Factor Receptor 3
<b>GemCis</b>	Gemcitabine et Cisplatine
<b>GSTM</b>	Glutathione S-Transferase-Mu
<b>HAP</b>	Hydrocarbure aromatique polycyclique
<b>H-ras</b>	Harvery Rat Sarcoma
<b>KD</b>	Kilo Dalton
<b>K-ras</b>	Kirsten Rat Sarcoma Viral
<b>MALT</b>	Mucosa Associated Lymphoid Tissue
<b>Mg+2</b>	Ions de magnesium
<b>MTHFR</b>	Méthylène tetrahydrofolate Reductase
<b>MVA</b>	Methotrexate, vinblastine, Adrincine, cysplatine
<b>MVAC</b>	Methotrexate, vinblastine, Adrincine, cysplatine
<b>MYC</b>	MYelocytomatosis oncogène

<b>NaCl</b>	Chlore de Sodium
<b>Nat</b>	N-acethyle transferase
<b>N-Ras</b>	Neuroblastoma Rat Sarcoma Viral
<b>OMS</b>	Organisation Mondial de la santé
<b>OR</b>	Odds Ratio
<b>P16</b>	Tumor protein of 16 kilo Dalton
<b>P53</b>	Proteine de 53kilo Dalton
<b>Pb</b>	Paire de Base
<b>PCR</b>	Polymerase Chain Reaction
<b>Phase G1</b>	Growth Phase 1
<b>Phase S</b>	Synthesis Phase
<b>RB</b>	Retinoblastome
<b>RFLP</b>	Restriction Fragment Length Polymorphim
<b>RTUV</b>	Résection transurétrale de la vessie
<b>SAM</b>	S-adénosylméthionine
<b>SDS</b>	Sodium Dodécyle Sulfate
<b>SFRP1</b>	Secreted Frizzled Related Protein 1
<b>SNP</b>	Single Nucleotid polymorphism
<b>T1</b>	Tumeur envahissant le chorion
<b>Ta</b>	Carcinome papillaire non invasif
<b>TBE</b>	Tris Broate EDTA
<b>TGFa</b>	Transforming Growth Factor alpha
<b>TNM</b>	Tumor Node Metastase
<b>UIV</b>	Urographie intraveineuse
<b>UV</b>	Ultra Violet

## **LISTE DES FIGURES**

<b>Figure 1</b> : Anatomie de l'appareil urinaire	<b>2</b>
<b>Figure 2</b> : Coupe de vessie- vue en face	<b>3</b>
<b>Figure 3</b> : Représentation du chromosome 1	<b>13</b>
<b>Figure 4</b> : Schéma simplifié des enzymes clés impliqués dans le métabolisme des folates	<b>13</b>
<b>Figure 5</b> : Profil d'électrophorèse sur d'agarose a 2% des fragments amplifiés (163pb) par PCR	<b>23</b>
<b>Figure 6</b> : Répartition des sujets selon le sexe	<b>26</b>
<b>Figure 7</b> : Répartition des sujets selon l'âge	<b>27</b>
<b>Figure 8</b> : Répartition des sujets selon le statut tabagique	<b>28</b>
<b>Figure 9</b> : Répartition des patients selon l'exposition aux facteurs professionnels	<b>29</b>
<b>Figure 10</b> : Répartition des patients selon leurs antécédents familiaux	<b>30</b>
<b>Figure 11</b> : profils RFLP obtenus	<b>31</b>

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1</b> : Fréquences génotypiques du polymorphisme <i>A1298C</i> de la MTHFR parmi témoins et patients et association au risque du cancer vésical.....	32
---	----

# Introduction

Une des causes majeures de morbidité et de mortalité dans le monde est le Cancer. 14 millions de nouveaux cas dont 8,2 millions de décès en 2012. D'après les projections, la mortalité estimée due au cancer risque de dépasser les 13,1 millions de décès en 2030 (1,2).

Le cancer de la vessie, occupant la 9<sup>ème</sup> position dans le monde (3), est le 1<sup>er</sup> des cancers de l'appareil urinaire, 5<sup>ème</sup> chez l'homme et 12<sup>ème</sup> chez la femme (4). La moyenne d'âge est de 65ans (4,5).

Les tumeurs vésicales sont réparties en deux groupes, les tumeurs superficielles respectant le muscle vésical (80% des cas), et les tumeurs infiltrantes qui envahissent le muscle vésical (20% des cas) (6).

De nombreuses recherches ont montré que cette maladie est multifactorielle, en effet le cancer vésical serait favorisé surtout par le tabagisme, certaines expositions professionnelles, et la constitution génétique (7).

De ce fait, il s'est avéré que les personnes exposées avec un facteur de risque et qui auraient une carence en folates augmenteraient jusqu'à 30% le risque de développer une tumeur vésicale (8).

L'implication du folate dans la cancérogenèse serait due à son rôle double : d'une part dans la méthylation de l'ADN, qui règle l'expression des oncogènes et d'autre part dans la synthèse des purines et pyrimidines, qui est essentiel à la réparation d'ADN (8). Plusieurs gènes seraient impliqués dans le métabolisme des folates, parmi ces gènes le méthylène tétrahydrofolate réductase plus communément appelée *MTHFR*, catalyserait la réaction irréversible 5,10-méthylène tétrahydrofolate en 5-méthyl tétrahydrofolate. Deux polymorphismes du gène *MTHFR* ont été associés à plusieurs cancers (*C677T* et *A1298C*) (9,10).

Une altération au niveau de l'enzyme *MTHFR* entrainerait une hypométhylation de l'ADN favorisant par l'occasion une instabilité génomique et une activation des proto-oncogènes par la dérégulation de leurs promoteurs (11,12).

L'objectif de ce travail est de rechercher :

- Les facteurs de risques les plus courants chez les sujets ayant des tumeurs vésicales.
- Si le polymorphisme *MTHFR A1298C* est impliqué ou non dans la carcinogénèse vésicale.

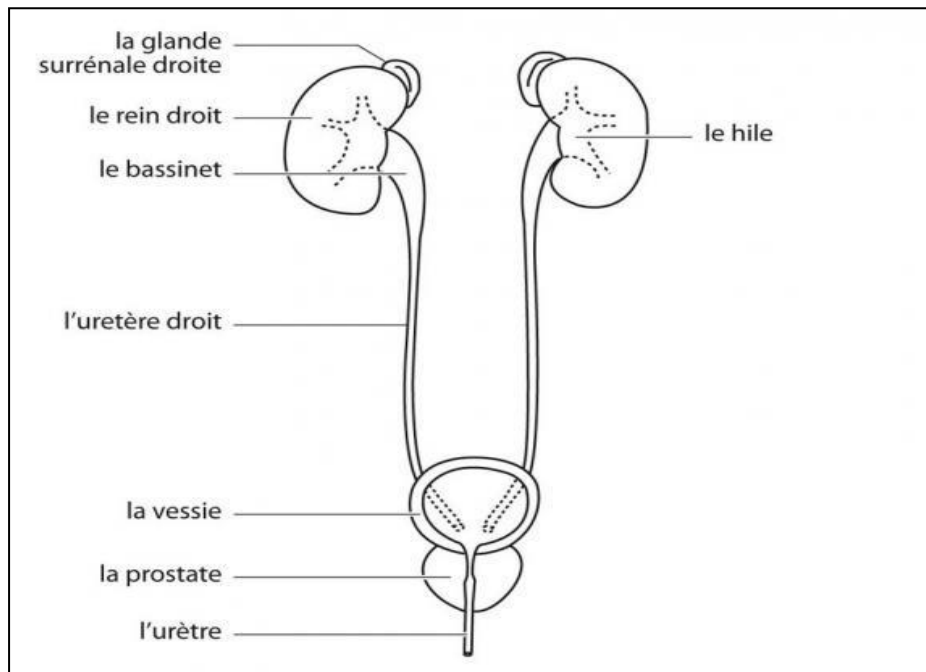
# Etude bibliographique



## **1. APPAREIL URINAIRE**

L'appareil urinaire est une succession d'organes constituée de : deux reins, deux uretères, la vessie et l'urètre.

Cet appareil permet l'expulsion après filtrage des produits du catabolisme du corps humain sous une forme liquide : l'urine, et assure par conséquent l'épuration du sang ainsi que le maintien de l'homéostasie au sein de l'organisme <sup>(13)</sup>. (Figure1)



**Figure 1** : Anatomie de l'appareil urinaire <sup>(1iw)</sup>

### **1.1. LA VESSIE**

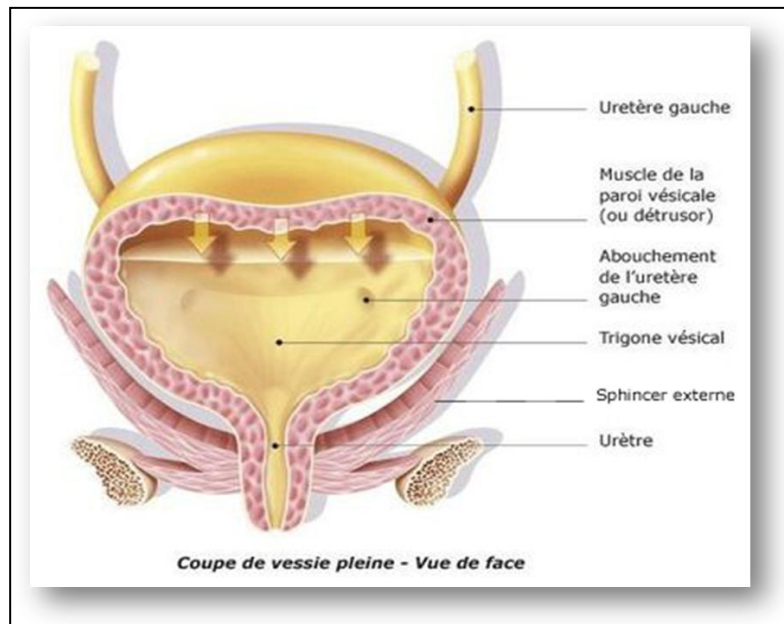
#### **1.1.1 Anatomie de la vessie**

La vessie est une poche où est stockée l'urine produite par les reins. Sa paroi est extensible : c'est un muscle qui peut s'agrandir et se rétrécir, permettant à la vessie de contenir une certaine quantité d'urine. Celle-ci est située dans le bas ventre où elle est complètement plate lorsqu'elle est vide, et se dilate et gonfle lorsqu'elle est remplie d'urine <sup>(13,14)</sup>.

Les reins produisent de l'urine en permanence. Cette urine descend des reins dans la vessie par deux longs tubes «les uretères » et est progressivement recueillie par la vessie. Elle est ensuite évacuée par un autre conduit, l'urètre. Les deux mots se ressemblent : si les uretères comme l'urètre conduisent tous deux l'urine, l'« urètre » a une fonction supplémentaire, celle de pouvoir retenir ou vidanger l'urine, ce qu'on appelle la continence.

La vessie d'un adulte mesure environ 6 centimètres de long et 5 centimètres de large ; elle peut contenir 500ml de liquide, doublant cette capacité si nécessaire. La vessie se remplit progressivement ; à partir d'un certain degré de remplissage aux environs de 300ml, le besoin d'uriner se fait ressentir.

Chez la femme, l'urètre est court, situé devant le vagin, il débouche au niveau de la vulve. Chez l'homme, l'urètre est plus long, il passe à travers la prostate et le pénis pour déboucher à son extrémité <sup>(14)</sup>. (Figure2)



**Figure 2** : coupe de vessie- vue en face <sup>(2iw)</sup>

### **1.1.2 Histologie**

La paroi de la vessie qui mesure environ un demi-cm d'épaisseur est constituée de trois couches de cellules qui sont :

#### **1.1.2.1 La muqueuse vésicale**

Appelée également Urothélium tapissant l'intérieur de la vessie, elle est pluristratifiée et fait partie de la membrane génito-urinaire, elle est assez mince, blanchâtre surtout vers le col <sup>(14)</sup> liée à la musculuse par le chorion <sup>(15)</sup>. Le revêtement interne de la vessie, tolère de grandes distensions et supporte la toxicité de l'urine <sup>(14,16)</sup>.

### **1.1.2.2 La musculeuse (Détrusor)**

La musculeuse appelée aussi « Détrusor » est constituée de faisceaux musculaires lisses entrecroisés. Située au milieu de la paroi de la vessie, elle lui permet de se dilater et se contracter selon les besoins physiologiques (14,15).

### **1.1.2.3 L'adventice**

Egalement appelée « tunique externe ou conjonctive » (14). C'est un tissu conjonctif, constitué d'une grande variété de protéines entrant dans la composition d'un tissu de soutien comme le collagène entre autres. Elle contient les structures vasculaires (15).

## **1.1.3 Physiologie et fonctionnement de la vessie**

L'urine est un liquide jaune ambré, d'odeur spéciale, de réaction en général acide, de densité de 1,020. Le rein élimine en les concentrant certains éléments du sang, cette élimination est sélective puisque le rein retient, sans les éliminer, d'autres éléments (protides). Enfin, le rein a des fonctions de synthèse puisque l'urine contient des éléments que l'on ne trouve pas dans le sang et qui ne peuvent avoir été fabriqués que par le rein (17).

### **1.1.3.1 La continence**

La continence urinaire est le résultat d'un équilibre entre la pression intra-vésicale et la pression intra-urétrale. Elle dépend d'un système neuromusculaire complexe. Pendant la phase de remplissage vésical, la pression urétrale reste supérieure à la pression vésicale chez le sujet continent (13, 14,18).

Le cycle continence-miction est rendu possible par une succession de réflexes intégrés, l'ensemble étant sous contrôle de la volonté. Ainsi la phase de continence est plus longue que la phase mictionnelle vu que La vessie se remplit d'urine et à un certain degré ça se ressent grâce à des capteurs nerveux, des tensio-récepteurs, sensibles à la différence de tension de la paroi de la vessie dans laquelle ils sont situés (19).

### **1.1.3.2 La miction**

Au moment d'uriner ce qui est l'atteinte de la capacité physiologique (300 ml), les récepteurs à l'étirement de la paroi vésicale transmettent des influx nerveux aux centres cérébraux supérieurs qui nous informent de l'envie d'uriner ce qui fait que la paroi musculaire de la vessie « le Détrusor » se contracte, l'orifice situé à la base de la vessie s'ouvre et l'urine s'évacue par l'urètre ; c'est la phase de vidange, qu'on appelle aussi la miction (13,14,20).

### 1.1.3.3 Les mécanismes de la sécrétion urinaire

- *La filtration glomérulaire* : La filtration glomérulaire est la filtration de sang pendant son passage dans la pelote capillaire du glomérule ce qui produit l'urine primitive ou filtrat glomérulaire. Le volume du filtrat urinaire glomérulaire est de 180 litres/24h dont la majorité est réabsorbée.
- *La réabsorption tubulaire* : La réabsorption tubulaire est un processus qui vise à réabsorber certains constituants de l'urine primitive faisant passer le volume du filtrat de 180 litres/24h à 1,5 litre/24h (urine définitive). La réabsorption tubulaire s'effectue selon deux processus :
  - Un processus passif, n'exigeant aucune énergie cellulaire mais qui dépend des pressions et des concentrations.
  - Un processus actif impliquant un travail cellulaire sous la dépendance de réactions enzymatiques avec un taux maximal de réabsorption.
- *L'excrétion tubulaire* : L'excrétion tubulaire est l'excrétion de ce qui est étranger à l'organisme par les cellules des tubes. A ceci s'ajoute les ions  $H^+$  et les ions ammonium sécrétés par le métabolisme des cellules des tubules <sup>(17)</sup>.

## **2. EPIDEMIOLOGIE**

Peu connu, le cancer de la vessie est le 9<sup>ème</sup> cancer le plus fréquent dans le monde (3), particulièrement répandu en Europe du Sud et de l'Est, dans certains pays d'Afrique, au Moyen-Orient et en Amérique du Nord (7).

La prévalence du cancer de la vessie est la plus élevée de toutes les tumeurs de l'appareil urinaire (4). Il touche généralement et le plus souvent les personnes les plus âgées, à partir de 60 ans surtout (5,21, 22), avec une dominance masculine de 80% (5) et un sex-ratio de 4/1 (15).

Dans les pays développés, il occuperait la 4<sup>ème</sup> place chez l'homme et la 9<sup>ème</sup> chez la femme, tandis qu'il est en 5<sup>ème</sup> position chez l'homme, 12<sup>ème</sup> chez la femme en termes de fréquence, à travers le monde (4,7).

**Incidence :** représente le nombre de nouveaux cas observés sur une période donnée, généralement une année. (22)

En 2006, le nombre de nouveaux cas chez les hommes en Europe est de 82000 soit une incidence de 6.6% des cancers tandis que chez les femmes c'est 21600 soit 2% (23).

Le cancer de la vessie occupe la 5<sup>ème</sup> place du point de vue incidence, et la 2<sup>ème</sup> dans les cancers urologiques après celui de la prostate, son incidence est en perpétuelle augmentation 1% par an (5).

**Mortalité :** Chaque année dans le monde, environ 145 000 patients meurent d'un cancer de la vessie. En l'an 2008, il occupait la 8<sup>e</sup> cause de décès dû à un cancer en Europe, et le 7<sup>ème</sup> rang des décès tous cancers confondus 2012 (5,24).

Dans l'ouest Algérien, des études épidémiologiques ont été faites sur 348 cas de cancers de l'appareil urinaire à Sidi Bel Abbès, et il a été remarqué une prédominance du cancer de la vessie avec 210 cas soit 60.30% (25).

## 2.1 Facteurs de risque

Il faut préciser qu'un facteur de risque n'est pas forcément la cause en elle-même, mais sa présence favorise l'apparition de ces tumeurs.

Le facteur de risque principalement connu est le tabagisme, ainsi que d'autres facteurs environnementaux, tels que les infections urinaires chroniques bactériennes ou parasitaires dues *Schistosoma haematobium* (23).

- **Tabagisme** : augmente le risque de 2 à 4 fois chez les fumeurs, 30 à 50% des cancers de la vessie sont dûs au tabac (23).
- **Infection chronique des voies urinaires** : peut-être causée par une inflammation ou un traumatisme de la vessie. L'inflammation peut être due à une infection chronique des voies urinaires ou à des calculs vésicaux (26,27). Cela peut être due élargement à des infections microbiennes, la plus connue est celle provoquée par *Schistosoma haematobium*, un parasite qui provoque des hématuries (sang dans les urines), couramment une fibrose de la vessie et de l'urètre, ainsi que le cancer de la vessie (28), son association aux tumeurs urothéliales a été retrouvée pour la première fois en 1911 au moyen orient et surtout dans la région du Nil par Ferguson. (15,29)
- **Expositions professionnelles** : l'exposition à des carcinogènes, (les amines aromatiques/ alpha-naphthylamine et bêta-naphthylamine), est aussi un facteur de risque pour les personnes travaillant dans les industries du textile, peinture, cuir, plastique ... (5).
- **Alimentation** : la consommation d'eau contenant beaucoup d'Arsenic (27,29).
- **Cause iatrogènes** : telles que les radiothérapies ou chimiothérapies au niveau de l'abdomen ou bassin, ou des traitements avec des doses élevées de (cyclophosphamide, ou ifosfamide), ou la consommation excessive d'antalgiques (23,26, 27).
- **Le sexe et l'âge** : l'âge pourrait bien être un facteur de risque, vu que ces tumeurs apparaissent le plus souvent chez les personnes âgées, et de sexe masculin (5,25).
- **Facteur Génétique** : Encore en cours d'étude, et jusqu'à présent, aucune étude n'a réellement pu prouver sérieusement qu'un facteur héréditaire peut causer le cancer de la vessie. Cependant, il y a des études qui ont démontré un lien entre certains gènes et le risque de cancer de la vessie, telles que des mutations au niveau des gènes *NAT2* et *GSTM* (27).

## **3. ANATOMOPATHOLOGIE**

On peut distinguer deux groupes de tumeurs de la vessie : les tumeurs superficielles respectant le muscle vésical (80% des cas), et les tumeurs infiltrantes qui envahissent et dépassent le muscle vésical (20% des cas) (6).

Sur le plan histologique, on remarque que 90 % des tumeurs de la vessie gardent certains caractères de la muqueuse normale de la vessie, ce sont les "tumeurs urothéliales". Les tumeurs dites "non-urothéliales" (en particulier quand la tumeur est liée à une irritation chronique de la paroi de la vessie par un calcul, une sonde, ...) sont beaucoup plus rares (10%) (3iw).

### **3.1 Tumeurs épithéliales**

Cette catégorie regroupe :

- **Le carcinome à cellule transitionnelle de la vessie CCT**, il représente 90% des tumeurs de vessie. Il s'agit d'un cancer plan de la muqueuse. Les cellules sont normalement agencées et les noyaux sont de taille normale et ne présentent pas de modification de leur chromatine et on observe peu d'images de mitose (30).
- **Le carcinome épidermoïde** : plus rare avec un pourcentage ne dépassant pas 5% (30), il touche l'épithélium transitionnel de la vessie et affecte particulièrement les cellules dites squameuses de la vessie (cellules épithéliales mince et plate, qui ressemblent à une écaille de poisson), le plus souvent il est associé à une infection causée par un vers parasite (31,32).
- **L'adénocarcinome** : Avec un taux inférieur à 2%, il affecte les cellules glandulaires du revêtement de la vessie. Il peut aussi apparaître dans les glandes de l'urètre situées près de la prostate (31,32).

### **3.2 Tumeurs non épithéliales**

Les tumeurs non épithéliales de la vessie représentent moins de 5 % des tumeurs de la vessie.

Il s'agit d'un groupe hétérogène de tumeurs : (33)

- **Bénignes** : regroupent les tumeurs conjonctives bénignes telles que les hémangiomes et les neurofibromes, leur pronostic est favorable (34).
- **Malignes** : sont essentiellement représentées par les sarcomes, et les mélanomes vésicaux qui ont un mauvais pronostic. Les lymphomes qui sont, par contre de bon pronostic (34).

- **Le carcinome à petites cellules :** C'est une tumeur agressive, il se pourrait qu'elle coexiste avec le carcinome transitionnel. Le plus souvent on ne peut pas éviter la chimiothérapie qui sera suivie d'une cystectomie (ablation chirurgicale de la vessie) (31,32).
- **Le sarcome :** plus rare, les tumeurs diagnostiquées comme étant un sarcome sont souvent reclassées comme carcinosarcome. La chirurgie est le traitement habituel. (31,32)
- **Le lymphome :** Avec une faible prévalence, il est souvent apparenté aux lymphomes du MALT (Mucosa Associated Lymphoid Tissue), bien qu'aucun antigène n'a été encore individualisé pour la vessie. Plusieurs hypothèses physiopathologiques ont été lancées pour pouvoir expliquer la pathogénie de ce type de lymphome mais devant la rareté de cette localisation on n'a pas encore chiffré la physiopathologie (35,36).

Le pronostic dépend du grade et surtout du stade de la tumeur.

- Le grade dépend de l'importance des anomalies des cellules tumorales. Le grade des carcinomes est basé sur l'appréciation d'anomalie architecturale (épaisseur de l'urothélium, maturation en superficie..) cytologie (anomalie nucléaire et des mitoses) de l'urothélium et ne tient pas compte du caractère invasif ou non de la tumeur (§ Annexe 1 : Tableau 1). Il est en rapport avec l'agressivité de la tumeur et constitue un facteur pronostique important dans les tumeurs Ta et T1. (3iw, 37)
- Le stade de la tumeur est déterminé par la profondeur de la tumeur dans la paroi vésicale c'est-à-dire la profondeur atteinte par les racines de la tumeur dans le tissu, l'extension éventuelle de la tumeur en dehors de la vessie (envahissement de la graisse, des organes de voisinage comme la prostate ...), et la présence éventuelle d'un envahissement des ganglions ou d'autres organes à distance (métastase).

Le stade de la tumeur est caractérisé par la classification dite "TNM" (§ Annexe 1 : Tableau 2).

- **Les tumeurs superficielles :** dites aussi papillomes, ou polypes. Ce type de tumeur ne prend pas racine, ne s'enfonce que de façon superficielle dans la paroi de la vessie. (3iw)
- **Le carcinome in-situ :** tumeur plate, non papillaire, située dans l'épaisseur même de la muqueuse. Elle peut être seule (10 %), ou le plus souvent associée à un ou plusieurs polypes.
- **Les tumeurs infiltrantes :** leur racine va profondément dans la paroi de la vessie, jusqu'à la couche dite "musculaire". (3iw)



## **4. GENETIQUE DU CANCER DE LA VESSIE**

Comme tout cancer, les tumeurs de la vessie résultent d'une perturbation au niveau de l'homéostasie cellulaire, une sorte de déséquilibre entre prolifération et différenciation cellulaire et apoptose, qui a lieu suite à des altérations génétiques ou épigénétiques qui perturbent l'équilibre entre activation et inhibition.

On distingue deux classes différentes de gènes impliqués dans la néoplasie :

- **les proto-oncogènes** qui une fois altérés deviennent des oncogènes, codant des protéines aussi diverses que les facteurs de croissance, leurs récepteurs.

- **les suppresseurs de tumeurs** dont l'inactivation de leurs produits par perte de fonction bi-allélique se traduit par l'absence du signal de non-prolifération cellulaire (38,39,40).

Parmi ces gènes, un grand nombre est impliqué dans le cancer de la vessie.

### **4.1 Fibroblast Growth Factor Receptor 3 (FGFR3)**

C'est une famille de récepteurs à activité tyrosine kinase codés par 4 gènes différents dont le FGFR3, situé sur le chromosome 4p16.3 et composé de 19 exons ; crucial dans les phases initiatrice et non pas dans la progression tumorale. Le récepteur 3 des facteurs de croissance des fibroblastes (FGFR3) est un oncogène majeur des tumeurs de la vessie. Il est impliqué jusqu'à 88% dans les carcinomes Ta et 20 % dans les différents autres stades (39,40).

Ce récepteur est une glycoprotéine transmembranaire de 806 acides aminés, ayant dans sa région extracellulaire jusqu'à trois domaines de type immunoglobuline et dans la région intracellulaire un domaine tyrosine kinase, important dans la voie de signalisation régulant la prolifération et différenciation cellulaire (41). Ce n'est que suite à son interaction avec le ligand qu'il y a dimérisation du récepteur et transphosphorylation des domaines kinases. Une fois le récepteur activé il acquiert la capacité de se lier et de phosphoryler des protéines effectrices déclenchant ainsi dans la cellule différentes cascades de signalisation. (40,42)

### **4.2 Epidermal Growth Factor (EGFR)**

Le récepteur du facteur de croissance de l'épiderme est une protéine transmembranaire à activité tyrosine kinase dont le gène est localisé sur 7p12.3 et composé de 28 exons. le récepteur est doté d'un domaine extracellulaire assurant sa fixation avec ses différents ligands principalement (l'EGF, TGF $\alpha$ ) (41w, 43).

Des études faites sur des tissus tumoraux des patients atteints de cancer de la vessie, ont montré qu'il y aurait un rapport entre la surexpression de l'EGFR ainsi que l'EGFR associé à ses ligands et la progression tumorale vésicale. (39,40)

### **4.3 Myelocytomatosis (Myc)**

Facteur de transcription, dont le gène est localisé sur le bras long du chromosome 8 et codant pour des phosphoprotéines nucléaires, qui sont d'importants régulateurs de la prolifération cellulaire et pourraient promouvoir l'expression de la cycline D et de kinases cycline-dépendantes 4, un complexe qui phosphorylerait la protéine du rétinoblastome (RB), et promouvoir, ainsi, la libération du facteur de transcription E2F.

Les surexpressions dans certains carcinomes de haut grade ont été mises en évidence par hybridation in situ et l'hybridation génomique comparative dans certains carcinomes vésicaux infiltrants. Cependant il s'avère qu'il n'y a pas encore de conclusion définitive concernant l'association de ce gène et sa surexpression avec le grade du cancer de la vessie (40).

### **4.4 Harvery Rat Sarcoma (H-ras)**

La famille de gènes Ras est composée de H-ras, K-ras et N-ras, situées sur le bras court du chromosome 11, les protéines codées ont une fonction oncogénique, ce sont des oncogènes fréquemment activés dans les cancers, mais seule la mutation H-ras est étroitement liée au cancer de la vessie (40,43).

Les mutations sont généralement situées au niveau du codon 12 (glycine-valine), le codon 13 (glycine-cystéine) et le codon 61 (glutamine-arginine, lysine ou leucine). La protéine produite après mutation perd sa fonction d'hydrolyse, ce qui conduit à l'activation constante de la protéine G ainsi une transduction incessante de signaux, et une prolifération excessive des cellules.

Il semblerait que la surexpression d'H-ras soit en relation avec la récurrence de tumeurs urothéliales non invasives de la vessie (40).

### **4.5 Le gène RB / P53**

Chacune des deux protéines jouent un rôle essentiel dans la régulation du cycle cellulaire, ayant pour fonction de le bloquer au point de contrôle G1/S, afin de permettre la réparation de l'ADN ou l'orientation vers l'apoptose.

**Le gène Rb** du rétinoblastome est le premier gène suppresseur de tumeur qui fut découvert. Il est localisé sur la position 13q14.2 et code pour une protéine (PRB) de 110KD. Il permet à la cellule l'entrée en phase S. (38, 40,44)

Impliqué dans différents types de tumeurs telles que celles du poumon, du sein...etc. Les mutations du gène Rb, sous l'influence de certains facteurs ou la perte d'hétérozygotie, sont fréquentes dans le cancer de la vessie, en effet n'étant plus exprimée, la protéine Rb ne joue plus son rôle d'inhibiteur, elle procure ainsi aux cellules le pouvoir de lever le frein biologique posé par la présence de la PRB hypophosphorylé et continuer la progression du cycle cellulaire (41,42).

**La P53** : également appelée la gardienne du génome, est caractérisée d'une demi-vie très courte, cette protéine est codée par un gène en position 17p13.1. Elle est la plus fréquemment impliquée dans le développement tumoral (50% des cancers), la durée de sa demi-vie augmente suite à différentes mutations, changeant ainsi ses propriétés anti-oncogènes, ce qui permet à la cellule de croître anarchiquement.

La surexpression de cette protéine est retrouvée dans les tumeurs les plus agressives et les moins contrôlables des tumeurs vésicales (15,40, 45).

- ❖ D'autres gènes, impliqués dans le cancer de la vessie, ont été mis en évidence tels que le Secreted Frizzled Related Protein 1(sFRP), qui est localisé sur le 8p12, et dont la délétion est associée à plus de 25% des carcinomes vésicaux de haut grade et haut stade. La P16 qui est codée par un gène localisé sur 9p21 et dont la perte d'homozygotie a été trouvée dans 14% des cancers urothéliaux non invasifs de la vessie (40).
- ❖ Du point de vue cytogénétique les remaniements interchromosomiques n'ont pas encore été décrits, tandis que les délétions sont assez fréquentes, en effet il y aurait plus de perte que de gains (15,40).

#### **4.6 Le gène MTHFR**

Le gène MTHFR est localisé sur le chromosome 1p36.3, est constitué de 12exons, et situé précisément entre les pb 11845786 jusqu'à la pb 11866159 (9, 10,15). (Figure3)

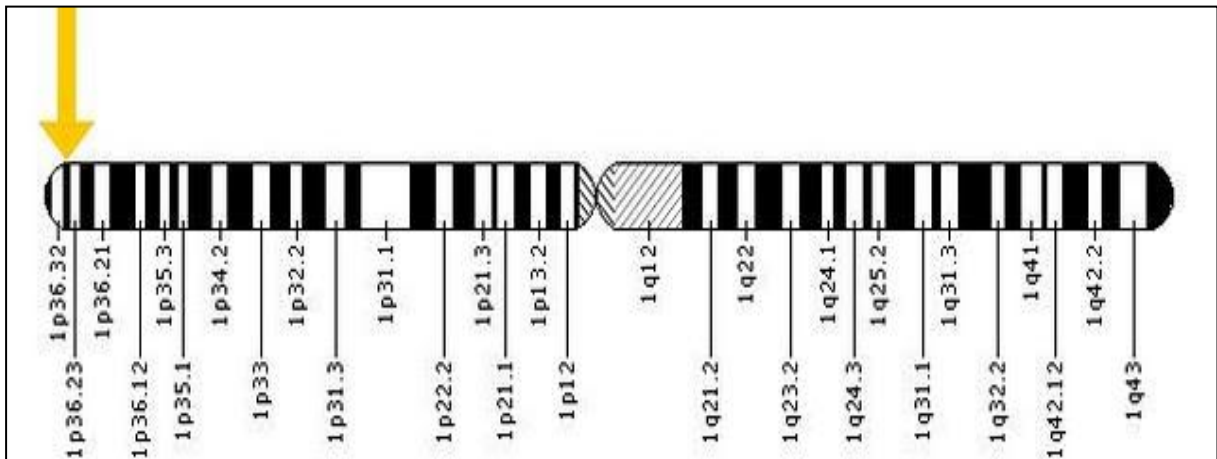


Figure 3 : représentation du chromosome 1 (5iw).

#### 4.6.1 Fonction

La 5,10-méthylène tétrahydrofolate réductase, plus communément appelée MTHFR, possède un site de liaison avec la flavine dinucléotide adénine (FAD) comme cofacteur, catalysant le 5,10-méthylène tétrahydrofolate en 5-méthyl tétrahydrofolate, indispensable à la reméthylation de l'homocystéine en méthionine (9).

La protéine Méthylentétrahydrofolate réductase et la méthionine synthase sont des enzymes cruciales dans la voie métabolique des folates.

L'acide folique est une vitamine importante de groupe complexe B, non seulement dans la synthèse de l'ADN, mais également dans le maintien des réactions de méthylation de la cellule. L'insuffisance en folates, pourrait induire la carcinogenèse et cela en affectant la synthèse de l'ADN et sa méthylation. (8, 46,47). (Figure 4)

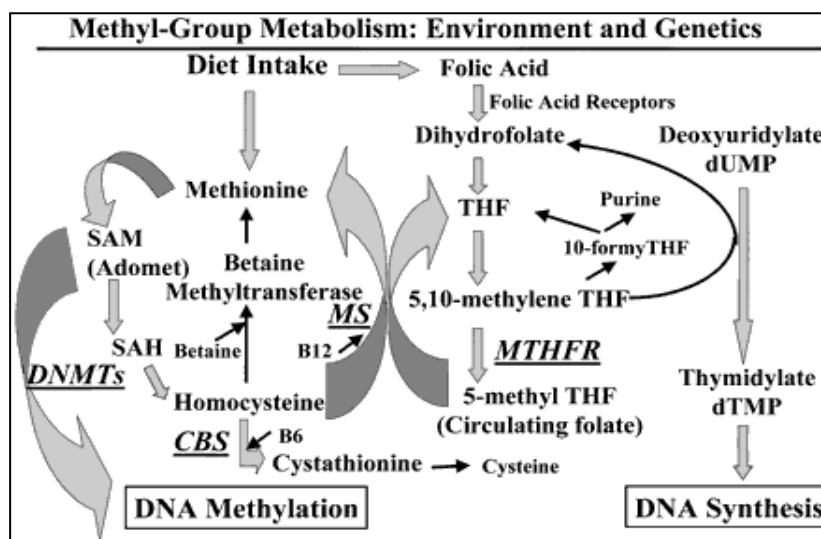


Figure 4 : Schéma simplifié des enzymes clés impliquées dans le métabolisme des folate (48).

### **4.6.2 Les polymorphismes du gène MTHFR**

Les données concernant le gène MTHFR rapportent principalement deux polymorphismes, le *C677T* et l'*A1298C*. Ils représentent les polymorphismes les plus communs et les mieux décrits du gène MTHFR. Par ailleurs, un autre SNP a été également rapporté, le *G1793A*. Ce dernier est moins commun, et il n'existe aucune certitude concernant son impact fonctionnel sur la protéine (49).

#### **4.6.2.1 Le Polymorphisme C677T du gène de la MTHFR**

Le polymorphisme *C677T* se situe à la base du site de fixation au cofacteur FAD du gène MTHFR et survient au niveau de l'exon 4 (50). Il est caractérisé par une transition du nucléotide cytosine par la thymine en position 677, il s'ensuit une substitution du résidu alanine par la valine en position 222 (A222V) (51). Cette mutation, à l'état homozygote ou hétérozygote est corrélée avec une réduction de l'activité enzymatique est une augmentation de la thermolabilité enzymatique (51,52). En comparaison au génotype homozygote de l'allèle sauvage du polymorphisme *C677T*, les individus ayant un génotype *677TT* ne présentent que 30% de l'activité enzymatique de MTHFR in vitro, tandis que les individus hétérozygotes *677CT* présentent une activité enzymatique de MTHFR s'élevant à 60% (53).

#### **4.6.2.2 Le polymorphisme A1298C du gène de la MTHFR**

Le second polymorphisme, *A1298C* au niveau de l'exon 7, engendre la substitution de l'acide aminé Glutamate en acide aminé Alanine au niveau du codon 429. Ce polymorphisme siège au niveau du domaine régulateur S-adenosyl-méthionine de cette enzyme. La fixation de la S-adenosylméthionine (SAM) résulte dans le changement de conformation de l'enzyme MTHFR qui, à son tour inhibe son activité enzymatique (54). Des lymphocytes d'individus de génotype *1298CC* ont montré une activité enzymatique de MTHFR évaluée à 60% par rapport au type sauvage (55). Cependant, ce polymorphisme ne semble pas atténuer suffisamment la fonction enzymatique au point d'altérer la reméthylation de l'homocysteine. Il a été rapporté que le génotype homozygote *1298CC* ne conférait pas de thermolabilité à l'enzyme MTHFR (36). Cependant, le génotype hétérozygote *1298AC* associé au génotype hétérozygote du polymorphisme *677C>T*, augmenterait le risque de survenue de l'hyperhomocystéinémie et la diminution du taux plasmatique de folate (54). L'allèle *1298C* est présent à une fréquence similaire (approximativement 9 à 10% d'homozygotie) à celle de l'allèle *677T* chez la population Caucasienne(57).

## **5. SYMPTOMES, DIAGNOSTIC ET TRAITEMENT**

### **5.1 Les symptômes et signes cliniques**

Les signes cliniques les plus fréquents lors de la présence d'un cancer de la vessie sont comme suit :

- Présence de sang dans les urines aussi appelée hématurie macroscopique ; comme elle peut être microscopique, découverte par une bandelette urinaire.
- Pollakiurie ce qui est le besoin d'uriner d'une manière plus fréquente.
- Miction douloureuse.
- Sensation de brûlures et spasmes de la vessie.
- Douleurs dans le bas du dos au niveau des lombaires. (5,58)

### **5.2 Examens à visée diagnostique**

Le dépistage des tumeurs vésicales s'adresse en particulier aux hommes en milieu professionnel reconnu comme facteur de risque et âgés de plus de 50ans.

#### **5.2.1 Interrogatoire :**

S'effectue dans le but de trouver les facteurs de risque, les conditions de vie et la recherche d'antécédents personnels ou familiaux (anamnèse) ; ainsi que la date du début des symptômes (59).

#### **5.2.2 Cytobactériologie des urines**

Cet examen est le premier à être demandé par le médecin, permettant de confirmer la présence de sang dans les urines, et éventuellement de rechercher une infection urinaire qui pourrait l'expliquer (15).

#### **5.2.3 Examen abdominal**

Les touchers pelviens sont faits systématiquement à la recherche d'un blindage pelvien. La palpation abdominale et lombaire est indispensable à la recherche d'une masse hypogastrique palpable correspondant à une tumeur volumineuse, de douleurs lombaires en rapport avec une obstruction urétérale.

Aussi la recherche de signes cliniques d'anémie est nécessaire tel que pâleur conjonctivale, polypnée... (60).

### **5.2.4 Confirmation du diagnostic**

#### **5.2.4.1 Cytologie urinaire**

C'est un examen des cellules desquamées éliminées naturellement dans l'urine du malade. Une cytologie urinaire positive peut indiquer la présence d'une tumeur n'importe où dans la voie excrétrice urinaire alors qu'une cytologie négative n'exclut pas la présence d'une tumeur à n'importe quel niveau de ces voies <sup>(61,62)</sup>.

#### **5.2.4.2 Echographie vésicale**

Cet examen permet de réaliser des images de la vessie grâce à des ultrasons. L'examen est pratiqué par un urologue ou un radiologue. Celui-ci pose la sonde d'échographie sur la peau au-dessus du pubis et de l'abdomen dans le but de déceler l'existence d'une anomalie qui peut être le signe d'un cancer, ce qui peut amener à effectuer des examens supplémentaires <sup>(61)</sup>.

Chez un patient obèse ou en cas de vessie vide, l'échographie est réalisée par voie endorectale <sup>(5)</sup>.

#### **5.2.4.3 Urographie intraveineuse (UIV)**

C'est une radiographie de l'appareil urinaire, opacifié par un produit iodé injecté par voie intraveineuse et dont l'élimination se fait par les reins.

La fibroscopie reste notamment plus fiable que cet examen pour diagnostiquer une tumeur de la vessie, mais elle permet tout de même d'étudier les reins et les uretères pour vérifier l'absence d'une tumeur associée <sup>(63)</sup>.

#### **5.2.4.4 La cystoscopie**

La cystoscopie est l'élément de base du diagnostic qui permet de confirmer ou exclure la présence d'une tumeur vésicale par l'exploration de l'intérieur de la vessie en passant un petit tube lumineux doté d'une caméra, un cystoscope, dans l'urètre sous anesthésie locale ou générale. Le médecin peut aussi insérer un instrument chirurgical très fin dans le tube du cystoscope afin de prélever une biopsie <sup>(16, 64,65)</sup>.

#### **5.2.4.5 Examen anatomopathologique**

C'est l'analyse des échantillons de tissus prélevés lors de la résection transurétrale de la vessie ou lors de la cystoscopie. Dans le but de déterminer le type de cellules impliquées, le stade et le grade de la tumeur et si le muscle de la paroi de la vessie est atteint ou non par la tumeur<sup>(57)</sup>.

### **5.3 Traitement des tumeurs de la vessie**

#### **5.3.1 Résection transurétrale de la vessie (RTUV)**

Elle est utilisée pour traiter les cancers superficiels qui ne sont pas propagés à la paroi musculaire. Soit par cystoscope soit par laser à haute énergie, dans le but de stopper les saignements et de retarder la progression de la tumeur (5).

#### **5.3.2 Cystectomie totale**

Cette opération consiste en l'ablation complète de la vessie pour assurer une élimination totale des cellules cancéreuses. Ainsi chez l'homme l'élimination inclue la prostate, les vésicules séminales et une partie de l'urètre. Alors que chez la femme l'utérus, le col de l'utérus, les trompes de Fallope, les ovaires, la partie de la paroi antérieure du vagin et l'urètre sont enlevés au même temps que la vessie (65).

#### **5.3.3 Chimiothérapie**

Dans cette méthode le patient est traité par des médicaments, administrés sous forme de comprimés ou d'injection pour empêcher le développement et la propagation des cellules cancéreuses et ceci soit avant la chirurgie pour réduire la taille de la tumeur (chimiothérapie néoadjuvante), ou après la chirurgie avec ou sans radiothérapie pour réduire le risque de réapparition du cancer (chimiothérapie adjuvante) ou aussi pour traiter un cancer avancé (5,66).

- Les produits utilisés en cas de tumeurs superficielles de la vessie sont : Mytomycine C, Discorubicine, thiotepa. Provoquant des effets secondaires ou des allergies aux produits utilisés conduisant parfois à des complications.
- Et en cas de tumeurs infiltrant de la vessie, ou invasion extra vésicale de la maladie l'association de plusieurs agents chimiothérapeutiques est plus efficace, les associations les plus utilisées sont : GemCis (GC) (Gemcitabine et Cisplatine) ; MVAG (Methotrexate, vinblastine, Adrinycine, cysplatine) et CMV (Cisplatine, Methotrexate, Vinblastine) (5).

#### **5.3.4 Radiothérapie**

Cette option a recours à des rayons ou des particules de haute énergie pour détruire les cellules cancéreuses et n'est envisageable qu'en cas de contre-indication à la chimiothérapie ou à visée hémostatique palliative.

La radiothérapie peut aussi être associée à une curiethérapie qui est le fait de placer une substance radioactive directement dans la masse cancéreuse ou à proximité (5,66).



### **5.3.5 Immunothérapie par BCG**

Le BCG (Bacille Calmette Guérin) est un vaccin qui a été développé au début pour la prévention contre la tuberculose. Ce vaccin provoque en contact de cellules cancéreuses leur destruction et prévient la récurrence (5, 65,66).

# Methodologie

## **1. PATIENTS ET TEMOINS**

L'étude entreprise est transversale de type cas témoins ; elle a été réalisée au sein du laboratoire de Biologie et Génétique Moléculaire du Centre Hospitalier Benbadis de Constantine (CHUC). L'étude a porté sur deux populations différentes : la première de 30 patients présentant des tumeurs vésicales de différents types et stades diagnostiqués entre 2013 et 2015 dans la clinique rénale Daksi de Constantine, et la deuxième de 30 témoins présumés sains.

### **1.1 Recrutement des sujets**

- **Patients** : 30 patients des deux sexes, âgés de 29 à 83 ans, tous originaires de l'est Algérien et présentant des tumeurs vésicales de différents stades et grades ont été recrutés. Ces patients étaient soit admis au service d'urologie de la clinique rénale pour réaliser une cystectomie, ou venaient pour leurs contrôles mensuels.
- **Témoins** : 30 témoins présumés sains des deux sexes âgés de 23 à 76 ans ont été recrutés pour cette étude.

On signale que pour l'ensemble des sujets étudiés (patients et témoins) certains sujets ont été recrutés par nous-même et d'autres ont été pris au hasard à partir de la banque de donnée du laboratoire de Biologie et Génétique Moléculaire (CHUC).

Tous les sujets répondent à nos critères d'exclusion et d'inclusion :

#### **1.1.1 Critères d'inclusion**

*Patients* : Patients présentant une tumeur vésicale.

*Témoins* : Sujets sains.

#### **1.1.2 Critères d'exclusion**

*Patients* : Sujets présentant un stade métastatique ou ayant subis une transfusion sanguine.

*Témoins* : Sujets présentant des problèmes sanitaires ou des antécédents familiaux d'un type de cancer.

## **2. METHODES**

### **2.1 Prélèvement sanguin**

Les prélèvements sanguins recommandés pour l'extraction de l'ADN ont été recueillis dans des conditions stériles, dans des tubes vacutainer EDTA (acide éthylène diamine tétracétique), en quantité de 5 à 10 ml après avoir obtenu le consentement des patients.

### **2.2 Questionnaire**

Un questionnaire a été réalisé afin d'enregistrer toutes les informations essentielles à notre étude. Ce questionnaire a été complété pour tous les malades soit en interrogeant le malade lui-même ou en consultant son dossier médical. L'interrogatoire est dirigé par nous-même pour les sujets que nous avons recrutés par contre pour les sujets que nous avons pris de la banque du laboratoire nous avons consulté les questionnaires préétablis (§Annexe 2).

### **2.3 Etude épidémiologique**

Une étude épidémiologique a été réalisée sur l'ensemble des patients et témoins dont l'objectif est d'établir la répartition des patients et témoins selon les paramètres étudiées (âge, sexe, consommation de tabac, exposition professionnelle, antécédents familiaux,) dans le but de déceler lequel de ces facteurs est impliqué dans la carcinogénèse vésical.

### **2.4 Etude génétique**

#### **2.4.1 Extraction d'ADN**

L'ADN génomique est extrait à partir des leucocytes en utilisant la méthode d'extraction au NaCl (§ Annexe 3).

##### **➤ Principe**

Les leucocytes sont séparés du sang total par lyse hypotonique des globules rouges ; ils seront ensuite traités par :

- Le détergent SDS (Sodium Dodécyl Sulfate) qui possède une action lytique sur les membranes cellulaires, dénature les protéines par destruction de leur structure tertiaire et inhibe l'action des nucléases.
- La protéinase K dénature et dégrade les protéines (Purification du surnageant).
- L'ADN nucléaire est libéré dans le lysat et les protéines qui lui sont associées sont digérées et éliminées par précipitation au NaCl. La pelote d'ADN est formée dans le surnageant par précipitation avec l'éthanol pur.
- L'ADN est ensuite solubilisé en phase aqueuse (eau stérile bidistillée).
- La pureté de l'ADN est estimée par spectrophotométrie à UV.

**L'EDTA** : est un agent chélateur des ions divalents, comme le  $Mg^{2+}$ , nécessaires au fonctionnement des enzymes DNase (nucléases). Il est donc utilisé comme inhibiteur indirect des nucléases et ce, pour que notre acide désoxyribonucléique reste intacte.

### **2.4.2 Détermination de la pureté de l'ADN**

- L'ADN absorbe à 260 nm (longueur d'onde d'absorption des acides nucléiques) alors que les protéines qui représentent les témoins de contamination absorbent à 280 nm (longueur d'onde d'absorption des protéines).
- L'échantillon est dilué au 1/100 dans l'eau distillée :  
10  $\mu$ l de l'ADN solubilisé dans 990  $\mu$ l d'eau distillée.
- Les DO (densité optique) sont lus à 260 et 280 nm.
- En effectuant le rapport de DO 260 nm/ DO 280 nm, la pureté de l'ADN est déterminée en vérifiant la contamination de l'ADN par les protéines ou par les ARN. On considère que :
  - L'ADN est suffisamment pur lorsque : Le rapport  $R = DO_{260} / DO_{280}$  est compris entre 1,6 et 2 ( $1,6 < R \leq 2$ ).
  - L'ADN est contaminé par les protéines si :  $DO_{260} / DO_{280} < 1,6$ .
  - L'ADN est contaminé par les ARN si :  $DO_{260} / DO_{280} > 2$ .

La pureté de l'ADN est nécessaire pour une bonne amplification génique et pour une action efficace des enzymes de restriction utilisées par la suite. Les ADN purs sont conservés à + 4 °C jusqu'à utilisation.

### **2.4.3 Génotypage du polymorphisme *MTHFR A1298C***

Le génotypage de la *MTHFR* consiste à amplifier une partie de l'ADN contenant le gène de la *MTHFR*, puis de différencier les génotypes par digestion à l'aide d'une enzyme de restriction spécifique (*Mbo II*) : méthode décrite par van der Put *et al.* En 1998 <sup>(55)</sup>.

La détermination du génotype est effectuée en plusieurs étapes successives :

- Polymerase Chain Reaction (PCR) et contrôle de PCR sur gel d'agarose 2%.
- Digestion du produit de PCR par l'enzyme de restriction *Mbo II*.
- Séparation des produits de digestion par migration électrophorétique sur un gel d'agarose a 4% et distinction des différents génotypes par transillumination sous UV.

#### **2.4.3.1 PCR (Polymerase Chain Reaction)**

Pour l'amplification du variant *MTHFR A1298C*, le milieu réactionnel (ou MIX) est préparé comme indiqué dans l'Annexe 4 (Tableau 3)

Les amorces utilisées sont comme suit :

l'Oligo F (Forward primer): 5'CTT TGG GAG CTG AAG GAC TAC TAC 3'

l'Oligo R (Reverse primer) : 5'CAC TTT GTG ACC ATT CCG GTT TG 3'

40 cycles ont été réalisés. Chaque cycle repose sur trois étapes indispensables qui sont : la dénaturation, l'hybridation et l'élongation comme indiqué dans l'Annexe 4 (Tableau 4)

On signale que parmi l'ensemble des patients et témoins recrutés seulement 15 patients et 15 témoins sont inclus dans l'étude moléculaire.

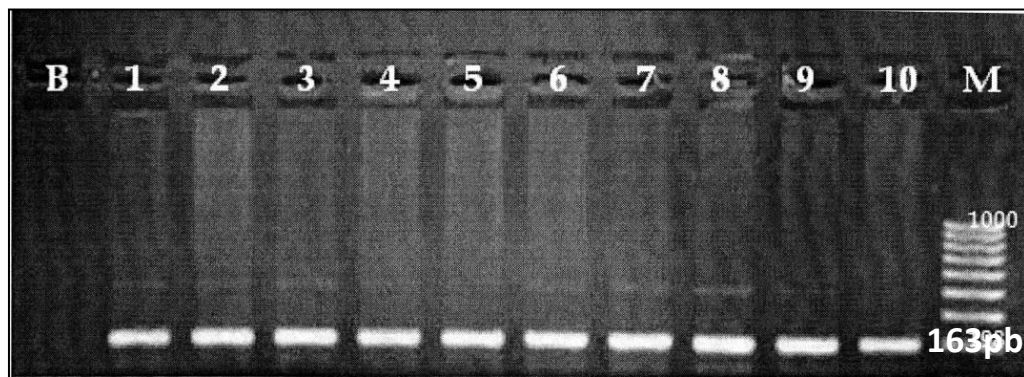
#### **2.4.3.2 Contrôle PCR**

Le contrôle PCR de la taille des fragments amplifiés s'effectue par une électrophorèse sur gel d'agarose a 2% additionné de 10 µl de BET (Bromure d'éthidium). Ce dernier est un réactif intercalant qui se fixe entre les bases nucléiques à l'intérieur de la double hélice et qui rendra les ADN fluorescent par exposition aux UV (§ Annexe 4).

Dans chaque puits du gel, on dépose :

10  $\mu$ l du produit d'amplification avec 3  $\mu$ l BBP (Bleu de Bromophénol) qui permet de suivre le front de migration.

Les dépôts se font du côté cathode (-). La migration électrophorétique se réalise sous un courant de 100 volts pendant 30 min. cette analyse permet aussi, d'observer si une éventuelle contamination de l'ADN est survenue au cours de la PCR grâce à un puits contenant le blanc (Témoin négatif). Après la migration, le gel est soumis au rayon UV. Les molécules de bromure d'éthidium fixées aux ADN émettent une lumière visible et photographiable permettant de visualiser les fragments amplifiés sous forme de bandes fluorescentes de même taille (163 pb).



**Figure 5 :** Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose à 2 % des fragments amplifiés (163 pb) par PCR. (B : blanc ; 1-10 : patients ; M : marqueur de taille)

### 2.4.3.3 Digestion des produits de PCR

Les produits PCR (163pb) sont soumis à une digestion enzymatique par *Mbo II* (Szybalski *et al*)<sup>(67)</sup> et sont placées pendant 16 h dans une étuve à 37 °C. Cette enzyme reconnaît la séquence non- palindromique 5'-GAAGA-3'/3'-CTTCT-5' et clive 8/7 nucléotides à droite de celle-ci (Brown *et al*)<sup>(67)</sup>.

La migration des produits de digestion est réalisée sur gel d'agarose dont sa préparation est mentionnée dans l'Annexe 5.

On dépose dans chaque puit du gel 10 µl du produit digéré et 3 µl BBP (Bleu de Bromophénol). La migration électrophorétique se réalise sous un courant de 100 volts pendant 1h30min.

## **2.5 Etude statistique**

Les résultats statistiques de tous les échantillons obtenus ainsi que tous les paramètres considérés ont été traités par le logiciel Epi info version 6.0

### **2.5.1 Statistique descriptive**

Dans cette étude descriptive nous avons :

- Fait le calcul de la moyenne arithmétique et de l'écart type selon ces 2 formules :

$$X_a = \sum x / n_a$$

$$S_a^2 = \sum (x - x_a)^2 / n_a - 1$$

- Les variables quantitatives sont décrites par la moyenne  $\pm$  1 écart type

### **2.5.2 Statistique analytique**

Dans ce travail nous avons effectué une étude statistique d'association entre le polymorphisme de la *MTHFR A1298C* et le cancer vésical. L'étude statistique est basée sur l'Odds ratio (OR) dans le but de :

- Déterminer s'il existe une association significative entre le polymorphisme étudié et le cancer : ceci se fait par la comparaison du nombre de fois où l'allèle est observé chez les patients par rapport au nombre de fois où il est présent chez les contrôles.

#### **2.5.2.1 Calcul de l'Odds Ratio**

Pour calculer l'Odds ratio nous avons établi un tableau de contingence : Il est sous forme de tableau croisé 2x2. Le statut malade/non malade (témoin) des sujets de l'étude est présenté en colonne et le caractère exposé/non exposé en ligne.



	Malades	Témoins	
Exposés (E+)	A	B	A+B
Non exposés (E-)	C	D	C+D
	A + C	B+D	total

L'intensité de l'association entre le polymorphisme et la maladie est calculée comme suit :

$$OR = A * D / B * C$$

L'Odds ratio représente une mesure d'association épidémiologique entre un facteur et une maladie, en particulier lorsque la maladie est rare parmi la population (prévalence <5%). Dans ce cas l'Odds ratio peut être une bonne approximation du risque relatif que donnerait une enquête de cohorte pour la population.

### 2.5.2.2 Les intervalles de confiance

Les intervalles de confiance : ont été calculés par la méthode de Cornfield. L'approche estimative de l'analyse statistique vise à quantifier l'effet étudié et le degré de certitude de cette estimation grâce à un intervalle de confiance, qui identifie généralement une fourchette de valeurs situées de part et d'autre de l'estimation et l'on peut être sûr à 95% de trouver la valeur réelle. L'intervalle de confiance pour les Odds ratio a été calculé à partir de l'approximation de Fleiss.

### 2.5.2.3 Choix de la "p value "

Le seuil critique a priori est de 0,05 (risque  $\alpha$ ). Si la valeur de p calculée à posteriori est inférieure à ce seuil, la différence entre les paramètres est déclarée statistiquement significative.

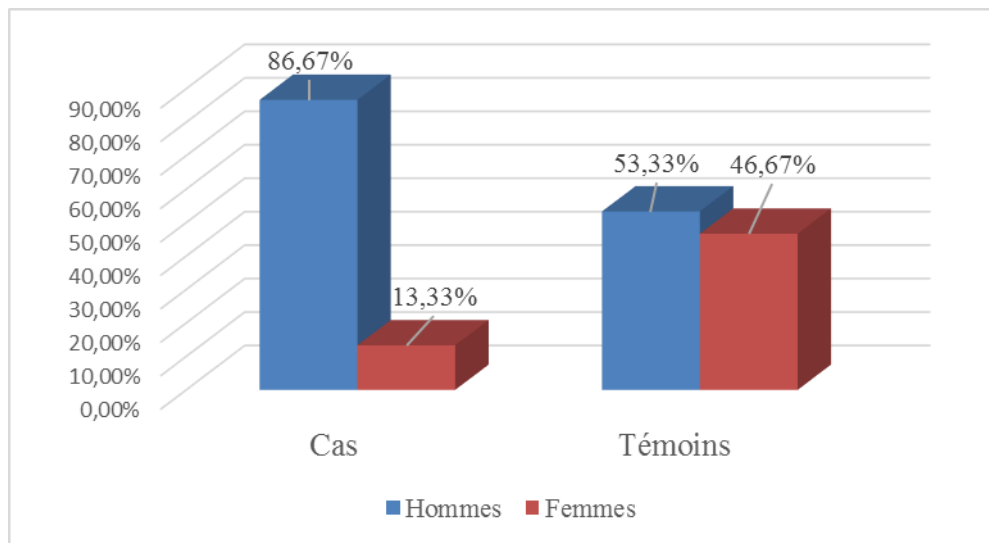
# Résultats et discussions

**1. ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE**

Afin de déterminer les facteurs de risque favorisant le cancer vésical, une étude épidémiologique a été portée sur 60 sujets (30 témoins supposés sains et 30 patients atteints de tumeurs vésicales de différents stades et grades).

- **Patients:** L'âge moyen de l'échantillon est de  $61,76 \pm 12,88$  ; regroupe 26 hommes et 4 femmes (sexe Ratio est de 6). Parmi les 30 patients étudiés, 22 patients sont fumeurs, 6 patients présentent des antécédents familiaux et 16 d'entre eux présentent des risques professionnels.
- **Témoins:** composés de 14 de sexe féminin et 16 de sexe masculin, avec un sexe ratio de presque 1 homme pour une femme. Parmi les 30 témoins, 24 sont non-fumeurs et aucun d'entre eux ne présente ni risques professionnels, ni antécédents familiaux.

**1.1 Répartition des sujets selon le sexe**



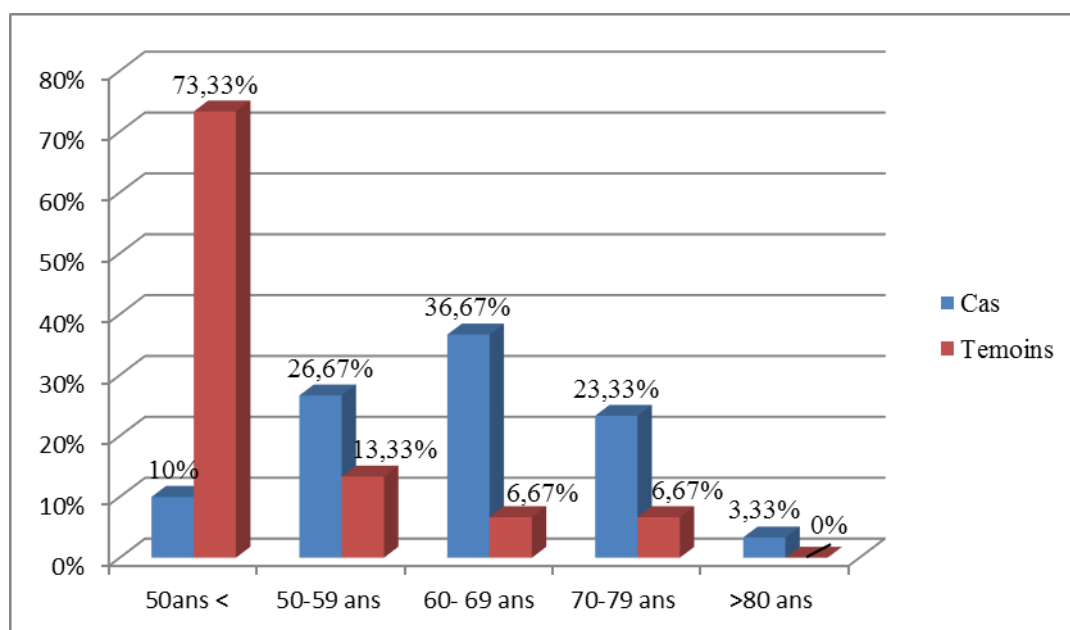
**Figure 6 :** Répartition des sujets selon le sexe.

On note une large prédominance masculine dans le groupe des patients, avec un sex-ratio de 6 hommes pour une femme (contre 1 homme pour une femme dans la population des témoins). Cela signifie que dans la population originaire de l'est Algérien les hommes sont les plus touchés par le cancer de la vessie par rapport aux femmes. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus dans l'ouest Algérien (sidi bel Abas) dont l'étude a porté sur 348 cas montrant également une nette prédominance masculine de 91 % et un sexe ratio

de 10,22 <sup>(25)</sup>. De même pour les résultats rapportés par Fajkovic *et al.* <sup>(68)</sup>, Tilki *et al.* <sup>(69)</sup> et May *et al.* <sup>(70)</sup> qui ont montré que l'incidence d'atteinte par le cancer vésical dans la population féminine est de 4 fois inférieure à celle des hommes.

Ce fait, que les hommes ont un risque d'être atteints plus accrus par rapport aux femmes peut être expliqué par l'exposition des hommes à un certains nombres de facteurs de susceptibilité tel que le tabagisme qui a lui seul multiplierait le risque de 4 fois et aussi l'exposition professionnelle <sup>(23)</sup>.

### 1.2 Répartition des sujets selon la tranche d'âge

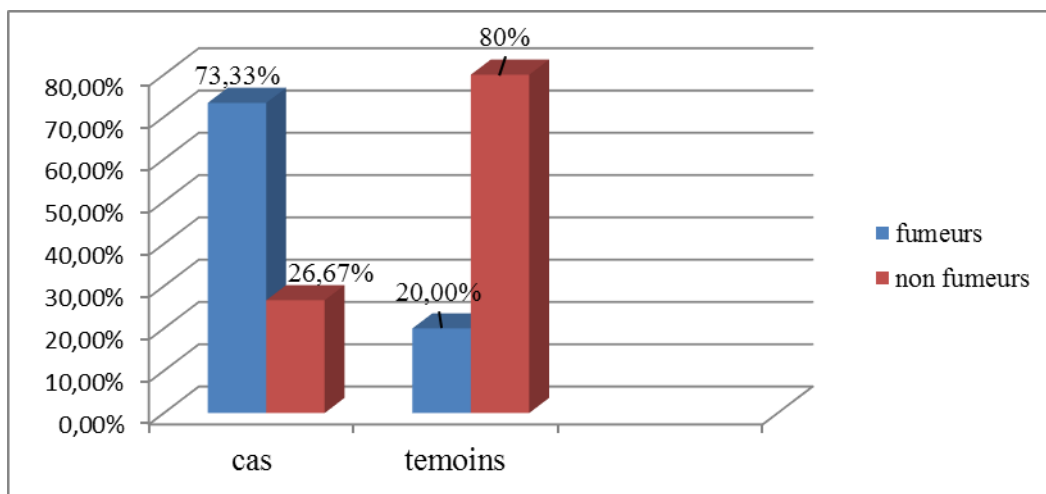


**Figure 7 :** Répartition des sujets selon l'âge.

La répartition des cas selon les tranches d'âge montre bien que l'apparition du cancer de la vessie augmente proportionnellement avec l'âge des patients avec une fréquence maximale entre 60 et 65 ans (36,67%). Ce qui est en accord avec les travaux de Pointreau *et al.* <sup>(71)</sup> et Martinache *et al.* <sup>(72)</sup> qui ont montré que l'âge moyen de survenu du cancer vésical est de 65 ans. De même pour les résultats des études épidémiologiques faites en Algérie que ce soit au niveau de l'Est – Sétif- ou de l'Ouest – Sidi bel abas - avec une moyenne d'âge de 66,9 ans <sup>(21,25)</sup>. En effet, il a été rapporté que le vieillissement de la population semble expliquer, par des mécanismes de fragilisation immunitaires, l'augmentation de l'incidence des tumeurs vésicales chez les patients âgés chez qui aucun facteur de risque n'a été identifié <sup>(73)</sup>.

Par ailleurs, on ne peut négliger les atteintes plus précoces par ce type de cancer (10 % pour les tranches d'âges inférieure à 50 ans) et ceci parce qu'on est exposé de nos jours dès un jeune âge à un certain nombre de facteurs de susceptibilité environnementaux et moléculaires tel que le tabac, l'alcool, la pollution, le régime alimentaire, le domaine professionnel, la constitution génétique etc ...

### 1.3 Répartition des sujets selon le statut tabagique

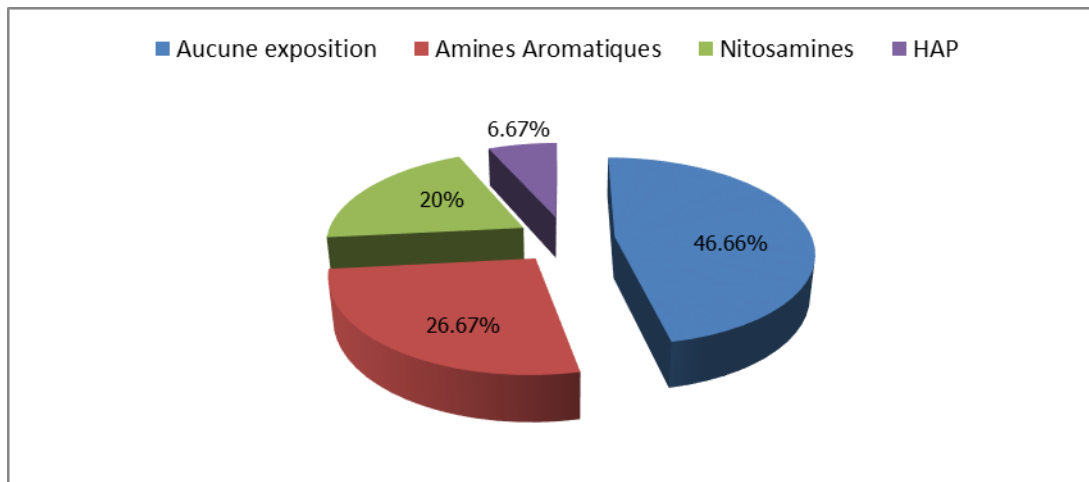


**Figure 8 :** Répartition des sujets selon le statut tabagique.

La comparaison des fréquences obtenues : patients fumeurs (73,33%), patients non-fumeurs (26,67%), vs témoins fumeurs (20%), témoins non-fumeurs (80%), (OR = 11, p. valeur = 0,0001), montre bien que le tabac est le facteur de risque le plus incriminé dans la survenue du cancer vésical. En effet, selon les résultats d'une méta-analyse portée sur 43 études cas témoins, le risque de développer un cancer vésical chez les fumeurs se trouve multiplié par trois par rapport à celui des non-fumeurs <sup>(74)</sup>. Ceci est dû à l'action des substances carcinogènes tels: la alpha- naphthylamine, la bêta- naphthylamine et la 4-Amino-biphényl sécrétées dans l'urine des fumeurs <sup>(75)</sup>.

D'autant plus, d'après une analyse combinée de 11 études cas-témoins dans six pays européens, ce risque se trouve augmenter avec la durée d'exposition et la quantité de cigarettes consommées <sup>(76)</sup>.

**1.4 Répartition des sujets selon l'exposition aux facteurs professionnels**

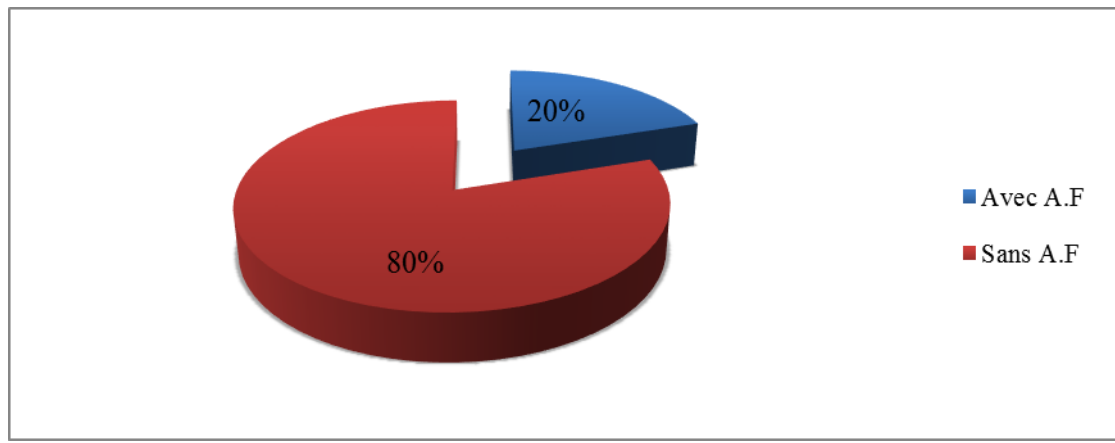


**Figure 9 :** Répartition des patients selon l'exposition aux facteurs professionnels.

La figure montre bien une association entre le risque d'atteinte par le cancer vésical et l'exposition aux différents facteurs professionnels. En effet, on a enregistré une fréquence élevée de patients présentant des expositions professionnelles (**53,34 %**) pour ceux exposés aux Amines Aromatiques (**26,67%**) vs ceux exposés aux HAP (6,67%) et Nitrosamines (20%). Ces résultats sont en accord avec plusieurs études préalables. En fait, une analyse des études de cohortes professionnelles a démontré un risque accru de cancer de la vessie pour les personnes exposées à des amines aromatiques et qui travaillent dans divers secteurs, notamment l'agriculture, les usines chimiques, l'industrie du caoutchouc, la peinture, la coiffure et le textile (77,78). En effet. L'accumulation de ces carcinogènes lorsque les voies de détoxication sont altérés peut former des adduits par interaction avec l'hémoglobine et l'urothélium vésical. Ainsi que la formation d'adduits avec l'ADN des cellules urothéliales conduisant à la formation de cellules mutantes potentiellement cancéreuses (73).

Il a été rapporté également que la dose et durée de l'exposition à des carcinogènes environnementaux affecte considérablement le risque de développer un cancer de la vessie (76).

**1.5 Répartition selon les antécédents familiaux**

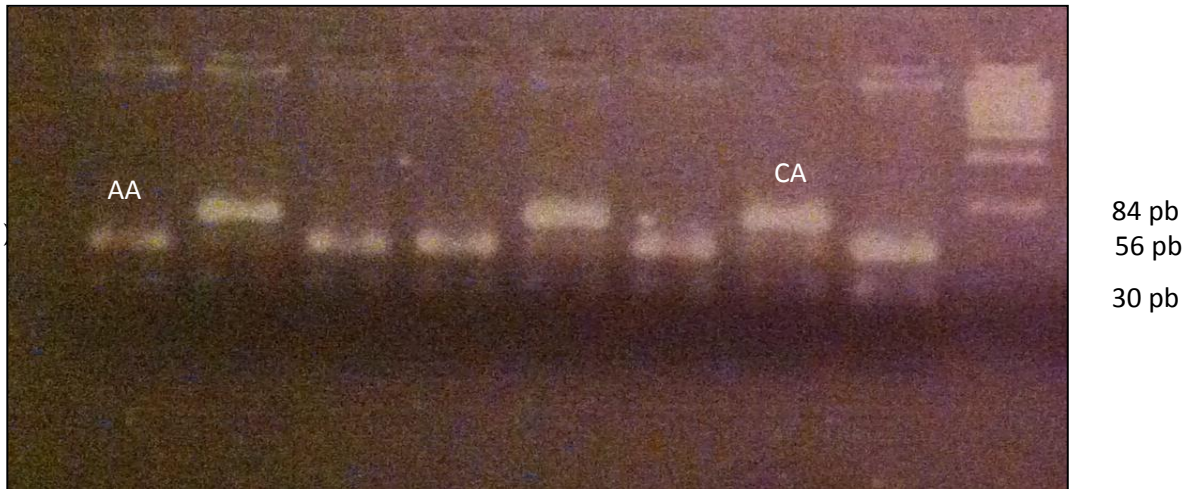


**Figure 10** : Répartition des patients selon leurs antécédents familiaux.

20% des patients présentent des antécédents familiaux du 1<sup>er</sup> et 2<sup>eme</sup> degré. En effet, certaines études suggèrent un excès de risque d'environ 30% chez les individus ayant des antécédents familiaux de cancer de la vessie (79). La susceptibilité génétique face aux cancers de la vessie, peut être expliquée par le polymorphisme génétique; en effet, l'élimination des toxiques de l'organisme, implique que ces composés subissent une transformation biochimique, les rendant hydrosolubles afin qu'ils puissent être évacués dans les urines. Ces transformations qui sont catalysées par les enzymes impliquent l'expression de gènes, ces derniers varient d'un individu à l'autre. Tel est le cas du polymorphisme *NAT* (N-acétyltransférase) et du polymorphisme *GSTM* (Glutathione S-transférase). Une méta-analyse d'études cas-témoins a montré qu'un variant du gène *NAT2* (acétyleurs lent) codant une protéine impliquée dans la détoxification des amines aromatiques, était associé au risque de cancer de la vessie et que ce risque était significativement modulé par l'exposition au tabac (80-83). Un second gène, *GSTM1*, codant une enzyme impliquée dans la détoxification des HAP est clairement associé au risque de cancer de la vessie (80,83). Plus récemment des études pan-génomiques (GWAS) ont permis d'identifier une dizaine de loci de susceptibilité (1p13.3, *GSTM1* ; 8p22, *NAT2* ; 3q28 *TP63* ; 4p16.3, *TNEM129*, *TACC3-FGFR3* ; 5p15.33, *TERT-CLPTMIL* ; 8q24.21, *MYC* ; 8q24.3, *PSCA* ; 2q37.1, *UGT1A* cluster ; 19q12, *CCNE1* ; 22q13.1, *CBX6*, *APOBEC3A*) associés au risque de cancer de la vessie (84-87)

**2. ETUDE GENETIQUE**

**2.1 Profils RFLP obtenus**



**Figure 11** : profils RFLP obtenus.

- 5 fragments (56pb, 31pb, 30pb, 28pb et 18pb) en cas d'absence de mutation et les fragments d'ADN amplifiés et digérés apparaissent sur le profil électrophorétique sous forme de deux bandes visibles seulement (56 pb et 30pb) qui correspond au type homozygote sauvage (AA).
- 4 fragments (84pb, 31pb, 30pb et 18pb) s'il y a mutation et les fragments d'ADN apparaissent sur le profil électrophorétique sous forme de deux bandes visibles (84pb et 30pb) qui correspond au type homozygote muté (CC).
- 6 fragments (84pb, 56pb, 31pb, 30pb, 28pb et 18pb), correspondent au type hétérozygote (AC) et les fragments d'ADN apparaissent sur le profil électrophorétique sous forme de trois bandes visibles (84pb, 56pb et 30pb).



### 2.2 Répartition des fréquences génotypiques et association au risque du cancer vésical

**Tableau 1 :** Fréquences génotypiques du polymorphisme *A1298C* de la MTHFR parmi témoins et patients et association au risque du cancer vésical.

MTHFR C677T Genotype	Cas N= 10		Témoins N=15		OR	95% CI	p value
	N	(%)	N	(%)			
AA	6	(60 %)	8	(53, 33%)	-	-	-
AC	4	(40%)	7	(46,66%)	0,76	0,11 -5,12	0,93
CC	0	(0%)	0	(0%)	/	/	/
AC + CC	4	(40%)	7	(46,66%)	0,76	0,11-5,12	0,93
A allèle	16	(80 %)	23	(76,66%)	-	-	-
C allèle	4	(20 %)	7	(23,33%)	0,82	0,17-3,92	0,94

Le but de cette étude génétique est de chercher l'existence ou non d'une association entre le polymorphisme *MTHFR A1298C* et le risque du développement d'un cancer de vessie.

Le calcul des Odds ratio et de la p-value (Tableau 5) montre bien qu'il n'existe pas de corrélation entre le polymorphisme *MTHFR A1298C* et le cancer vésical. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Sanyal *et al.* (88) ; Karagas *et al.* (89); Moore *et al.* (90) ; Rouissi *et al.* (91) et Izmirli *et al.* (92). Certains auteurs l'ont expliqué par le fait que les génotypes CC ou CA du polymorphisme *A1298C* ne diminuent pas vraiment l'activité de l'enzyme MTHFR comme le font les génotypes TT et CT du polymorphisme *C677T* (55, 93, 94).

Par ailleurs, Safarinejad *et al.* (95) ont démontré l'implication du polymorphisme *A1298C* de l' MTHFR et surtout des génotypes (AC+CC) dans la survenue du cancer vésical chez les asiatiques. Cependant, selon une méta-analyse réalisée par Rouissi *et al.* (96) incluant un nombre plus importants de sujets, cette relation entre ce polymorphisme et le risque du cancer vésical n'a pas été trouvée chez les asiatiques mais retrouvée chez les africains. D'autre part, selon les résultats d'une méta-analyse menée par You *et al.* (97) cette relation est aussi bien retrouvée chez les asiatiques que chez les africains.

D'autres auteurs ont postulé que le polymorphisme *A1298C* de l' *MTHFR* à lui seul n'est pas impliqué dans la carcinogénèse vésical, par contre le génotype combiné *677TT / 1298AA* est significativement associé à un risque accru du cancer de la vessie <sup>(98)</sup>.

# Conclusion et perspectives

Les résultats de notre étude ont démontré que le cancer de la vessie touche plus d'hommes que de femmes et ceci peut être dû au fait que les hommes sont plus exposés à un certain nombre de facteurs de risques tels que le tabagisme et le domaine professionnel.

D'autre part il s'est avéré que la fréquence maximale de survenue de ce type de cancer se situe entre 60 et 69 ans, ceci peut être expliqué par l'épuisement du corps humain et de son immunité au fur et à mesure qu'il avance dans l'âge de même les systèmes de réparation se trouvent de plus en plus fragilisés ce qui augmentera le taux de survenue des altérations et mutations.

Par ailleurs, on ne peut négliger les atteintes plus précoces par ce type de cancer (10 % pour les tranches d'âges inférieure à 50 ans) et ceci parce qu'on est exposé de nos jours dès un jeune âge à un certain nombre de facteurs de susceptibilité environnementaux et moléculaires tel que le tabac, l'alcool, la pollution, le régime alimentaire, le domaine professionnel, la constitution génétique etc ...

Ce type de cancer est une maladie multifactorielle, on a démontré que le tabac représente le facteur de risque le plus incriminé dans la carcinogénèse vésical de même l'exposition aux facteurs de risque professionnels notamment les amines aromatiques. Les sujets présentant des antécédents familiaux présentent un risque accru de développer un cancer vésical.

L'établissement du génotypage *MTHFR A1298C* des populations étudiées ainsi que la détermination des fréquences génotypiques et alléliques a montré qu'il n'existe aucune corrélation entre le polymorphisme *MTHFR A1298C* et le cancer de la vessie.

En perspectives : afin de déterminer la population à risque de développer le cancer vésical il serait préférable de :

- Augmenter la taille de notre échantillon d'étude.
- D'étudier d'autres gènes impliqués dans la carcinogénèse tel que les gènes de détoxification (NAT2, GSTM).

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

---

- Etudier la combinaison entre plusieurs génotypes et la présence ou l'absence de facteurs de risques environnementaux sur la susceptibilité du cancer vésical. Exemple combinaison entre génotypes NAT2, GSTM et facteur de risque tabac ou facteur de risque professionnel ou bien combinaison entre génotypes *MTHFR C677T*, *MTHFRA1298C*, *MTR A2756G* impliqués dans la méthylation de l'ADN et le facteur de risque prise de folates.

# References bibliographiques

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

1. Aide mémoire N°297.Fevrier 2015. Consulté en ligne le 22/06/2015 .
2. F Agag ; epidemiologie des cancers ; decembre 2012 ; etablissement hospitalier universitaire d'Oran.
3. N Evrard. Le cancer de la vessie. 2014 consulté en ligne le 12-06-2015 .
4. M Burger, W F James Catto , G Dalbagni *et al.* Epidemiology and Risk Factors of Urothelial Bladder Cancer. *European Urology Supplements* 2013; 63(2):234-241
5. C Pfister, M Roupert, Y Neuzillet, *et al.* CCAFU Recommendations en onco-urologie 2013 du CCAFU : CCAFU Recommendations2013: Bladder carcinoma. *Progré en Urologie.Elsevier Masson.* 2013 ;2 :105-125.
6. J J Patar , K Bensalah, F Guillé. *Pelvi-perinéologie .Tumeurs de la vessie.(ed) springer Verlag.*2005 : 381.
7. Kai Li, Yong ping Hu, Zecheng Yang, Tongxin Sun. Association between MTHFR Ala222Val (rs1801133) polymorphism and bladder cancer susceptibility a systematic review and meta-analysis : *Tumor Biol.* 2013; 34:2565–2572
8. S Ouerhani, K Rouissi, R Marrakchi *et al.* Combined effect of NAT2, MTR and -MTHFR genotypes and tobacco on bladder cancer susceptibility in Tunisian population. *Cancer Detection and Prevention. Elsevier .*2009 :395-402
9. A Abbas. La recherche de la mutation C677T du gène codant pour la Méthylène tétrahydrofolate réductase(MTHFR) dans les anomalies de fermeture du tube neural(AFTN) . thèse en Génétique des pathologies humaines. Algerie. Université de Constantine 1. 2008 : 95.
10. M Izmirlı. A literature review of MTHFR( C6775T and A1298C polymorphisms) and cancer risk . *Mol Biol Rep.* 2013; 40:625–637.
11. Siaw-Cheok Liew, Esha Das Gupta. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism: Epidemiology, metabolism and the associated diseases. *European Journal of Medical Genetics.* 2015 ; 58 : 1-10 .
12. A Reljic, A M Simundic, E Topic *et al.* The methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism and cancer risk: The Croatian case–control study. *Clinical Biochemistry .*2007 ; 40 : 981–985.
13. M Schünke, E Schlute , U Schumacher. *Atlas d'anatomie .Tome 2 : cou et organes internes.(Ed) Maloine. France.*2007 :232-239.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

14. Henri Rouviere, André Delmas. Anatomie humaine descriptive topographique et fonctionnelle. Tome 2 :Tronc. (Ed) Masson 14<sup>ème</sup>.2001 : 542-553
15. A Ribouh. étude statistique et moleculaire du cancer de la vessie, Thèse en Genetique Moleculaire. Algerie : Univerisité Constantine 1. 2013.
16. Bourrilon A, Cabanis EA, Chapuis Y, et al. Larousse Médicale. Tatiana Dellesalle-féat (ed.) 3<sup>ème</sup> édition, paris, 2003 : 1110-1111
17. L Sherwood. Physiologie humaine.(Ed) De boeck.2006 :405-407.
18. R Benamira,R Bentaleb. Les risques professionnels dans le cancer de la vessie. Thèse en Genetique Moleculaire. Algerie : Université Constantine 1 .2013
19. W C De Groat . Anatomy and physiology of the lower urinary tract. Spinal Cord Injury. 1993; 20 (3): 383-401.
20. L Le Normand L, Buzelin J.M. La physiologie du bas appareil urinaire de l'homme. In : Les incontinenes urinaires de l'homme. (Ed) Springer paris.2011 : 31-40.
21. Registre de cancer de setif.Algerie (2010).
22. L.Nezzal .Epidemiologie. faculté de medcine .université Constantine 3 .Jan . 2014 (sous presse).
23. H Boyle, A Fléchon , JP Droz. Cancer de la vessie /uretère ; therapeutique du cancer. (Ed) springer verlag. France.2011: 485-486 .
24. M Ploeg, K H Katja Aben, L A Kimeney. The present and future burden of urinary bladder cancer in the world. World Journal of Urology .2009; 27(3):289-293.
25. R Salah, N Harir,S Zeggai *et al* . Cancer urologique en Algerie. profil histoepidemiologique a propos de 348 cas.J. Afr. Cancer. 2015 ; 7:126-131.
26. Cancer Research UK. (2010, June 23). Bladder cancer risks and causes. (Reviewed Édition). Birmingham, UK: Cancer Research UK. Consulté en ligne le 20/05/2015
27. American Cancer Society. (2010, August). Bladder cancer. Atlanta: American Cancer Society consulté en ligne le 20/05/2015
28. OMS , Aide mémoire N°115 , Mars 2013 consulté en ligne le 22/06/2015
29. M Hery. Cancer de la vessie et risques professionnels.(Ed) EDP sciences. Paris.2009 :346.



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

30. D Fernandez, C Durux .Facteurs pronostique biologique des cancers de la vessie. interaction avec la radiothérapie. *Oncologie*. 2010 ;12 :389-395.
31. American Cancer Society. (2006, August 8). Detailed Guide: Bladder Cancer. Atlanta: American Cancer Society. Consulté en ligne le 20/05/2015
32. O Arlene, A Bogdan , P Colin *et al* **In** D Raghavan, M L Brecher,H David *et al* .Textbook of Uncommon Cancer. (Ed) Wiley Online Library.3eme. England. 2006:18-26.
33. S Mellas, N Mellas, O Masbah *et al*. Mise au point sur les tumeurs non urothéliales de la vessie. *J.Afr.Cancer*. 2011 ;3 :63-69 .
34. D Klifa, J Verine, O Mathieu *et al*. Tumeurs non épithéliales de la vessie. *EMC Urologie*. 2008 ;1-9(Article 18-244-20).
35. M Peyramaure, E Van Glabeke, V Leblond *et al*. Le lymphome primitif de la vessie. *Progrès Urologique*. 2000;10 :1208-1211.
36. A F Rakototiana, F A Hunald, F Ralahy *et al*. Lymphome primitive de la vessie à propos d'un cas . *Prog Urol*.2008 ;18(3) :186-189.
37. K Renaudin ,A Moreau,F Buzelin. Anatomie pathologique.definition et classification des tumeurs infiltrantes de la vessie. *progrès en urologie* 2002 ; 12(5) : 773-779
38. Cellule cancéreuse et tissu Cancéreux ; Collège Français des Pathologistes (CoPath ) ; 2012.
39. D Chopin, D Cappellen, F Fradvanyi, B Gattegno .Base fondamentales de la carcinogénèse urothéliale. *Progrès en Urologie*. 2001 : 11(5) :877-923
40. Zhengjun Kang, Yuhui Li, Yang Yu, Zhan Gu.Research progress on bladder cancer molecular genetics.*Journal of Cancer Research and Therapeutics*.2014 ; 10(2): 89-92.
41. C Rosty ,A Logié ,C Dunois. Mutations du récepteur de facteur de croissance FGFR3 dans les kératoses séborrhéiques.*Annales de Pathologie*.2004 ;24(1):134-135 .
42. F Radvanyi , JP Thiery, C Billerey *et al* . Le recepteur de type 3 des FGF(FGFR3) : de la chondrodysplasie au cancer de la vessie. *Medecine/science*. 2001 ; 17 : 1189-91 .
43. A Lièvre, P Laurent-Puig . Mise au point : La voie de signalisation RAS/MAPK RAS/MAPK signaling pathway. *Cancéro dig*. 2010 ; 2(1) : 38-42.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

44. . C Giacinti, A Giordano. RB and cell cycle progression. *Oncogene* (2006) **25**, 5220–5227.
45. B Lortal-Canguilhem. caractérisation de sept lignées cellulaires humaines de cancer de vessie pour les principaux marqueurs de la transition épithélio-mésenchymateuse, Twit1 et E-cadhérina, et pour une nouvelle drogue, le saracatinib. These en Biologie cellulaire et physiopathologie. France. Université Bordeaux2 .2012 : 104
46. F H Nazki, AS Sameer, B A Ganaie . Folate: Metabolism, genes, polymorphisms and the associated diseases .*gene*.2014;533(1):11-20.
47. MR Safarinejad, N Shafiei, S Safarinejad .Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) Gene C677T, A1298C and G1793A Polymorphisms: Association with Risk for Clear Cell Renal Cell Carcinoma and Tumour Behaviour in Men. *Clinical Oncology*. 2012; 25(4): 261-281.
48. M F Paz, S avila, G Capella *et al*. Germ-Line Variants in Methyl-Group Metabolism Genes and Susceptibility to DNA Methylation in Normal Tissues and Human Primary Tumors. *Cancer Res*.2002.62 (15): 4519-4524.
49. K Robien, C M Ulrich. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and leukemia risk: a HuGE minireview. *Am J Epidemiol*.2003; 157(7):571-582
50. BD Guenther, CA Sheppard , P Tran *et al*. The structure and properties of methylenetetrahydrofolate reductase from *Escherichia coli* suggest how folate ameliorates human hyperhomocysteinemia. *Nat Struct Biol*.1999; 06(4): 359-365.
51. P Frosst, HJ Blom, R Milos *et al*. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nature Genet*.1999; 10: 111-113.
52. RR Selzer, DS Rosenblatt, R Laxova, K Hogan. Adverse effect of nitrous oxide in a child with 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. *New Eng. J. Med*. 2003; 349: 45-50.
53. J C Semenza R J, Delfino *et al*. Breast cancer risk and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism. *Breast Cancer Res Treat*.2003; 77:217-223.
54. IS Weisberg, PF Jacques *et al*. The 1298A-->C polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): in vitro expression and association with homocysteine. *Atherosclerosis*. 2001; 156: 409-415.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

55. NM Van der Put, F Gabreels, EM Steven *et al.* A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects? *Am J Hum Genet.* 1998; 62(5): 1044-1051.
56. A Szczeklik, M Sanak, M Jankovski *et al.* Mutation 1298A>C of methylenetetrahydrofolate reductase: risk for early coronary disease not associated with hyperhomocysteinemia. *Am J Med Genet.* 2001; 101(1): 36-39
57. B Schwahn, R Rozen. Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: clinical consequences. *Am J Pharmacogenomics.* 2001; 1(3):189-201.
58. A Jemal, R Siegel, E Ward *et al.* Cancer statistics. *Cancer J Clin.* 2009; 59:225-49.
59. B Gattegno, D Chopin. Prise en charge des tumeurs superficielles de la vessie. *Progrès en Urologie.* 2001 ; 11 :1159-1174.
60. C Pfister, M Rouprêt , H Wallerand *et al.* Recommandations du Comité de cancérologie de l'Association française d'urologie (AFU) . *Progrès en Urologie* 2010 ; 20(4) :255-74.
61. T Leuret. tumeurs vesicales, EMC.1999 ; 1-5 (article 5-0610) .
62. L Balducci. Evidence-based management of cancer in the elderly. *Cancer control* 2000 ;7 :368-76
63. F Dadkhah, M R Safarinejad, E Amini *et al.* Is Bowel preparation necessary before kidney-ureter-bladder radiography and intravenous urography ? *Urology.* 2012;9(3):600-605
64. B P Bouchet, C Carron, C M Galmarini *et al.* P53 comme cible thérapeutique pour le développement de médicaments anticancéreux. *Bulletin du cancer.* 2006 ; 5 : 145-153.
65. L Claude, JL Jhuret. De la cytogénétique a la cytogénomique des cancers de la vessie. *Bulletin du cancer.* 2002 ; 2 : 166-173.
66. Meilin Wang, Haixia Zhu, Guzngbo Fu *et al.* Polymorphism of methylene tetrahydrofolate reductase and methionine synthase gene and bladder cancer risk: a case control study with meta analysis. *Clin Exp Med.* 2009; 9: 9-19
67. M Sektas, T Kaczorowski, A J Podhajska. Interaction of the MboII restriction endonuclease with DNA. *Gene.* 1995;157: 181 185
68. H Fajkovic, JA Halpern , Cha EK *et al.* Impact of gender on bladder cancer incidence, staging, and prognosis. *World J. Urol.* 2011;29:457-463.

69. D Tilki, RS Svatek, PI Karakiewicz *et al.* Characteristics and outcomes of patients with pT4 urothelial carcinoma at radical cystectomy: a retrospective international study of 583 patients. *J. Urol.* 2010; 183: 87–93.
70. M May, PJ Bastian, S Brookman-May *et al.* Gender-specific differences in cancer-specific survival after radical cystectomy for patients with urothelial carcinoma of the urinary bladder in pathologic tumor stage T4a. *Urol. Oncol.* 2011
71. Y Pointreau, S Klotz, F Denis *et al.* Cancer de la vessie. Radiothérapie. 2010 ; 14(1) : 189-197 .
72. G Martinache, M Zerbib, A Descazeaud *et al.* Tumeurs de la vessie PTa : facteurs de récidive et de progression. *progrés en urologie* .2008 ;18 :35-40 .
73. N Gillon. Cistoprotectomie, Radicale, Laparoscopique : Evolution de la technique et expérience du centre Henri Mondor, Thèse de Doctorat, Paris Descartes. 2009
74. MP Zeegers, FE Tan, E Dorant *et al.* The impact of characteristics of cigarette smoking on urinary tract cancer risk: a meta-analysis of epidemiological studies. *Cancer.* 2000; 89:630-639.
75. MP ZEEGER, E Kellen, F Buntinx *et al.* The association between smoking, beverage consumption, diet and bladder cancer: a systematic literature review. *World J Urol.* 2004;21:392-401.
76. KJ Kiriluk, MD Sandip, MD Prasad *et al.* Bladder cancer risk from occupational and environmental exposures. *Urol Oncol.* 2012; 30: 199–211.
77. T Carreón , MJ Hein, SM Viet *et al.* Increased bladder cancer risk among workers exposed to o-toluidine and aniline. A reanalysis *Occup Environ Med.* 2010; 67: 348–350.
78. E Pira, G Piolatto, E Negri *et al.* Bladder cancer mortality of workers exposed to aromatic amines: A 58-year follow-up. *J Natl Cancer Inst.* 2010; 102 : 1096–1099.
79. C Murta-Nascimento, DT Silverman, M Kogevinas *et al.* Risk of bladder cancer associated with family history of cancer: do low-penetrance polymorphisms account for the increase in risk? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007;16:1595-600.
80. M Gracia Closas, N Malats, D Silverman *et al.* NAT2 slow acetylation, GSTM1 null genotype, and risk of bladder cancer: results from the Spanish Bladder Cancer Study and meta-analyses. *Lancet* . 2005;366:649-59.

81. Rothman N, Garcia-Closas M, Chatterjee Net al . A multi-stage genome-wide association study of bladder cancer identifies multiple susceptibility loci. *Nat Genet* 2010;42:978-84.
82. García-Closas M, Hein DW, Silverman D, et al. A single nucleotide polymorphism tags variation in the arylamine N-acetyltransferase 2 phenotype in populations of European background. *Pharmacogenet Genomics* 2011;21:231-6.
83. LE Moore,DR Baris, DJ Figueroa *et al.* GSTM1 null and NAT2 slow acetylation genotypes, smoking intensity and bladder cancer risk: results from the New England bladder cancer study and NAT2 meta-analysis. *Carcinogenesis* 2011;32:182-9.
84. Kiemeny LA, Grotenhuis AJ, Vermeulen et al Genome-wide association studies in bladder cancer: first results and potential relevance. *Curr Opin Urol* 2009;19:540-6.
85. Wu XR. Urothelial tumorigenesis : a tale of divergent pathways. *Nat Rev Cancer* 2005; 5:713-25
86. LA Kiemeny , P Sulem, S Besenbacher *et al.* A sequence variant at 4p16.3 confers susceptibility to urinary bladder cancer. *Nat Genet.* 2010;42:415-9.
87. DJ Figueroa,Y Ye,A Siddiq *et al.* Genome-wide association study identifies multiple loci associated with bladder cancer risk. *Hum Mol Genet* (in press).
88. S Sanyal,F Festa,S Sakano *et al.* Polymorphisms in DNA repair and metabolic genes in bladder cancer. *Carcinogenesis.* 2004; 25:729–734.
89. MR Karagas ,S Park , H H Nelson *et al.* Methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) variants and bladder cancer: a population-based case–control study. *Int J Hyg Environ Health.* 2005; 208:321–327.
90. LE Moore,JK Wiencke,MN Bates *et al.* Investigation of genetic polymorphisms and smoking in a bladder cancer case–control study in Argentina. *Cancer Lett.* 2004; 211:199–207.
91. K Rouissi,S Ouerhani , E Oliveira *et al.* Polymorphisms in one-carbon metabolism pathway genes and risk for bladder cancer in a Tunisian population. *Cancer Genet Cytogenet.*2009; 195: 43-45.
92. M Izmirlı ,N Inandiklioglu, D Abat *et al.* MTHFR Gene Polymorphisms in Bladder Cancer in the Turkish Population. *Asian Pacific J Cancer Prev.*2011; 12 : 1833-1835

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

93. C F Skibola, M T Smith, E Kane *et al.* Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene are associated with susceptibility to acute leukemia in adults. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1999; 96, 12810--12815.
94. H Shen, Y Xu, Y Zheng *et al.* Polymorphisms of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase and risk of gastric cancer in a Chinese population: a case control study. *Int. J. Cancer.* 2001; 95, 332--336.
95. MR Safarinejad, N Shafiei, S Safarinejad . Genetic susceptibility of methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene C677T, A1298C and G1793A polymorphisms with risk for bladder transitional cell carcinoma in men. *Med Oncol.* 2011; 28 (1): 398-412.
96. K Rouissi , S Khedhiri, S Kouidhi *et al.* Methylene-tetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene polymorphisms and bladder cancer susceptibility: A meta-analysis that includes race, smoking status and tumor stage. *J Toxicol Environ Health Sci.* 2011 3(12): 328-334.
97. W You , Z Li , C *et al.* MTHFR C677T and A1298C polymorphisms were associated with bladder cancer risk and disease progression: a meta-analysis. *DNA Cell Biol.* 2013 May; 32(5): 260-7.
98. DW CAI, XF LIU, BU RG. Genetic Polymorphisms of *MTHFR* and Aberrant Promoter Hypermethylation of the *RASSF1A* Gene in Bladder Cancer Risk in a Chinese Population . *The Journal of International Medical Research* 2009; 37: 1882 – 1889.

### Webographie :

- 1<sub>iw</sub> - [http://www.concours.vuibert.fr/sites/concours.vuibert.fr/files/imagecache/Largeur\\_670/Lappareil-urinaire-masculin.jpg](http://www.concours.vuibert.fr/sites/concours.vuibert.fr/files/imagecache/Largeur_670/Lappareil-urinaire-masculin.jpg) consulté le 20-06-2015
- 2<sub>iw</sub> - <http://www.sirtin.fr/sirtin/wp-content/uploads/080220-01.jpg> consulté le 20-06-2015
- 3<sub>iw</sub> - [http://www.uropage.com/ART\\_vessie2.php](http://www.uropage.com/ART_vessie2.php) consulté le 20-06-2015
- 4<sub>iw</sub> - <http://ghr.nlm.nih.gov/gene/EGFR> consulté le 20-06-2015
- 5<sub>iw</sub> - <http://nutrigenomics.wikispaces.com/file/view/MTHFR.jpeg/211237746/665x183/MTHFR.jpeg> consulté le 20-06-2015

**Annexes**

## Annexe 1 :

**Tableau 1 :** Grades du cancer de la vessie <sup>(15)</sup>

Grade	Description
1	Bas grade – croissance lente, risques de propagation moins élevés
2	Grade modéré
3	Haut grade – croissance plutôt rapide, risques de propagation plus élevés

**Tableau 2 :** Classification TNM 2010 <sup>(15)</sup> :

<b>T</b> Tumeur primitive	Tx	Tumeur primitive non évaluable
	T0	Tumeur primitive non retrouvée
	Ta	Carcinome papillaire non invasif
	Tis	Carcinome in situ « plan »
	T1	Tumeur envahissant le chorion
	T2	Tumeur envahissant la musculature – T2a Tumeur envahissant le muscle superficiel (moitié interne) – T2b Tumeur envahissant le muscle profond (moitié externe)
	T3	Tumeur envahissant le tissu péri-vésical – T3a Envahissement microscopique – T3b Envahissement extra-vésical macroscopique
T4	Tumeur envahissant une structure péri-vésicale – T4a Prostate, vagin ou utérus – T4b Paroi pelvienne ou abdominale	
<b>N</b> Ganglions lymphatiques régionaux	Nx	Ganglions non évaluables
	N0	Absence de métastase ganglionnaire régionale
	N1	Métastase ganglionnaire unique < 2 cm
	N2	Métastase ganglionnaire unique > 2 cm et < 5 cm ou métastases ganglionnaires multiples < 5 cm
	N3	Métastase(s) ganglionnaire(s) > 5 cm
<b>M</b> Métastases à distance	Mx	Métastases non évaluable
	M0	Absence de métastase à distance
	M1	Métastase (s) à distance



Annexe 2 :

**Questionnaire**

**Tumeurs de la vessie**

Date de prélèvement : .... / .... / .....

N° de patient: .....

Nom: .....

Prénom: .....

Age: .....

Sexe: .....

Profession: .....

Age de diagnostic : .....

**Consommation :**

Tabac : oui  non  ancien fumeur  Nb de cigarette/jour : .....

Antécédent familial : cancer de la vessie oui  non

Autres cancers oui  ..... Non

**Examens :**

- Cytologie urinaire
- Biopsie
- Cystoscopie
- Echographie
- ECBU

**Traitement :**

- Chirurgie : endoscopie  Nb d'intervention .....
- Générale
- Chimiothérapie
- Immunothérapie BCG

**Histologie :**

- Classification TNM : .....
- Envahissement ganglionnaire : oui  non
- Récidive : oui  non
- D'autres tumeurs : oui  non

Durée de traitement : .....

## **Annexe 3 :**

### **L'extraction d'ADN :**

#### ***Préparation des leucocytes***

- Dans un tube Falcon de 50 ml ; mettre le sang total (5-7 ml) et compléter à 45ml avec du TE 20 :5 ; Laisser 10 min dans la glace.
- Centrifuger 10 min à 3900 g (3900 rpm).
- Déverser le surnageant prudemment afin de garder le culot leucocytaire précipité au fond de tube.
- Rajouter le TE 20:5 au culot jusqu'à 25-30 ml, agiter pour le remettre en suspension et laisser 10 min dans la glace.
- Centrifuger dans les mêmes conditions précédentes.
- Déverser le surnageant : obtention d'un culot de leucocytes.

#### ***Extraction de l'ADN***

- dilacérer le culot de leucocytes soigneusement afin de les prendre complètement et les mettre dans un tube Falcon conique de 15 ml.
- Ajouter 3 ml de tampon de lyse (Na Cl 400 mM, EDTA 2mM, Tris 10mM, PH 8.2)
- Ajouter 200 µL de SDS à 10% (détruire les membranes cellulaires et libérer l'ADN)
- Ajouter 100 µL de protéinase K (PK) à 10 mg / ml. (purification du mélange)
- Agiter le tube sur une roue rotative à 37°C pendant une nuit.
- Le lendemain ; refroidir dans la glace.
- Ajouter 1 ml de NaCl 4 M et agiter rigoureusement à la main.
- Remettre 5 min dans la glace (précipitation des protéines).
- Centrifuger 15 min à 2500 rpm.
- Transvaser le surnageant dans un tube Falcon de 50 ml, ajouter 2 fois son volume d'éthanol absolu (100%) préalablement refroidi et agiter en tournant le tube plusieurs fois : **la pelote d'ADN se forme** visible à l'œil nu. (Laisser éventuellement 30 min à -20°C si la pelote d'ADN ne se forme pas).
- Récupérer la pelote d'ADN par une pipette pasteur et la rincer 2 fois dans l'éthanol à 70% dans un tube eppendorf stérile.

#### ***Solubilisation de l'ADN :***

- L'ADN est réhydraté en ajoutant entre 300 et 1000 µl de TE 10 :1 selon la grosseur de la pelote et la concentration souhaitée.

- Laisser une nuit sur agitateur rotateur à 37°C, puis à température ambiante jusqu'à dissolution complète (de 1 jusqu'à 3 jours).
- Par le moyen du rapport de DO 260 nm/ DO 280 nm, la pureté de l'ADN est déterminée en indiquant la contamination de l'ADN par les protéines ou par les ARN.

#### **Annexe 4 :**

##### **Dilution de l'ADN**

-20 µl d'ADN

-30 µl H<sub>2</sub>O

**Tableau 3 :** Préparation du milieu réactionnel de PCR pour MTHFR :

PCR	MIX	<b>X Nombre d'échantillons</b>	Quantité µl
H <sub>2</sub> O	4,02 µl		
Tampon 10 X sans mg cl <sub>2</sub>	1µl		
DNTp 2Mm	1,6 µl		
MgCl <sub>2</sub> 25 mM (1,5 mM)	0,3 µl		
Oligo F (100 pmol/ µl)	1 µl		
Oligo R (100pmol/µl)	1 µl		
Taq polymérase	0,08µl		

##### ***Dans l'éppendorf :***

- 1µl ADN de chaque échantillon + 9 µl Mix
- Le blanc : 1 µl d'eau distillée + 9µl Mix

**Le thermocycleur :** Le thermocycleur est programmé pour l'MTHFR :

**Tableau 4 :** Programmation des cycles de PCR

Nombre de cycle	Etape	Température	Durée
X1	Dénaturation	95 °C	5min-6min
X40	Dénaturation	95 °C	30s
	Hybridation	65°C	30s
	Elongation	72 °C	30s
		72 °C	10min

##### ***Préparation du gel d'agarose 2%:***

2 g d'agarose + 100 ml de TBE (1X) + 10µl BET (Bromure d'Etidium)

## **Annexe 5 :**

### ***Digestion par l'enzyme MboII***

-Pour avoir une bonne digestion on a utilisé l'enzyme concentré : 1 µl de *MboII* pour chaque échantillon.

-Mettre à l'étuve pendant 1-16 h à 37 °C.

### ***Préparation du gel d'agarose 4%***

4 g d'agarose + 100 ml TBE 1X + 10 µl BET (Bromure d'étidium)

## RESUME

La vessie peut être le siège de malformations (exstrophie), d'infections (cystite), et de tumeurs bénignes ou malignes. Malgré qu'il soit peu connu, le cancer de la vessie reste le 9ème cancer le plus fréquent dans le monde et le 2ème cancer du tractus génito-urinaire chez l'homme, après le cancer de la prostate.

L'objectif de cette étude est de trouver une éventuelle association entre le cancer de la vessie et quelques facteurs de risque d'ordre environnemental ou génétique.

L'étude a été réalisée sur un total de 60 sujets, dont 30 témoins présumés sains et 30 patients atteints de tumeurs vésicales de différents stades et grades.

En réalisant des études épidémiologiques et moléculaires on a abouti à des résultats qui montrent une nette prédominance masculine sur l'ensemble des sujets malades avec un sexe ratio de 6 :1 et une fréquence maximale de survenue entre 60 et 69ans.

La comparaison des groupes de patients et témoins selon leur statut tabagique (73,33% de patients fumeurs vs 20% de témoins fumeurs) suggère que la consommation du tabac est le facteur de risque le plus incriminé dans la carcinogénèse vésical (p-value =0,0001). L'exposition professionnelle s'avère également un deuxième facteur de risque : 53,34 % des patients sont exposés au risque professionnel notamment aux Amines Aromatiques (26,67%). 20 % des patients présentent des antécédents familiaux.

Afin de démontrer si le polymorphisme MTHFR A1298C est impliqué ou non dans la survenue du cancer vésical, on a effectué un génotypage pour un certain nombre de patients et témoins. L'étude ne montre aucune association entre le polymorphisme MTHFR A1298C et le cancer de la vessie et ceci pour les deux génotypes AC (OR=0,76 et p-value = 0,93) et AC+CC (OR=0,76 et p-value = 0,93).

## **ABSTRACT:**

The bladder may be the seat of defects (Exstrophy), infections (cystitis), and benign or malignant tumor. Despite it is not very known, the bladder cancer remains the ninth most common cancer worldwide and the second cancer of the genitourinary tract in men, after prostate cancer.

The objective of this study is to find a possible association between bladder cancer and some environmental or genetic risk factors.

The study was conducted on 60 subjects, including 30 controls supposed safe and 30 cases with bladder cancer of different stages and grades.

By conducting epidemiological and molecular studies, we noted that there are a male predominance over all the sick patients with a sex ratio of 6: 1 and a maximum frequency of occurrence between 60 and 69 years.

Comparing groups of patients and controls according to their smoking status (73.33% of smoking patients vs 20% of smokers controls) suggests that tobacco is implicated in bladder carcinogenesis (p-value = 0.0001). Also occupational exposure implicated: 53.34% of patients are exposed to occupational risk including Aromatic Amines (26.67%). 20% of patients have a family history.

To demonstrate whether the polymorphism A1298C MTHFR is involved or not in the occurrence of bladder cancer, genotyping was established for a number of patients and controls. The study shows that there are no association between MTHFR A1298C polymorphism and bladder cancer and this for two AC genotype (OR = 0.76 and p-value = 0.93) and AC + CC (OR = 0.76 and p-value = 0.93).

**Keywords:** Bladder cancer, risk factors, smoking, occupational exposure, family history, MTHFR polymorphism A1298C.

## ملخص

المثانة قد تكون مركز التشوهات. الالتهابات (التهاب المثانة) وعرضة لتشكيل أورام خبيثة او غير خبيثة. رغم عدم شهرته فان سرطان المثانة هو تاسع السرطانات الأكثر شيوعا في العالم. ويحتل المرتبة الثانية بالنسبة لسرطان الجهاز التناسلي البولي لدى الرجال بعد سرطان البروستات.

الهدف من هذه الدراسة هو إيجاد علاقة محتملة بين سرطان المثانة وبعض العوامل الوراثية او تلك المرتبطة بالمحيط البيئي

لقد أجريت هذه الدراسة على 60 شخص من بينهم 30 شخص فيصحة جيدة و30 آخرين مصابين بسرطان المثانة من مراحل ودرجات مختلفة.

عن طريق إجراء دراسات احصائية وجزئية توصلنا إلى ان اغلبية المصابين من الذكور بمعدل 6:1 مقارنة بالإناث مع نسبة اصابات اعلى عند الاشخاص بين 60 و69 سنة.

بمقارنة مجموعة من المرضى وشهود اصحاء وفقا لحالة تدخينهم وجدنا (73.33%) من المرضى مدخنين مقابل 20 بالمئة فقط من الشهود، وبالتالي استهلاك التبغ هو عامل الخطر الاكثر شيوعا للإصابة بسرطان المثانة.

53,44 بالمئة من المصابين معرضون لمخاطر مهنية خصوصا الأمينات العطرية حيث ان 26,67 بالمئة من المصابين كانوا معرضون لهذه الامينات. 20 بالمئة من المرضى لديهم تاريخ عائلي اي احد الاقارب مصاب.

لإثبات ما إذا MTHFR A1298C هو سبب أم لا في الإصابة بسرطان المثانة، تم إجراء عملية التنميط الجيني لعدد من المصابين و الشهود و قد اظهرت المقارنة بين النمط الوراثي لدى المصابين و الشهود انه لا توجد علاقة بين النمط الوراثي وسرطان المثانة و هذا في كلتا الحالتين

AC+CC (OR=0,76 et p-value = 0,93) و AC (OR=0,76 et p-value=0,93)

كلمات مفتاحية:

سرطان المثانة. عوامل الخطر. التبغ. التعرض المهني. تاريخ عائلي. المتغير المورثي MTHFR A 1298 C

Année Universitaire : 2014-2015

Présenté par : - Benlatche Miryam  
- Mahsene Lylia

**Etude épidémiologique et moléculaire du cancer de la vessie**

**Nature du diplôme : Master II en Génétique Moléculaire**

**Résumé**

La vessie peut être le siège de malformations (exstrophie), d'infections (cystite), et de tumeurs bénignes ou malignes. Malgré qu'il soit peu connu, le cancer de la vessie reste le 9<sup>ème</sup> cancer le plus fréquent dans le monde et le 2<sup>ème</sup> cancer du tractus génito-urinaire chez l'homme, après le cancer de la prostate.

L'objectif de cette étude est de trouver une éventuelle association entre le cancer de la vessie et quelques facteurs de risque d'ordre environnemental ou génétique.

L'étude a été réalisée sur un total de 60 sujets, dont 30 témoins présumés sains et 30 patients atteints de tumeurs vésicales de différents stades et grades.

En réalisant des études épidémiologiques et moléculaires on a abouti à des résultats qui montrent une nette prédominance masculine sur l'ensemble des sujets malades avec un sexe ratio de 6 :1 et une fréquence maximale de survenue entre 60 et 69 ans.

La comparaison des groupes de patients et témoins selon leur statut tabagique (73,33% de patients fumeurs vs 20% de témoins fumeurs) suggère que la consommation du tabac est le facteur de risque le plus incriminé dans la carcinogénèse vésical ( $p$ -value =0,0001). L'exposition professionnelle s'avère également un deuxième facteur de risque : **53,34** % des patients sont exposés au risque professionnel notamment aux Amines Aromatiques (**26,67%**). 20 % des patients présentent des antécédents familiaux.

Afin de démontrer si le polymorphisme *MTHFR A1298C* est impliqué ou non dans la survenue du cancer vésical, on a effectué un génotypage pour un certain nombre de patients et témoins. L'étude ne montre aucune association entre le polymorphisme *MTHFR A1298C* et le cancer de la vessie et ceci pour les deux génotypes AC (OR=0,76 et  $p$ -value = 0,93) et AC+CC (OR=0,76 et  $p$ -value = 0,93).

**Mots clés :** cancer de la vessie, facteurs de risque, tabac, exposition professionnelle, antécédents familiaux, polymorphisme *MTHFR A1298C*.