



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie Animale

قسم : بيولوجيا الحيوان

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 :

**Implication du polymorphisme T3801C du gène *CYP1A1*
dans la genèse du cancer du rein**

Présenté et soutenu par : ABOUD Fatima Zohra

Le : 04/07/2017

KOLLI Lamiss Sabrine

Jury d'évaluation :

Président du jury : CHAOUI Naouel (MCA - UFM Constantine 1).

Rapporteur : REZGOUNE Djalila (MCA - UFM Constantine 1).

Examineurs : BECHKRI Sara (MCB - UFM Constantine 1).

*Année universitaire
2016 - 2017*

Table des matières

Remerciements

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction 1

Etude bibliographiques

| | |
|--|---|
| I. Anatomie et physiologie des reins | 2 |
| 1. Anatomie descriptive | 2 |
| 1.1. Configuration externe | 2 |
| 1.1.1. Situation | 2 |
| 1.1.2. Dimensions moyennes | 2 |
| 1.1.3. Structure | 2 |
| 1.1.4. Forme et aspect | 2 |
| 1.2. Configuration interne | 3 |
| 1.3. Vaisseaux du rein | 4 |
| 1.3.1. L'artère rénale | 4 |
| 1.3.2. La veine rénale | 4 |
| 2. Physiologie des reins | 5 |
| 2.1. La filtration glomérulaire | 5 |
| 2.2. La réabsorption tubulaire | 5 |
| 2.3. Excrétion tubulaire | 5 |
| II. Les pathologies rénales | 6 |
| 1. Les maladies | 6 |
| 1.1. Les anomalies constitutionnelles | 6 |
| 1.1.1. Les malformations et kystes du rein | 6 |
| 1.1.2. Les maladies héréditaires (les lithiases) | 7 |
| 1.2. Les maladies rénales acquises | 7 |
| 2. Les cancers | 7 |

| | |
|--|----------|
| III. Le cancer du rein | 8 |
| 1. Historique | 8 |
| 2. Epidémiologie | 8 |
| 3. Facteurs de risque | 8 |
| 4. Pathologie | 10 |
| 4.1. Critères de classification | 10 |
| 4.1.1. Selon l’OMS | 10 |
| 4.1.2. Selon le grade de Fuhrman (ISUP 2014) | 10 |
| 4.1.3. Selon pTNM | 10 |
| 4.2. Les principaux types | 10 |
| 4.2.1. Carcinome à cellules rénales | 10 |
| 4.2.2. Tumeur rénaux primitives fréquentes | 11 |
| 4.3. Evolution naturelle | 12 |
| 5. Diagnostic | 12 |
| 5.1. Symptômes | 12 |
| 5.1.1. Signes généraux | 12 |
| 5.1.2. Trouble urologique | 12 |
| 5.1.3. Syndrome paranéoplasique | 12 |
| 5.2. Méthodes de diagnostic | 13 |
| 6. Traitement | 13 |
| 6.1. Néphrectomie (la chirurgie) | 13 |
| 6.2. Indication thérapeutique | 13 |
| 6.2.1. Thérapie ciblé | 13 |
| 6.2.2. Immunothérapie | 13 |
| IV. Génétique | 14 |
| 1. Les formes héréditaires | 14 |
| 1.1. La maladie de Von Hippel-Lindau (VHL) | 14 |
| 1.2. Le syndrome de carcinome papillaire héréditaire (HPRCC) | 14 |
| 1.3. Le carcinome papillaire héréditaire associé à une léiomyomatose cutanée et utérine (HLRCC) | 15 |
| 1.4. Le syndrome de Birt-Hogg-Dube (BHD) | 5 |
| 1.5. La sclérose tubéreuse de Bourneville | 15 |
| 2. Les formes sporadiques | 16 |

| | |
|---|-----------|
| 3. Les anomalies chromosomiques | 16 |
| 3.1. Carcinome à translocation <i>TFE3</i> | 16 |
| 3.2. Carcinome muscineux tubulaire et fusiforme de bas grade | 17 |
| 4. Les voies moléculaires dans le cancer du rein | 17 |
| 4.1. Les voies de réponse à l'hypoxie et le rôle de système VHL/HIF | 17 |
| 4.2. La voie de signalisation HGF /MET | 18 |
| 4.3. La voie P13K/AKT/mTOR | 19 |
| 4.4. La voie de l'EGF et des MAPKINASES | 20 |
| 5. Le polymorphisme de cytochrome P450 1A1 | 20 |
| 5.1. Le cytochrome P450 | 20 |
| 5.2. Nomenclature | 21 |
| 5.3. Le polymorphisme de cytochrome P450 1A1 | 21 |
| 5.3.1. Caractérisation génétique | 21 |
| 5.3.2. Les mutations du CYP1A1 | 21 |
| 5.3.3. Répartition tissulaire | 22 |
| 5.3.4. Caractérisation biologique | 22 |
| 5.3.5. Le polymorphisme CYP1A1 et susceptibilité au RCC | 22 |

Patients et méthodes

| | |
|--|-----------|
| 1. Patients et témoins | 24 |
| 1.1. Recrutement des sujets | 24 |
| 1.1.1. Critères d'inclusion/exclusion | 24 |
| 1.2. Collecte des échantillons et prélèvement sanguin | 24 |
| 1.3. Questionnaire | 25 |
| 2. Méthodes employées | 25 |
| 2.1. Etude anatomopathologique | 25 |
| 2.1.1. Protocole | 25 |
| 2.2. Extraction de l'ADN | 27 |
| 2.2.1. Principe | 27 |
| 2.2.2. Dosage et détermination de la pureté de l'ADN | 28 |
| 2.3. Génotypage du polymorphisme T3801C du <i>CYP1A1</i> | 28 |
| 2.3.1. PCR | 29 |
| 2.4. Contrôle de la digestion | 31 |

| | |
|-----------------------------------|-----------|
| 3. Etude statistique | 31 |
|-----------------------------------|-----------|

Résultats et discussion

| | |
|--|-----------|
| 1. Caractère démographique | 32 |
| 1.1. Répartition selon le sexe | 32 |
| 1.2. Répartition selon l'âge | 32 |
| 2. Etude histologique | 33 |
| 1.1. Répartition des patients selon le type histologique | 33 |
| 1.2. Etude microscopique | 35 |
| 3. Etude transversale cas-témoins | 37 |
| 3.1. Répartition selon le statut tabagique | 37 |
| 3.2. Répartition des patients selon la consommation d'alcool | 38 |
| 3.3. Répartition des patients selon les antécédents médicaux | 39 |
| 3.4. La répartition des patients selon les antécédents familiaux | 40 |
| 3.5. Répartition de la population d'étude selon le génotype | 40 |

| | |
|---|-----------|
| Conclusion et perspectives | 44 |
|---|-----------|

| | |
|--|-----------|
| Références bibliographiques | 45 |
|--|-----------|

Résumés

Annexes

Remerciements

Tout d'abord, nous souhaitons adresser nos remerciements à Dieu de nous avoir aidé à réaliser ce mémoire, et de nous avoir donné la volonté de terminer ce travail.

Notre reconnaissance chaleureuse à notre encadreur Mme REZGOUNE-CHELLAT .D, Maître de conférences à l'université des frères Mentouri Constantine, pour ses conseils, sa compréhension, sa patience et son orientation judicieuse.

Nous remercions Mme CHAOUI N d'avoir accepté de présider notre jury.

Nous remercions Mme BECHKRI S d'avoir accepté de participer à notre jury et pour le temps qu'elle va consacrer à la lecture de mémoire de master.

Nos remerciements les plus sincères à Monsieur REZGOUNE. ML qui nous a beaucoup aidé et a été toujours à nos cotés.

Nous remercions également le professeur SATTA D responsable de la filière de génétique moléculaire, qui nous a orienté et a été toujours à notre écoute et pour ses encouragements.

Sans oublier la doctorante Melle BN SUILAH .F qui nous a aidés à mieux comprendre les techniques de biologie moléculaire.

Ainsi à Mme DADCI Y technicienne au niveau du laboratoire de biologie et génétique moléculaire du CHU pour son aide précieuse dans la partie pratique.

Un grand merci pour le professeur BENSACI .S médecin chef au laboratoire d'uro-néphrologie de Daksi, qui nous a permis de bénéficier des dossiers des malades pour le bon déroulement de notre étude.

Finalement nous remercions tous les professeurs et les enseignants de la filière génétique qui nous ont dispensé les cours durant notre passage dans ce département avec dévouement et patience.

Notre reconnaissance à toute personne qui nous a été un soutien moral ou physique de près ou de loin.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire à :

Mes très chers parents Mohammed el mortada et Yamina

Aucun mot ne serait être assez éloquent pour exprimer ce que vous méritez, pour votre patience, confiance, votre respect de mes choix, et surtout pour votre effort fournis pour mon éducation et mon bien être, que je ne pourrais jamais assez remercier.

A mes sœurs Nour et Meryem et mon frère Abd el Hakim

Vous êtes toujours à mes cotés pour m'aider et m'offrir vos encouragements, soutien moral et votre tendresse.

A mes proches amis surtout Nedjla et mes cousines Houria et Karima

Je vous considère comme mes sœurs, merci pour vos encouragements et motivations.

Je remercie mes chères tantes

Vous étiez un secours pour moi.

A toute personne qui m'a aidé de près ou de loin.

A mes enseignants et surtout Mme Rezgoune-Chellat, vous méritez tout le respect.

A la formidable promotion 2017 du Master 2 Génétique moléculaire.

Merci à tous ceux qui me sont chers.

FATIMA ZOHRÀ

Dédicace

*En tout premier lieu, je remercie le **BON DIEU** tout puissant de m'avoir donné la force, la volonté, et le courage pour l'achèvement de ce travail.*

*A la mémoire de **ma mère** j'aurais tant aimé que vous soyer présente aujourd'hui. Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon amour éternel, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Ce travail est fruit de tes sacrifices.*

*A **mon père** **ABDELAZIZ** je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance. Vous vous êtes dépensés pour moi sans compter.*

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos sacrifices.

*Puisse **DIEU**, le très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.*

*A mes chères adorables sœurs : **MERIEM**, **ABIR**, **KHAOULA**, et la petite **AYA** En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous je vous remercie pour votre patience sans égale, votre affection si sincère ; Je dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et je vous souhaite un avenir plein de joie, de réussite et de sérénité.*

*A **mon beau frère** **MOHAMED TAHER** et toute la famille **ALI KHOUDJA**.*

*A mes amis d'enfance, mes amis de toujours **DJOUBEIR** et **AHLAM** en souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble je dédie ce travail.*

*A mes camarades **HASSNA**, **KHADIDJA** et **REBIHA** et tous ceux.*

A toutes les personnes qui ont participé à l'élaboration de ce travail, à tous ceux que j'ai omis de citer.

Lamíss sabríne

LISTE DES ABREVIATIONS

| | |
|----------------------|---|
| AKT : | Protéine Kinase B. |
| BBP : | Bleu de Bromo Phénol |
| BHD : | Birt-Hogg-Dubé. |
| CCR : | Carcinome à Cellules Rénales. |
| ccRCC : | Carcinome Rénal à cellules claires |
| chRCC : | Carcinome Rénal à Cellules chromophobes |
| CYP : | Cytochrome. |
| DFG : | Débit de filtration glomérulaire |
| EDTA : | EthyleneDiamineTetraacetic Acid. |
| EGFR: | Epidermal Growth Factor Receptor. |
| EPO : | L'érythropoïétine. |
| FH : | Fumarate Hydratase. |
| GLUT : | Le transport du glucose. |
| HAP : | Hydrocarbure Aromatique Polycyclique. |
| HGF: | Hepatocyte Growth Factor. |
| HGF/SF : | Hepatocyte Growth Factor/Scatter Factor. |
| HIF : | Hypoxia-Inducible Factor. |
| bHLH : | basic Helix-Loop-Helix. |
| HLRCC : | Le carcinome papillaire héréditaire associé à une léiomyomatose cutanée et utérine. |
| HTA : | HyperTension Artérielle. |
| IRC : | Insuffisance Rénale Chronique. |
| LAM : | LymphAngioleioMyomatose |
| <i>MspI</i> : | Moraxella species I. |
| MTOR : | Mamilian Target of Rapamycin. |
| PCR/RFLP : | Polymerase Chain Reaction / Restriction Fragment Length Polymorphism |
| PDGF : | Platelet Derived Growth Factor. |
| pRCC : | Carcinome Rénal à cellules papillaires. |
| PTEN : | Phospatase and Tensin homolog. |
| .SchGF : | Single chaine/ Hepatocyte Growth Factor. |
| TBE : | Tris Borate EDTA |

TC : Tube collecteur.
TCD : Tube Contourné Distal.
TCP: Tube Contourné Proximal.
TGF : Transforming Growth Factor.
TNM : Tumeur, Node, Metastases
TSC : Tuberos Sclerosis Complex.
VCI : Veine Cave Inférieure.
VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor.
VHL : Von Hippel-Lindau

.

.

.

LISTE DES FIGURES

| | | |
|--------------------|---|-----------|
| Figure 1 : | Coupe longitudinale d'un rein..... | 3 |
| Figure 2 : | Vue antérieure du système urinaire de la femme..... | 4 |
| Figure 3 : | La voie VHL/HIF et les gènes cibles..... | 18 |
| Figure 4 : | Localisation schématique des mutations m1, m2, m3 et m4 sur le gène <i>CYP1A1</i> | 22 |
| Figure 5 : | Le profil électrophorétique de la PCR du variant T3801C du <i>CYP1A1</i> | 31 |
| Figure 6 : | Répartition des patients selon le sexe..... | 32 |
| Figure 7 : | Répartition des patients selon l'âge..... | 33 |
| Figure 8 : | Répartition des patients selon le type histologique..... | 34 |
| Figure 9 : | Répartition cas-témoins selon le statut tabagique..... | 37 |
| Figure 10 : | Répartition des patients selon la consommation d'alcool..... | 38 |
| Figure 11 : | Répartition des patients selon les antécédents médicaux..... | 39 |
| Figure 12 : | Répartition des patients selon les antécédents familiaux..... | 40 |
| Figure 13 : | Profil électrophorétique de la digestion par l'enzyme <i>MspI</i> | 41 |
| Figure 14 : | Les fréquences génotypiques du T3801C du <i>CYP1A1</i> des patients et des témoins..... | 42 |
| Figure 15 : | Les fréquences alléliques du T3801C du <i>CYP1A1</i> des patients et des témoins..... | 42 |

LISTE DES TABLEAUX

| | | |
|--------------------|---|-----------|
| Tableau 1 : | Les différents types de malformations congénitales et kystes du rein... | 6 |
| Tableau 2 : | Classification de la maladie rénale chronique selon KDIGO..... | 7 |
| Tableau 3 : | Composants du mélange réactionnel de PCR pour l'amplification du variant allélique 3801T>C du <i>CYP1A1</i> | 29 |
| Tableau 4: | La programmation des cycles de la PCR..... | 30 |
| Tableau 5: | Répartition des sujets selon les tranches d'âges | 32 |
| Tableau 6: | Coupes histologiques des différents types de RCC..... | 35 |
| Tableau 7: | Répartition des patients et des témoins selon le statut tabagique..... | 37 |
| Tableau 8: | Répartition des patients selon les antécédents médicaux (HTA et Diabète)..... | 39 |
| Tableau 9: | La répartition des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme T3801C du <i>CYP1A1</i> | 41 |

Introduction

Un cancer apparaît lorsqu'une cellule du rein initialement normale se transforme, puis se multiplie de façon incontrôlée en formant un amas de cellules anormales qu'on appelle une tumeur cancéreuse.

Un cancer du rein peut prendre naissance à partir d'une cellule de différentes parties du rein mais, dans la majorité des cas, il se développe à partir d'une cellule du parenchyme rénal. Ce type de cancer du rein est nommé le carcinome à cellules rénales (CCR).

Lorsqu'un cancer apparaît, les cellules cancéreuses sont d'abord peu nombreuses et confinées à l'intérieur du rein. On parle de cancer localisé. Avec le temps et si aucun traitement n'est mis en place, les cellules cancéreuses deviennent plus nombreuses ; la taille de la tumeur augmente. Celle-ci peut s'étendre au-delà du rein et toucher les tissus et les organes voisins. Dès lors, le cancer est dit localement avancé. Parfois, des cellules cancéreuses se détachent de la tumeur, empruntent les vaisseaux lymphatiques ou sanguins et s'implantent dans d'autres parties du corps plus éloignées où elles forment des métastases (Belaud *et al.*, 2013).

Le cancer du rein est considéré comme une pathologie hétérogène du point de vue histologique. Par ordre de fréquence, il est classé au troisième rang des cancers urologiques mais demeure le premier en termes de mortalité spécifique, avec 40 % de décès (Audenet *et al.*, 2009).

Il touche deux fois plus les hommes que les femmes. L'âge moyen au moment du diagnostic est 65 ans. Les trois principaux facteurs de risque du cancer du rein sont le tabagisme, l'obésité et un traitement par dialyse (Belaud *et al.*, 2013).

Dans chaque type histologique de CCR, des voies moléculaires sont impliquées dans les étapes de la carcinogenèse, les plus importantes sont : la voie **VHL/HIF/VEGF**, la voie **PI3K/AKT/MTOR** et les voies de **l'EGF et des MAP kinases** (Edeline *et al.*, 2010).

Dans la carcinogenèse rénale, plusieurs polymorphismes du gène *CYP1A1* sont impliqués dans la modification de l'activité enzymatique de CYP1A1. Cependant, le polymorphisme T3801C a été le plus étudié, et c'est le polymorphisme dont les effets sont significatifs sur la susceptibilité au cancer du rein (Acevedo *et al.*, 2014 ; Abdel-Razzak *et al.*, 2015 ; Bag *et al.*, 2015).

Nous avons assigné comme objectifs :

- de déterminer quels sont les facteurs de risque les plus incriminés dans la survenue du cancer du rein ;
- d'identifier les types histologiques les plus fréquents dans notre population d'étude ;
- de rechercher d'éventuelles corrélations entre le polymorphisme T3801C du gène *CYP1A1* et le cancer du rein.

*Etude
bibliographique*

I. Anatomie et physiologie des reins

Le rein est un organe vital, de couleur brun-rouge, et au nombre de deux : l'un droit, l'autre gauche (Lacombe, 2015).

Le rein joue un rôle crucial dans l'épuration du sang, des substances nuisibles provenant de la dégradation et du métabolisme des différentes substances organiques, surtout protéiques, ainsi que le maintien de l'équilibre électrolytique sanguin grâce à ses fonctions d'excrétion et de réabsorption, de même il exerce des fonctions endocrines sur la pression artérielle (système rénine angiotensine) et sur l'hématopoïèse (érythropoïétine) (Elroumy, 2007).

1. Anatomie descriptive

1.1. Configuration externe

1.1.1 Situation

Les reins sont situés dans l'abdomen. Ils sont appliqués contre la paroi postérieure de celui-ci et placés de part et d'autre de la colonne vertébrale. Ils sont entourés de tissu graisseux et occupent la loge rénale (Lacombe, 2015).

1.1.2. Dimensions moyennes

En général, le rein mesure environ 12 cm de haut, 6 cm de large, 3 cm d'épaisseur, son poids varie entre 130 – 140 g (Elroumy, 2007).

1.1.3. Structure

Le rein apparait au microscope comme formé par la juxtaposition d'un très grand nombre d'éléments tous semblables et appelés **néphrons**. Le néphron est un élément qui élabore l'urine (Lacombe, 2015).

1.1.4. Forme et aspect

Classiquement comparé à celle d'un haricot à hile interne, rouge brun, ferme, il présente :

- deux faces convexes antéro-externe et postéro-interne.
- deux bords externes concaves et internes convexes.
- deux pôles supérieur et inférieur (Elroumy, 2007).
- hile rénal : la face interne concave voisine du rachis contient le hile rénal, la zone d'abouchement de l'artère rénale, l'origine de la veine rénale, l'uretère et les vaisseaux lymphatiques (Schwegler et Lucius, 2013).

1.2. Configuration interne

Une coupe transversale du rein montre deux éléments :

- une cavité, le sinus rénal, dont l'origine est le hile
- et un tissu, le parenchyme rénal constitué de deux zones distinctes, le cortex rénal en périphérie et la médulla au centre, bordant le sinus rénal. Le parenchyme rénal est la partie du rein qui lui permet d'assurer ses fonctions. En effet, ce dernier est formé d'une multitude de néphrons (Rabiller, 2013).

Une coupe longitudinale du rein fait apparaître les zones suivantes (Figure 1) :

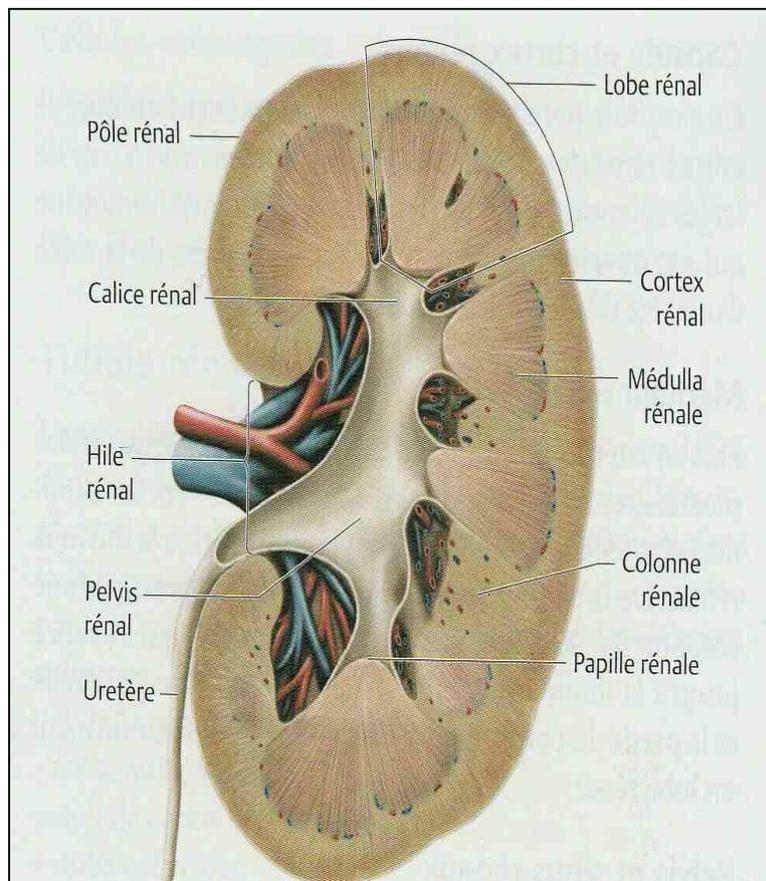


Figure 1 : Coupe longitudinale d'un rein (Lacombe, 2015)

1.2.1 Structure de néphron

C'est la plus petite unité fonctionnelle du rein. Son rôle est de filtrer l'urine primaire à partir du sang, et le réduit jusqu'à ce qu'elle puisse être éliminée sous forme d'urine finale.

Leur nombre varie de 1 à 1,5 millions de néphrons, connectés en parallèle les uns avec les autres. Ils sont constitués de deux segments différents :

- corpuscule rénal : dans le cortex rénal (ancien corpuscule de Malpighi)

- tubule rénal, formé des éléments suivants : tube contourné proximal (TCP), anse du néphron, tube contourné distale (TCD) et tube collecteur (TC) (Schwegler et Lucius, 2013).

1.3. Vaisseaux du rein

1.3.1. L'artère rénale

Sont au nombre de 2 naissant de l'aorte et se ramifie à l'intérieur du rein (Figure 2). Chaque artère donnera deux branches de division : une antérieure pré-pyélique et l'autre rétro-pyélique. Il n'existe aucune communication de l'artère rénale avec les artères voisines ou des branches de l'artère rénale entre elles (Elroumy, 2007 ; Lacombe, 2015).

1.3.2. Les veines rénales

- La veine rénale droite : 2 à 3 cm de long. Elle se draine directement dans la veine cave inférieure (VCI). Elle est située en avant et au dessus de l'artère homologue. A droite, la veine gonadique se draine directement dans la VCI.

- La veine rénale gauche : de 5 à 9 cm de long. Elle reçoit la veine gonadique et la veine surrénalienne gauche.

Les veines rénales ont un calibre d'environ 10 mm et sont le plus souvent avalvulées (Elroumy, 2007).

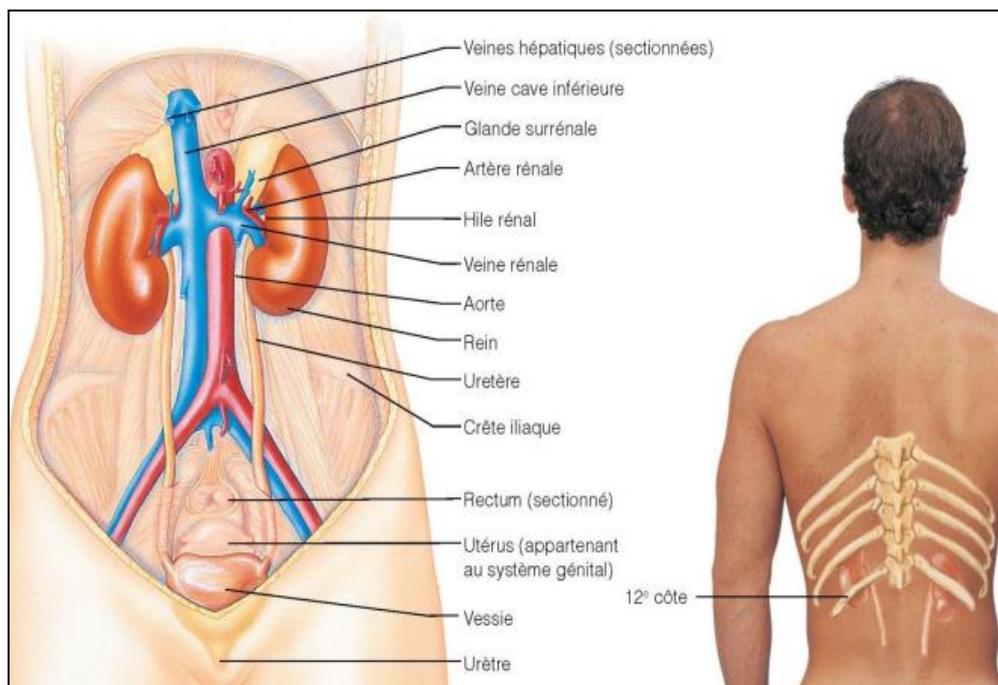


Figure 2 : Vue antérieure du système urinaire de la femme (Marieb, 2008).

2. Physiologie des reins

Le rôle principal du rein est d'éliminer les déchets et détoxification de l'organisme et cela comprends trois fonctions : la filtration glomérulaire, la réabsorption tubulaire, excrétion tubulaire (évacuation de l'urine).

2.1 La filtration glomérulaire

Au niveau du glomérule sera formée l'urine primaire ou filtrat glomérulaire par filtration du sang pendant son passage à son niveau. Au niveau du corpuscule de Malpighi, la **capsule de Bowman** se comporte comme un filtre qui va laisser passer une partie des constituants du sang. Les molécules sont filtrées selon leur poids moléculaire et leur charge électrique; à travers les pores de la membrane basale et de la capsule de Bowman, seule l'eau et les plus petits composants du plasma peuvent passer, par contre les globules blancs et rouges, les plaquettes ainsi que les grosses molécules du plasma seront retenues dans les anses capillaires (Schaffler et Menche, 2004 ; Lacombe, 2015). L'ultrafiltrat résultant, appelé **urine primaire** est donc largement exempt de protéines (Schwegler et Lucius, 2013).

2.2 Réabsorption tubulaire

- **Au niveau de TCP** : le TCP réabsorbe environ 2/3 de la quantité totale de sels et presque tout le sucre et les acides aminés. À la fin du TCP, environ 130 à 180 litres d'ultrafiltrat quotidiens auront été résorbés.
- **Au niveau de l'anse du néphron** : l'urine secondaire traverse une plus au moins grande partie de la médulla rénale, puis traverse la paroi de la partie ascendante de l'anse du néphron jusqu'à les cellules épithéliales vers le sang. A la fin, le liquide tubulaire n'est donc plus hypertonique.
- **Au niveau de TC** : processus de régulation de la quantité finale et la composition en sels qui seront éliminés de l'organisme dans l'urine en terme de volume et de concentration .
- **Au niveau de TCD** : assure la réabsorption indépendante du sodium, du calcium et du magnésium (Schwegler et Lucius, 2013).

2.3. Excrétion tubulaire

La sécrétion urinaire s'adapte en permanence aux besoins liquidiens de l'organisme. Elle est en relation directe avec les ingestions de boissons et de sels et de l'importance de la

déperdition d'eau, à fin d'éliminer certains produits étrangers à l'organisme (antibiotiques...) et aussi pour le maintien de l'équilibre des sels (Lacombe, 2015).

II. Les pathologies rénales

1. Les maladies

1.1 Les maladies constitutionnelles

Les reins et les voies urinaires peuvent être le siège de malformations dont certaines peuvent être héréditaires (Yvanie, 2009).

1.1.1 Les malformations et kystes du rein

Les malformations rénales sont fréquemment associées à des anomalies des voies excrétrices, elles peuvent être isolées ou s'intégrer dans le cadre d'une maladie héréditaire ou d'un syndrome poly malformatif (Dao, 1998). Il existe plusieurs types de malformations congénitales qui sont résumées dans le tableau 1 :

Tableau 1 : Les différents types de malformations congénitales et kystes du rein (Dao, 1998).

| Catégorie | Les types de la maladie |
|--|--|
| Les anomalies du nombre, de position, et de forme | <ul style="list-style-type: none"> -Les agénésies rénales = (l'absence du rein uni ou bilatérale, rarement). -L'hypertrophie rénale bilatérale. -Les reins surnuméraires. -Les ectopies rénales= (anomalie de migration de rein) -Rein en fer à cheval= (fusion des deux reins au niveau d'un pôle (le pôle inférieur). |
| Hypoplasies rénales (défaut de développement du rein) | <ul style="list-style-type: none"> - Simple uni ou bilatérale - Avec kystes glomérulaires - Plurikystique |
| Les maladies kystiques des reins | <ul style="list-style-type: none"> - Polykystose rénale : forme à transmission récessif ou type infantile et forme à transmission dominante ou type adulte - Dysplasie et kyste : persistance de structure épithéliales et mésenchymateuses anormales |

1.1.2 Les maladies héréditaires (les lithiases)

Les lithiases rénales héréditaires monogéniques sont rares. Elles représentent environ 2% chez l'adulte et 10 % chez l'enfant. Elle est caractérisée par la formation de calculs dans les reins, fréquemment associée à une néphrocalcinose et expose au risque d'évolution vers l'insuffisance rénale (Jungers *et al.*, 2008).

1.2 Les maladies rénales acquises

1.2.1 La maladie chronique (l'insuffisance rénale)

L'insuffisance Rénale Chronique (IRC) est définie par une diminution durable du débit de filtration glomérulaire en rapport avec une réduction permanente et définitive du nombre des néphrons fonctionnels. Elle est dite chronique lorsqu'elle est présente depuis au moins 3 mois. L'IRC est divisée en plusieurs stades, sur la base du débit de filtration glomérulaire (DFG) estimé à partir de la clairance calculée (Randa, 2009). La classification internationale (KDIGO) en 2005 comprend 5 stades (Tableau 2):

Tableau 2: Classification de la maladie rénale chronique selon KDIGO (Randa, 2009)

| Stade | Définition | DFG (ml/min/1,73m²) |
|--------------|-------------------------------|---------------------------------------|
| Stade 1 | Atteinte rénale sans IRC | ≥ 60 + souffrance rénale |
| Stade 2 | Insuffisance rénale légère | 60-89 + souffrance rénale |
| Stade 3 | Insuffisance rénale modérée | 59-30 |
| Stade 4 | Insuffisance rénale sévère | 15-29 |
| Stade 5 | Insuffisance rénale terminale | <15 |

2. Les cancers

Le cancer du rein est un cancer plutôt rare, il représente 3% des cancers solides de l'adulte. Il est le troisième cancer urologique par ordre de fréquence, après le cancer de la prostate et de la vessie (Eddalzi, 2012).

Cette section sera abordée au chapitre suivant.

III. Le cancer du rein

Un cancer est une multiplication anormale de cellules (provenant en générale d'une seule cellule anormale). Ces cellules ont perdu leurs mécanismes de contrôle et sont en mesure de se multiplier en continue, envahir les tissus voisins, migrer dans des parties distantes de l'organisme. Les cellules cancéreuses malignes peuvent se développer dans n'importe quel tissu de l'organisme (Bruce, 2016).

1. Historique

Le premier cas de cancer du rein publié, remonte à 1810, découvert lors de l'autopsie d'une femme enceinte de 35 ans. La première classification des tumeurs du rein a été proposée dès 1841 par Pierre François Olive Rayer.

Le XXème siècle a été marqué par l'avènement de la biologie moléculaire modifiant ainsi le profil thérapeutique du cancer du rein.

Les travaux de Zbar débutés en 1990 concernant le clonage du gène de la maladie de Von Hippel Lindeau ont été la base des nouveaux traitements antiangiogéniques constituant ainsi un espoir thérapeutique pour les cancers du rein métastatiques.

En 2004, la néphrectomie partielle voit ses indications s'élargir et est devenue un standard pour les tumeurs inférieures à 4 cm (Goris Gbenou *et al*, 2012).

2. Epidémiologie

Le cancer du rein, assez rare, c'est le troisième cancer urologique après le cancer de la prostate et de la vessie, il représente 80 à 85% de l'ensemble des tumeurs rénales. Son incidence est en nette augmentation en Amérique du Nord et en Europe du Nord (Agouzal, 2009).

Le cancer du rein est deux fois plus fréquent chez l'homme que chez la femme (sexe ratio: 2/1). L'incidence est estimée à 12,2 pour 100 000 hommes et de 5,7 pour 100 000 femmes (Agouzal, 2009).

En Algérie, 53000 cas de cancer du rein ont été enregistrés en 2016 (Algérie presse service, 2014).

3. Facteurs de risque

L'étiopathogénie du cancer du rein est multifactorielle. En effet, plusieurs études internationales ont démontré le rôle de facteurs personnels ou environnementaux dans la genèse du cancer du rein. Il existe une corrélation positive entre le risque de cancer du rein

et l'élévation du niveau de vie. Par conséquent plusieurs facteurs de risque sont mis en avant.

- **L'hypertension artérielle (HTA) :** il existe une corrélation entre la survenue du cancer du rein et l'existence d'une hypertension artérielle. En effet le risque relatif de survenu du cancer du rein est de 1,12.
- **L'obésité :** les sujets obèses, féminins en particulier, ont un risque plus important de cancer que les sujets minces, le risque relatif est trois fois plus élevé chez la femme obèse que chez la femme mince, le lien est due à une augmentation des œstrogènes.
- **Les facteurs génétiques :** la génétique des cancers du rein concerne à la fois les formes héréditaires et les formes sporadiques de l'affection.

La maladie de Von Hippel-Lindau (VHL) est cause la plus fréquente des formes familiales du cancer du rein.

- **L'hémodialyse avec dysplasie multikystique :** les sujets insuffisants rénaux chroniques sous dialyse ont un risque multiplié par dix de développer un cancer du rein (après une durée de plus de 3 ans). La survenue du cancer du rein dans cette population est précoce (45 ans) et augmente avec la durée de la dialyse (supérieure à 3 ans).
- **Patients transplantés :** le risque de développer un cancer du rein sur rein natif est deux fois plus fréquent chez les patients transplantés.
- **Le tabac :** des études épidémiologiques ont démontré que le risque de cancer du rein est multiplié par deux chez le fumeur.
- **Facteurs nutritionnels et hygiène de vie :** une alimentation riche en graisse animale, en viande, et en produits laitiers serait un facteur de risque du cancer. A l'inverse une consommation de fruits et de légumes verts aurait un effet protecteur, l'activité sportive aurait un effet protecteur (Agouzal, 2009).
- **Facteurs liés à l'environnement et à la profession :** plusieurs types d'exposition professionnelle ont été considérés comme associés à un risque accru de cancer du rein. Parmi eux, l'exposition aux solvants organiques, l'exposition aux métaux lourds (arsenic, cadmium, chrome, nickel et plomb), et l'exposition aux hydrocarbures polycycliques aromatiques (dérivés du pétrole et plastiques) (Gorio Gbenou *et al*, 2012).

4. Pathologies

4.1 Critères de classification

4.1.1 Selon l'OMS

Les tumeurs rénales de l'adulte sont représentées dans 90% des cas par les carcinomes à cellules rénales et quelques tumeurs bénignes comme l'oncocytome et l'angiomyolipome.

Les lésions tumorales rénales sont déterminées selon la classification de l'OMS de 2004 (Annexe 1).

4.1.2 Selon le grade de Fuhrman (ISUP 2014)

Ce système de grading a été validé pour une description morphologique des tumeurs. Il est décomposé en grade d'agressivité croissante (Annexe 2).

4.1.3 Selon pTNM

La classification TNM permet d'évaluer les caractéristiques d'un cancer selon des critères de propagation anatomique locales, régionales et métastatiques à distance (Annexe 3). Les lettres représentent les indicateurs suivants :

P : traitement chirurgical et examen anatomopathologique

T : taille et degré d'extension de la tumeur

N : nombre et emplacement des ganglions lymphatiques régionaux atteints

M : degré de propagation des métastases.

Un indicateur plus complet, intégrant le TNM et le grade de Fuhrman est également utilisé avec des statistiques sur les taux moyens de survie spécifique à 5 ans (Annexe 4).

4.2 Les principaux types

4.2.1 Carcinome à cellules rénales

Le carcinome à cellules rénales (CCR) est la tumeur rénale de l'adulte la plus fréquente (85% des tumeurs rénales). Ces lésions sont des tumeurs malignes développées aux dépens des tubules rénaux (Eble, 2004). Les 4 principaux types de CCR sont :

4.2.1.1 Carcinome rénal à cellules claires (ccRCC)

Le ccRCC est le RCC le plus commun avec une fréquence de plus de 7 cas de RCC sur 10 (Cheville *et al.*, 2003). La tumeur se développe à partir des cellules des tubules proximaux. Ces cellules présentent un cytoplasme clair sous le microscope qui provient de l'accumulation de gouttelettes de glycogène, de phospholipides et de lipides neutres tel que le diester de cholestérol. D'un point de vue macroscopique, le ccRCC se caractérise

par un aspect jaunâtre, le gène *VHL* est souvent muté ou supprimé dans ce type de RCC (Weiss et Lin, 2006).

4.2.1.2 Carcinome rénal à cellules papillaires (pRCC)

Le pRCC est le second type de RCC le plus commun, il représente un peu plus de 1 cas de RCC sur 10. Il est issu des TCD et a un aspect macroscopique beige. Il forme de petites extensions, appelées papillaires. Il est aussi appelé chromophile en raison de la couleur rosée que prennent les cellules lors de l'analyse histopathologique (Chevill *et al.*, 2003).

Il existe deux sous-types de pRCC : le type 1 est souvent associé à une mutation du proto-oncogène *MET* (Patard *et al.*, 2010) et le type 2 est plutôt associé à une mutation de la Fumarate Hydratase (Weiss et Lin, 2006).

4.2.1.3 Carcinome rénal à cellules chromophobes (chRCC)

Le chRCC représente 5 cas de RCC sur 100. Les tumeurs se développent à partir des cellules intercalaires du tube collecteur. Macroscopiquement, la tumeur a une couleur beige qui tend vers une teinte rosée. La tumeur est bien arrondie, bien limitée et compacte. D'un point de vue histologique, les cellules ont un aspect clair, comme pour le ccRCC, mais ont un cytoplasme plus grand, ce qui est un des éléments permettant de le différencier des ccRCC, la mutation du gène *BHD* est associée à ce type de RCC (Weiss et Lin, 2006).

4.2.1.4 Carcinome des tubes collecteurs de Bellini

Il représente moins de 1 % des tumeurs du rein et survient plus souvent chez l'homme dans la cinquième décennie, parfois avant et il est toujours de mauvais pronostic.

Macroscopiquement, ce sont des tumeurs plutôt hilaires, déjà de stade étendu au moment du diagnostic initial. Elles présentent une très mauvaise limitation, d'importants remaniements nécrotiques et elles infiltrent le tissu adipeux (Ouadoud, 2015).

4.2.2 Tumeurs rénales primitives fréquentes

4.2.2.1 L'oncocytome

C'est une tumeur épithéliale bénigne, elle représente 5% des tumeurs rénales de l'adulte, a un caractère asymptomatique (Raguebi, 2015).

4.2.2.2 L'angiomyolipome

C'est une tumeur mésenchymateuse bénigne, présente 2% des tumeurs rénales (Raguebi, 2015).

4.3 Evolution naturelle

Les cancers du rein se développent habituellement dans le cortex rénal, leur extension se fait ensuite :

- localement, de proche en proche par atteinte successive de la capsule rénale, de la loge graisseuse périrénale, les organes de voisinage, des calices, de la veine rénale puis de la veine cave (**extension locale**).
- par voie lymphatique (35% des cas), vers les ganglions du hile rénal homolatéral, puis controlatéral, puis à distance (**extension lymphatique**).
- par voie hématogène (25% des cas), vers le poumon, le foie, et les os, dont 10 à 15% des cas ont une atteinte controlatérale (**métastases**) (Scotté *et al.*, 2002).

5. Diagnostic

5.1. Symptômes

5.1.1. Signes généraux

- L'altération de l'état général, avec asthénie et amaigrissement ne sont pas spécifiques du cancer du rein, mais leur présence témoigne d'une tumeur agressive ou d'une forme métastatique (Raguebi, 2015).
- Fatigue, anémie, état fébrile prolongée, sueurs nocturnes, un œdème du membre inférieur, une varicocèle gauche chez l'homme ou une protéinurie : qui sont liées à une compression ou à une thrombose de la veine rénale ou la VCI.
- Des douleurs osseuses ou une fracture pathologique d'un os long, une métastase pulmonaire (Daly-Schveitzer *et al.*, 2003).

5.1.2. Troubles urologiques

Une hématurie dans 60% des cas, plus rarement par de douleurs ou une masse abdominale (Daly-Schveitzer *et al.*, 2003).

5.1.3. Syndromes paranéoplasiques

- Polyglobulie due à une sécrétion d'érythropoïétine par le parenchyme péri tumoral.
- Hypercalcémie due à des métastases osseuses ou à la sécrétion d'un peptide PTH-like.
- Une amylose ou des perturbations du bilan hépatique (Daly-Schveitzer *et al.*, 2003).

5.2. Méthodes de diagnostic

Examens complémentaires : comme **l'échographie, le scanner et l'IRM** (Daly-Schveitzer *et al.*, 2003).

6. Traitement

Le cancer du rein est le plus souvent traité par la chirurgie lorsqu'il est localisé ou localement avancé. Lorsque le cancer a formé des métastases, le traitement repose sur les médicaments de thérapies ciblées et d'immunothérapie, associées ou non à la chirurgie.

6.1 Néphrectomie

La néphrectomie est le standard de prise en charge. Elle est élargie ou partielle selon la taille, la localisation et le stade de la tumeur (Rein, 2010).

6.2 Indication thérapeutique

6.2.1 Thérapie ciblée

Actuellement, 3 familles de thérapies ciblées permettent de lutter contre le développement d'une tumeur du rein :

- **les inhibiteurs du facteur de croissance VEGF** (Vascular Endothelial Growth Factor) : en bloquant l'angiogénèse ; empêche le développement tumoral.
- **les inhibiteurs de tyrosine kinase** : médicament qui bloque les récepteurs de différents facteurs de croissance des vaisseaux sanguins.
- **les inhibiteurs de l'enzyme mTOR** : médicament qui bloque cette enzyme dont le rôle est de contrôler notamment, la multiplication des cellules (Guirein, 2013).

6.2.2 Immunothérapie

Les médicaments d'immunothérapie utilisés pour traiter le cancer du rein sont :

- **l'interféron alpha et interleukine 2**. Ce sont des cytokines, des protéines fabriquées par certains globules blancs notamment les lymphocytes impliqués dans les réactions immunitaires notamment contre les cellules cancéreuses (Guirein, 2013).

Remarque : les chimiothérapies classiquement employées pour traiter les cancers sont peu efficaces dans le cas du cancer du rein car les cellules cancéreuses rénales n'y sont pas sensibles ; de ce fait, elles ne sont pas utilisées (Guirein, 2013).

IV. Génétique

Les tumeurs sont la résultante de nombreux facteurs, d'une part les facteurs endogènes (immunité, hormones...) et d'autre part les facteurs exogènes (environnement, toxiques...). Pour l'initiation et l'évolution d'une tumeur, la cellule somatique doit subir une série d'altérations au niveau de son génome. Ces altérations peuvent survenir successivement dans le temps au cours de la vie (cancer sporadique). Parfois, certaines de ces altérations sont héritées d'un parent (tumeur héréditaire) (Saoud, 2014).

1. Les formes héréditaires

Le cancer du rein présente de rares formes héréditaires (1 à 2%), ces formes possèdent des particularités cliniques et évolutives qui nécessitent une surveillance et un conseil génétique chez les apparentés. Les syndromes héréditaires dont la plus connue est la maladie de Von Hippel-Lindau (ou maladie VHL), la sclérose tubéreuse de Bourneville, le syndrome de Birt-Hogg-Dube (Ben njima, 2012).

1.1. La maladie de Von Hippel-Lindau

La maladie de Von Hippel-Lindau est une affection héréditaire multi systémique à transmission autosomique dominante, caractérisée sur le plan clinique par une prédisposition au développement de multiples tumeurs bénignes ou malignes richement vascularisées affectant plusieurs organes du système nerveux central, de la rétine, du rein, de la médullosurrénale et du pancréas (Rocha *et al.*, 2003 ; Richard *et al.*, 2004).

On distingue deux types de la maladie VHL : le type 1 sans phéochromocytome et le type 2 avec phéochromocytome (Ben njima, 2012).

La maladie VHL est due à des mutations du gène *VHL*, gène suppresseur de tumeur, qui doit subir une 2^{ème} mutation pour que les tumeurs apparaissent. Ce gène est localisé sur le bras court du chromosome 3 en position 3p25. Les mutations du gène *VHL* peuvent être de différents types, il s'agit de grandes délétions et insertions, mutations ponctuelles (faux sens et non sens) (Soussi, 2000 ; Ben njima, 2012).

1.2. Le syndrome de carcinome papillaire héréditaire

Le syndrome de carcinome papillaire rénal héréditaire est une maladie génétique autosomique dominante à forte pénétrance dont les individus sont à risque de développer des carcinomes papillaires de type 1 multifocaux et bilatéraux (Patard *et al.*, 2013). Elle est

caractérisée par des mutations activatrices du proto-oncogène *MET* qui est localisé sur le chromosome 7 (7q31.1-34) et qui code pour un récepteur à activité tyrosine-kinase normalement activé par le facteur de croissance hépatocytaire HGF (Lubensky *et al.*, 1999).

Les tumeurs se développent après 50 ans, mais peuvent aussi être plus précoces. Une mutation faux sens au niveau du domaine tyrosine kinase de la protéine entraîne son activation constitutive (Patard *et al.*, 2013 ; Jaouen, 2015).

1.3. Le carcinome papillaire héréditaire associé à une léiomyomatose cutanée et utérine (HLRCC)

Il représente 15-18% de carcinome papillaire de type 2. Cette pathologie autosomique dominante de pénétrance incomplète (20 à 30%) provient d'une anomalie du gène *FH* de la fumarate hydratase localisé sur le chromosome 1(1q42-43), enzyme du cycle de Krebs impliquée dans les phénomènes d'oxydation dans les mitochondries. Ce gène s'étend sur 10 exons.

Les patients porteurs de mutations germinales de ce gène développent des CCR papillaires de type 2, mais aucune relation n'a été démontrée entre les mutations somatiques de ce gène et les cas sporadiques de CCR (Ratcliffe, 2007 ; Baldewijns *et al.*, 2010 ; Dormoy, 2010; Kuwada *et al.*, 2014 ; Bensalah *et al.*, 2016).

1.4. Le syndrome de Birt –Hogg-Dubé

Il s'agit d'une génodermatose autosomique dominante prédisposant notamment les patients à développer des tumeurs rénales dans 15 à 30 % des cas. Le gène *BHD* (Birt-Hogg Dubé) ou *FLCN* qui est localisé au niveau de chromosome 17 (17p11.2) code pour la folliculine, une mutation du gène entraîne la formation d'une folliculine tronquée qui ne peut plus agir comme suppresseur de tumeur (Toro *et al.*, 2008). Il semble que le gène *BHD* pourrait jouer un rôle dans l'ensemble des CCR (Dormoy, 2010 ; Bensalah *et al.*, 2016).

1.5. La sclérose tubéreuse de Bourneville

Cette maladie autosomique dominante est caractérisée par l'apparition de tumeurs bénignes, notamment dans le rein (Mak et Yeung, 2004). Elle est due à l'atteinte des gènes *TSC1* (Tuberous Sclerosis Complex) (localisé sur le chromosome 9 : 9q34) ou *TSC2* (sur le chromosome 16 : 16p13) codant respectivement pour l'hamartine et la tubérine qui régulent la prolifération cellulaire et la voie mTOR (Saoud, 2014). Ce sont des gènes

suppresseurs de tumeurs (Méjean *et al.*, 2004). Les mutations peuvent être germinales (Grandes délétions génomiques dans <10% des cas; des mutations ponctuelles largement dispersées) ou somatiques (perte d'hétérozygotie dans 2/3 des angiomyolipomes rénaux ; mutations somatiques dans les angiomyolipomes et lymphangiomeiomyomatose pulmonaire (LAM) des cellules atteintes de LAM sporadique) (Astrinidis et Petri Henske, 2001).

2. Les formes sporadiques

La majorité des tumeurs du rein sont d'origine sporadique

- **Le carcinome rénal à cellules claires** : la mutation du gène *VHL* et la perte d'hétérozygotie se retrouvent dans un pourcentage élevé de tumeurs de patients de ccRCC non familiaux (Gnarra, 1994).
- **Les carcinomes papillaires**
- **Les carcinomes à cellules chromophobes**
- **Le carcinome de type canal collecteur ou de Bellini** : aucun profil génétique particulier n'a pu être établi (Dormoy, 2010).
- **Les carcinomes non classés** : représentent environ 5% des carcinomes ; il ya notamment 3 dénominations qui ont été décrites :
 - le CCR multiloculaire à cellules claires
 - le carcinome rénal mucineux tubuleux à cellules fusiformes
 - le carcinome rénal associé aux translocations Xp11.2/*TFE* (gène de fusion) (Dormoy, 2010).

3. Les anomalies chromosomiques

3.1 Carcinome à translocation *TFE3*

Les anomalies chromosomiques sont retrouvées dans les carcinomes à cellules rénales, ces anomalies cytogénétiques spécifiques impliquent toujours le locus du gène *TFE* situé en Xp11.2 mises en évidence par FISH.

Les 2 translocations les plus fréquentes sont la t (X;1) (p11.2 ; q21) formant le gène de fusion *PRCC-TFE3* (Papillary Renal Cell Carci-noma) et la t (X ;17) (p11.2;q25) aboutissant au gène de fusion *ASPL-TFE3* (Camilo et petit, 2016).

3.2 Carcinome mucineux tubulaire et fusiforme de bas grade

Cette tumeur touche 4 fois les femmes que les hommes, sans tranche d'âge particulière spécifique, découverte fortuitement à l'imagerie. En cytogénétique des pertes et des gains de chromosomes variés ont été décrits. La tumeur est considérée comme un carcinome de bas grade et pourrait être une variante du carcinome papillaire (Eble, 2004).

4. Les voies moléculaires dans le cancer du rein

Trois grandes voies moléculaires se dégagent de l'étude des syndromes héréditaires comportant différents types de cancer du rein :

Les voies de réponse à l'hypoxie seraient dérégulées de façon prépondérante dans les CCR à cellules claires et papillaires de type 2, les formes histologiques les plus agressives.

La voie de signalisation HGF/MET est impliquée dans les CCR papillaires de type 1 et serait altérée par la perte de fonction de *VHL* dans les CCR à cellules claires.

Enfin **la voie mTOR** est impliquée dans de nombreux cancers et son importance reste à préciser dans la tumorigenèse rénale. Une autre voie peut être ajoutée à ces 3 voies et qui est **la voie de l'EGF et des MAPKinases** (Culine et Patard, 2007 ; Lmezguidi, 2013).

4.1. Les voies de réponse à l'hypoxie et le rôle de système VHL/HIF

L'hypoxie est définie comme étant une diminution de la tension tissulaire en oxygène. Elle peut survenir dans des conditions physiologiques (développement embryologique, adaptation à l'altitude) ou pathologiques (pathologie ischémique, cancer) (Semenza, 2000).

Le produit du gène *VHL* est un régulateur du facteur de transcription HIF (Hypoxia-inducible factor) (Edeline *et al.*, 2010).

HIF est un facteur de transcription hétérodimérique de la famille des basic Helix-Loop-Helix (bHLH), composé de deux sous unités, α et β . HIF β (codé par deux gènes distincts) est exprimé de manière ubiquitaire, non régulée, au contraire des différentes sous unités α .

Il existe trois sous unités α (HIF-1 α , HIF-2 α et HIF-3 α), dont la demi vie est régulée par la concentration en oxygène (Germain, 2011). HIF induit l'expression de nombreux gènes pro-angiogéniques (Fong, 2009).

En présence d'oxygène (normoxie): HIF α (codée par le gène *HIF1 α* situé en 14q23.2 ou *HIF2 α* , 2p21 p16) est hydroxylée puis forme un complexe à activité ubiquitine ligase E3, entraînant une ubiquitination de HIF α qui est détruit par les protéasomes cellulaires (Dormoy, 2010; Edeline *et al.*, 2010).

En condition hypoxique : aussi bien qu'en cas d'inactivation de *VHL*, le complexe pVHL ne dégrade pas HIF- α qui s'hétérodimérise avec HIF β (1q21) au sein du noyau et joue alors le rôle de facteur de transcription de 80 gènes et leurs fonctions sont variées (Figure 3) (Edeline *et al.*, 2010) :

- l'angiogenèse (Vascular Endothelial Growth Factor: VEGF)
- le transport du glucose (GLUT1, GLUT3)
- la glycolyse (6-phosphofructose 2-kinase)
- le contrôle du pH (famille des anhydrases carboniques)
- la prolifération épithéliale (Platelet Derived Growth Factor: PDGF, Transforming Growth Factor- α : TGF- α)
- l'érythropoïétine (EPO)
- l'apoptose (Bid, Bax, Bad) (Zimmer *et al.*, 2004).

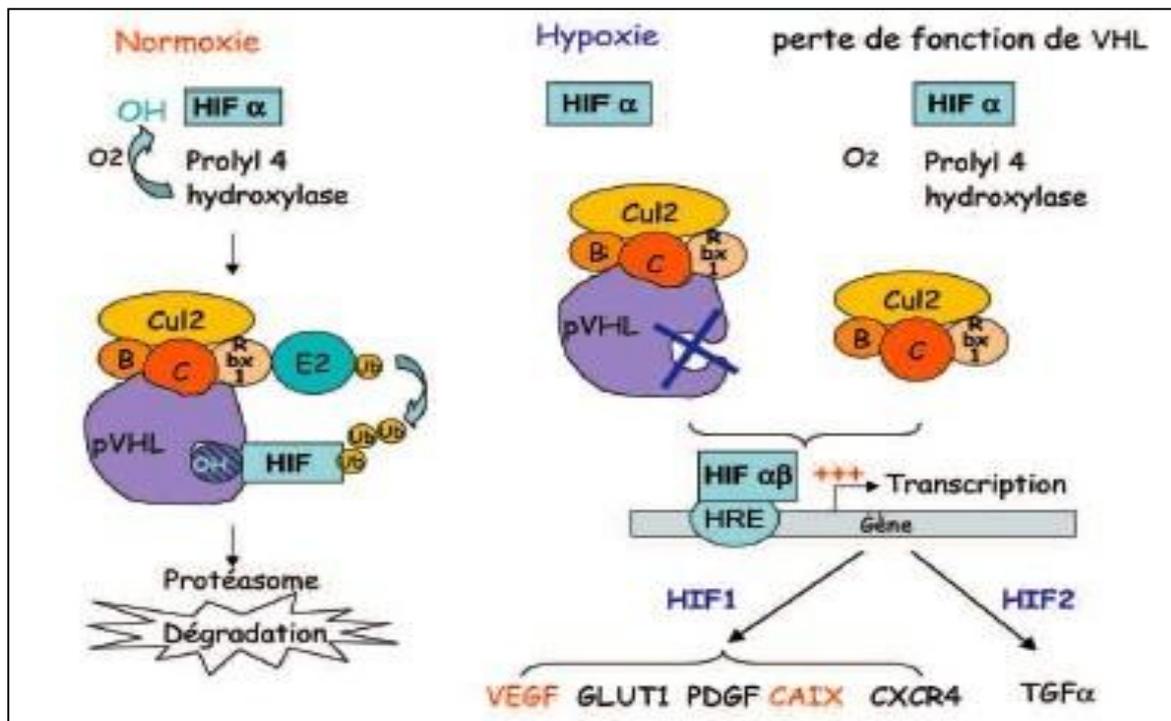


Figure 3 : La voie VHL/HIF et les gènes cibles (Fergelot *et al.*, 2005).

4.2. La voie de signalisation HGF/MET

- L'HGF/SF (l'Hepatocyte Growth Factor/Scatter Factor) est un facteur de croissance, composé d'une sous-unité α de 69 KDa formée de 5 domaines : un domaine N-terminal (N) suivi de 4 copies d'un domaine kringle (K1-K4) ; et d'une sous-unité β de 34 KDa formée d'un domaine C-terminal (SP) qui appartient à un domaine catalytique de sérine protéinase (Nakamura, 1991).

L'HGF/SF est une glycoprotéine sécrétée principalement par les cellules mésenchymateuse sous une forme de précurseur inactif à une chaîne scHGF (sc : single chaîne), pour obtenir la forme HGF/SF biologiquement actif, le sc/HGF va subir un clivage protéolytique (Gak *et al.*, 1992 ; Naka *et al.*, 1992; Naldini *et al.*, 1992).

-Le gène *c-MET* code un récepteur à activité catalytique tyrosine kinase (Park *et al.*, 1987). Après traduction, le précurseur de la protéine MET subit une maturation où le domaine extracellulaire est glycosylé puis clivé en 2 sous-unités α et β de 50 et 140 KDa reliées par des ponts disulfures ; la sous-unité α est exclusivement extracellulaire alors que la sous-unité β est composée d'une région extracellulaire, domaine d'ancrage transmembranaire et une région intracellulaire d'activité tyrosine kinase (Deheuninck, 2006).

-HGF/SF est le ligand du récepteur tyrosine kinase MET, qui favorise les capacités de survie, prolifération, motilité et morphogénèse des cellules épithéliales. La signalisation de l'HGF/SF-MET est essentielle au cours du développement et sa dérégulation peut conduire au développement tumoral et à la progression métastatique. Un lien causatif entre MET et le cancer est établi depuis l'identification de mutations activatrices de MET dans le cancer papillaire rénal héréditaire (Deheuninck, 2006).

L'activation du récepteur MET par L'HGF/SF est associée à la survie cellulaire, en réponse à des stress variés. Cependant, en absence de HGF/SF, ces mêmes stress peuvent convertir le récepteur MET en facteur pro-apoptotique (Deheuninck, 2006).

4.3. La voie PI3K/AKT/mTOR

La voie PI3K/AKT/mTOR apparaît incontournable dans la biologie du cancer du rein, elle se situe en aval des récepteurs aux facteurs de croissance, récepteurs pour la plupart à activité tyrosine kinase, en parallèle avec la voie des MAPKinases.

Dans la voie PI3K/Akt/mTOR, le récepteur active la PI3K (Phosphoinositide 3-Kinase), qui active à son tour Akt (Protéine Kinase B). Ce dernier régule de nombreux substrats, dont **mTOR** (Mamalian Target of Rapamycin) et inactive les inhibiteurs de mTOR par phosphorylation. Il existe un système de régulation par l'intermédiaire de *PTEN* (Phosphatase and tensin homolog) (16q23) qui est un inhibiteur d'Akt, en contrant l'action de la PI3K.

mTOR intervient dans plusieurs niveaux de la carcinogénèse du cRCC par :

- son activation va conduire à l'augmentation de la traduction des ARNm de HIF α donc, agir sur la néoangiogénèse tumorale indépendamment de VHL.

- agissant très en aval de la chaîne de transduction, en favorisant fortement le métabolisme tumoral par augmentation de la synthèse protéique, qui va se traduire par une surexpression des molécules impliquées dans la carcinogénèse (telles que les molécules favorisant l'entrée en cycle, ou les molécules antiapoptotiques).

Dans le cadre du cancer du rein, l'action de mTOR va se dérouler au niveau de deux types cellulaires :

- d'une part au niveau de la cellule tumorale elle-même, où mTOR va agir à différents niveaux du métabolisme tumoral
- d'autre part, elle agit également au niveau de la cellule endothéliale, en aval de la signalisation par le VEGFR, favorisant donc son action proangiogénique (Vivanco, 2002 ; Sabatini, 2006).

4.4. Les voies de l'EGF et des MAPKinases

Le récepteur à l'EGF (**EGFR**) apparaît fréquemment surexprimé dans le cancer du rein (Everitt *et al.*, 1997). Un de ses ligands est le **TGF α** , dont l'expression est notamment sous la dépendance de la voie VHL/HIF (Han et Loh, 2012).

5. Le polymorphisme de cytochrome P450 1A1

5.1 Le cytochrome P450

Les cytochromes P450 (cyto : vésicule microsomiale, P : pigment, 450 : longueur d'onde (CYP)) constituent une superfamille d'enzymes codées par 57 familles de gènes dont 12 familles et 22 sous-familles ont été décrites chez l'homme, et environ 15 dont leurs rôles physiologiques, leurs substrats et leurs structures, sont encore mal connus d'où le nom de « **p450 orphelins** » (George *et al.*, 1995 ; Lamott, 2002; Ducassou, 2012).

Les protéines de cytochrome P450 sont classées en familles et sous-familles, selon leurs similarités dans les séquences d'acides aminés, mais chacun des membres de ces familles présente une spécificité de substrat, une activité catalytique et des caractéristiques immunologiques distinctes (Lytton *et al.*, 1999).

Ces enzymes sont membranaires, certaines ancrées aux membranes du réticulum endoplasmique, d'autres aux membranes des mitochondries (Ducassou, 2012). Elles jouent un rôle majeur dans le métabolisme des xénobiotiques, dont les médicaments, et ont un rôle primordial dans la protection de l'organisme contre les agressions extérieures (polluants, pesticides...) (Guéguen *et al.*, 2006).

5.2 Nomenclature

Les cytochromes sont classés en fonction de leur degré de similitude dans leur séquence primaire en famille (Les CYP ayant un degré de similitude supérieur à 40%), et en sous-famille (un degré de similitude supérieur à 55%), enfin, les isoformes (CYP1 : famille ; A : sous famille ; 1 : isoforme) (Nguyen, 2007).

5.3 Le polymorphisme de cytochrome P450 1A1

5.3.1 Caractérisation génétique

Le séquençage du génome humain a montré qu'il existe 57 gènes codant pour des cytochromes.

Le gène *CYP1A1* est situé sur le chromosome 15q22-q24. Il contient 7 exons et 6 introns. Il s'étale sur 5,810 paires de base. Il est localisé à 25 Kb du *CYP 1A2*.

Ce gène code pour une protéine, une monooxygénase impliquée dans le métabolisme xénobiotique et dans celui du cholestérol, des stéroïdes et d'autres lipides. Cette protéine est localisée dans le réticulum endoplasmique (Masson, 2005).

5.3.2 Les mutations du CYP1A1

Deux polymorphismes non synonymes fonctionnels dans le gène *CYP1A1* qui ont été les plus étudiés: une transition de thymine (T) vers la cytosine (C) dans la région flanquante 3' non codante (m1) et une substitution d'adénine (A) en guanine (G) au codon 462 de l'exon 7 (m2). Ces variations pourraient modifier l'expression et la fonction de CYP1A1, influençant potentiellement l'équilibre entre l'activation métabolique et la désintoxication des substances toxiques, et conduisant finalement à une susceptibilité individuelle au cancer (Figure 4) (Sugawara *et al.*, 2003 ; Zhuo *et al.*, 2012).

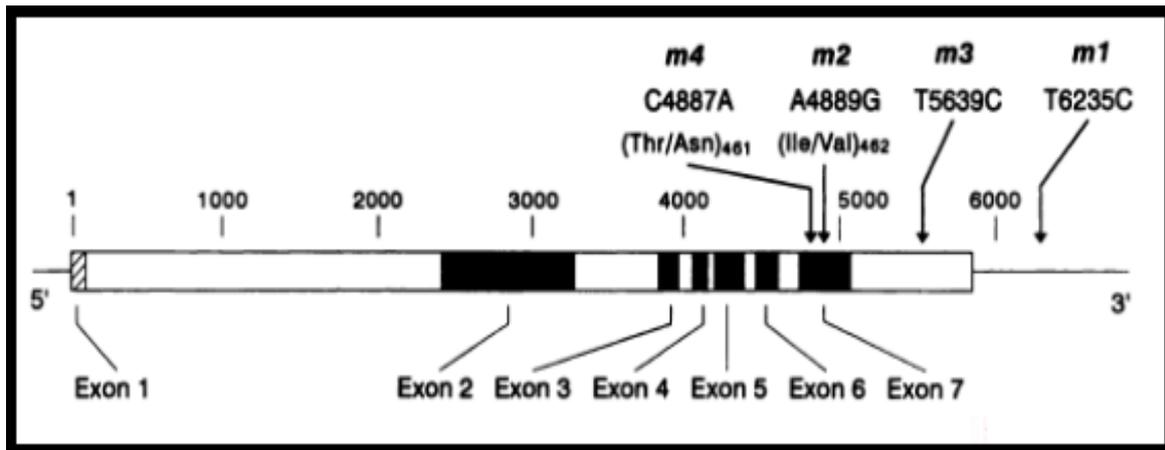


Figure 4: Localisation schématique des mutations m1, m2, m3 et m4 sur le gène *CYP1A1*. Les numéros attribués aux mutations correspondent à leur découverte chronologique (Bartsch, 2000).

5.3.3 Répartition tissulaire

Le CYP1A1 est présent dans les poumons, la peau, le colon, les lymphocytes, les monocytes et macrophages, dans les tissus cardiovasculaires, notamment les cellules musculaires lisses des tissus cardiaques et artériels, et les cellules endothéliales (forme extra-hépatique principale) (Farin *et al.*, 1994; Sadek et Hoffmann, 1994 ; Mooney *et al.*, 1997; Willey *et al.*, 1997 ; Fontana *et al.*, 1999; Hodges *et al.*, 2000 ; Thum et Borlak, 2000 ; Le Broc, 2011).

5.3.4 Caractérisation biologique

CYP1A1 est un membre de la famille CYP1 et participe au métabolisme d'un grand nombre de xénobiotiques, ainsi que de substrats endogènes (Mcmanus, 1990). Le CYP1A1 joue un rôle clé dans le métabolisme de phase I des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et dans le métabolisme des œstrogènes (Nebert et Dalton, 2006).

5.3.5 Le polymorphisme CYP1A1 et susceptibilité au RCC

Il apparait actuellement clair que le polymorphisme des cytochromes influence la susceptibilité individuelle aux cancers.

La biotransformation normale des carcinogènes chimiques aboutissent à la formation d'un métabolite facile à éliminer. Parfois ces métabolites deviennent fonctionnalisés, réactifs et se fixent de façon covalente et stable au niveau d'ADN en formant des adduits (addition de

produit). S'ils sont insuffisamment éliminés peuvent s'avérer mutagènes en premier temps puis cancérogènes (Kellil-Bendjemana, 2008).

Les études concernant le gène *CYP1A1* rapportent deux polymorphismes communs dans sa séquence nucléotidique : CYP1A1m1 et CYP1A1m2 (Smith *et al.*, 1998 ; Kawajiri, 1999).

L'association de ces deux polymorphismes avec le cancer à été bien documenté mais il existe peu d'études sur l'association entre le *CYP1A1* et les RCC jusqu'à maintenant.

*Patients et
méthodes*

1. Patients et témoins

Notre étude pratique se subdivise en deux : une étude rétrospective (de Janvier 2016 à Avril 2017) réalisée au niveau de l'établissement hospitalier d'uro-néphrologie Daksi de Constantine et qui a duré 2 mois, et une étude moléculaire au niveau du laboratoire de biologie et génétique moléculaire du CHU Ibn Badis Constantine qui a duré 1 mois.

1.1 Recrutement des sujets

Notre étude rétrospective a porté sur 49 cas recrutés au niveau du service d'anatomo-pathologie d'EHS Daksi, tous originaires de l'Est algérien et présentant des carcinomes à cellules rénales de différents types, stades et grades. Ces patients étaient soit admis au service d'urologie de la clinique rénale pour réaliser une chirurgie, ou venaient pour leurs contrôles mensuels.

Notre étude moléculaire a porté sur deux populations :

- l'une est de 20 témoins volontaires, tout sexe confondu, tous originaires de l'Est algérien.
- l'autre est de 10 patients et présentent des carcinomes à cellules rénales. Ces patients étaient soit admis au service d'urologie de la clinique rénale pour réaliser une chirurgie, ou venaient pour leurs contrôles mensuels.

1.1.1 Critères d'inclusion/exclusion

1.1.1.1 Critères d'inclusion

- **Patients :** individus présentant un carcinome à cellules rénales prouvé histologiquement.
- **Témoins :** sujets présumés sains.

1.1.1.2 Critères d'exclusion

- **Patients :** sujets présentant d'autres cancers associés, ou présence d'une métastase dont l'origine est ignorée, ainsi que sujets transplantés.
- **Témoins:** sujets présentant des problèmes sanitaires ou un cancer rénal.

1.2 Collecte des échantillons et prélèvement sanguin

Le prélèvement du sang veineux (4 à 8 ml) au pli du coude est réalisé sous des conditions stériles et est recueilli dans des tubes vacutainer contenant l'anticoagulant EDTA. Ces

prélèvements ont été étiquetés (le nom et le prénom des patients, le type histologique et la date du prélèvement) et numérotés suivant un code précis.

Pour extraire une bonne quantité d'ADN, le prélèvement sanguin de chaque patient est réalisé dans deux tubes de 5ml, conservés à -20°C pendant 10 jours au maximum.

1.3 Questionnaire

Un questionnaire a été établi 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 mené par nous même pour les sujets que nous avons recrutés (Annexe 5).

2. Méthodes employées

2.1 Etude anatomo-pathologique

L'anatomie pathologique est « l'étude des lésions macroscopiques, histologiques, ultra structurales et bio-moléculaires apportées par la maladie aux organes, aux tissus et aux cellules. ».

2.1.1 Protocole : l'anatomie pathologique est une succession d'étapes interdépendantes l'une de l'autre :

2.1.1.1 Prélèvement : sont des biopsies, biopsies exérèses, pièces opératoires, ou autopsies.

2.1.1.2 Fixation : essentielle et primordiale, c'est un moyen technique (physique ou, surtout chimique) qui permet de garder les structures tissulaires à étudier dans un état aussi proche que possible de l'état vivant. Elle est faite par **le formol** à 10% tamponné qui est le plus utilisé, la durée de fixation dépend de la taille du prélèvement (2 à 5 heures pour une biopsie et 48h pour une pièce opératoire).

Avant la fixation, les organes creux doivent être ouverts et vidés, les organes pleins volumineux (rein, foie, rate) en tranches.

2.1.1.3 Macroscopie : après fixation de 12 à 24H, la prise en charge d'une néphrectomie élargie, dix à quinze blocs sont habituellement prélevés dans l'ordre suivant :

- limite urétérale distale (1 bloc)
- surrénale : (1 bloc si saine, 2 ou plus si tumorale)

- sinus (hile vasculaire): (2 ou 3 blocs) contenant l'artère et la veine rénale et éventuellement un thrombus macroscopique de la veine rénale
- tumeur et ses rapports (1 bloc par cm de tumeur)/ Tumeur + hile rénal / Tumeur + capsule rénale / Tumeur + graisse périrénale / Tumeur + cavités pyélocalicielles
- ganglions du hile
- parenchyme rénal non tumoral : rein normal péri tumoral (1bloc) et rein normal à distance (1bloc).
- toute lésion suspecte parenchymateuse ou des voies urinaires.

La mise en place des prélèvements dans les cassettes dans un bocal contient du formol en attendant d'être traités à l'aide de l'automate de traitement des tissus.

2.1.1.4 Traitement des tissus : il est fait d'une manière automatique à l'aide d'un automate de traitement des tissus, celui-ci comporte 12 bacs :

- 7 d'alcool (éthanol) pour déshydrater les tissus.
- 3 de xylène pour éliminer les traces d'alcool (désalcoolisation) et clarifier les tissus.
- 2 de paraffine pour occuper la place de l'eau retirée des cellules.

Il comporte, également, un programmeur qui permet de faire passer les paniers remplis de cassettes d'un bac à l'autre d'une manière automatique, le cycle de traitement standard est de 24 heures.

2.1.1.5 Inclusion dans la paraffine : Il s'agit de faire pénétrer à l'échelle cellulaire une substance homogène et solidifiable appelée paraffine ou de confectionner des blocs de paraffine, dans lesquels sont inclus les prélèvements à étudier, à l'aide de moules.

2.1.1.6 Coupe au microtome : les blocs sont refroidis, pour conférer une rigidité au prélèvement permettant de les couper au microtome. La coupe est de 4 μ m étalée sur lame.

2.1.1.7 Étalement : un ruban de paraffine est étalé délicatement à l'aide de deux pointes sur une platine chauffée à 40°C, ensuite les prélèvements sont étalés sur des lames.

2.1.1.8 Coloration standard : la coloration est faite d'une façon manuelle selon le protocole suivant :

- déparaffinage pour la réhydratation de la coupe afin de la colorer
- rinçage (3 bains de xylènes)
- réhydratation (alcool 100°, 95°, 70°)
- coloration dans l'hématoxyline
- rinçage à l'eau courante
- coloration dans une solution aqueuse d'Eosine
- rinçage rapide à l'eau courante
- déshydratation (alcool à 70° puis 95°, alcool absolu 100°)
- rinçage (3 bains de xylènes).

2.1.1.9 Montage : le montage consiste à protéger le prélèvement étalé sur la lame en collant une lamelle à l'aide d'une résine. Le prélèvement est, ainsi, protégé contre les traumatismes et le dessèchement.

2.1.1.10 Lecture : elle se fait à l'aide du microscope. C'est l'étape de la rédaction du compte- rendu descriptif avec le diagnostic. La démarche de lecture des lames repose sur les critères suivants :

- type histologique selon l'OMS
- taille de la tumeur (selon l'étude macroscopique)
- grade nucléaire de Fuhrman (ISUP 2014)
- stade pTNM
- remaniements hémorragique et nécrotique (embole vasculaire sanguins et lymphatique)
- envahissement de la limite exérèse
- envahissement de la graisse et la capsule
- envahissement des vaisseaux de hile.

2.2 Extraction d'ADN

2.2.1 Principe

La séparation des leucocytes du sang total est réalisée par lyse hypotonique suivie par un traitement à l'aide d'un détergent (SDS) après par la protéinase K. L'ADN ainsi extrait est libéré dans le milieu et les protéines sont digérées et éliminées par précipitation au NaCl. A

l'aide d'une précipitation avec l'éthanol, la pelote d'ADN est formée dans le surnageant (Annexe 6).

2.2.2. Dosage et détermination de la pureté de l'ADN

La concentration de l'ADN est estimée par spectrophotométrie à 260 nm ; celle-ci peut être faussée en cas de contamination de l'ADN par les protéines et l'éthanol restants. Une mesure de la densité optique (DO) ou de l'absorbance de l'ADN à 260 nm et à 280 nm est effectuée, car les protéines absorbent à 280 nm, le phénol à 270 nm et les bases puriques et pyrimidiques fortement dans l'ultraviolet à 260 nm.

La pureté de l'ADN extrait est déterminée en calculant le rapport $R = DO\ 260\text{ nm} / DO\ 280\text{ nm}$. Si :

- $1,6 < R < 2$: l'ADN est pur
- $R < 1,6$: l'ADN est contaminé par les protéines,
- $R > 2$: l'ADN est contaminé par des ARN.

La pureté de l'ADN est essentielle pour une action efficace des enzymes de restriction utilisées par la suite. Dans le cas où l'ADN est contaminé, ce dernier ne laisserait pas aboutir à un bon résultat dans les étapes suivantes de son analyse par PCR. Il est donc indispensable de procéder par la réextraction de la pelote de l'ADN afin d'obtenir la pureté souhaitée. Les ADN purs sont conservés à 4 °C jusqu'à utilisation.

2.3 Géotypage du polymorphisme T3801C du *CYP1A1*

Le géotypage du variant allélique 3801T>C du gène *CYP1A1* a été réalisé par une PCR/RFLP (Polymerase Chain Reaction / Restriction Fragment Length Polymorphism) en utilisant l'enzyme de restriction *MspI* (*Moraxella species I*).

Plusieurs étapes successives sont nécessaires afin d'obtenir le profil de la digestion :

- PCR et contrôle de PCR sur gel d'agarose à 2%,
- digestion du produit de PCR par l'enzyme de restriction *MspI*,
- séparation des produits de digestion par migration électrophorétique sur gel d'agarose à 3%,
- visualisation des produits de digestion par trans-illumination sous UV.

2.3.1 PCR

La PCR est un outil fondamental de la biologie moléculaire. Elle permet à partir d'un fragment d'ADN, d'obtenir un grand nombre (plusieurs millions) de copies identiques de ce même fragment. Cette réaction est réalisée in vitro (Mullis *et al.*, 1986).

2.3.1.1 Dilution de l'ADN

Pour procéder à la PCR, les ADN fortement concentrés, doivent être dilués comme suit :

- mettre 10µl d'ADN concentré dans chaque tube Eppendorf,
- rajouter 30µl d'eau distillée.

2.3.1.2 Préparation du milieu réactionnel (mix)

Ce milieu contient tous les éléments nécessaires pour le déroulement de la PCR, la quantité est multipliée par le nombre de tubes voulus + un tube témoin négatif (uniquement le mélange sans ADN) et un tube témoin positif (avec un ADN amplifié précédemment) (Tableau 3).

Tableau 3 : Composants du mélange réactionnel de PCR pour l'amplification du variant allélique 3801T>C du *CYP11A1*

| Réactifs | Volumes nécessaires pour un échantillon (20µl) |
|------------------------------|--|
| H2O | 8,04 |
| MgCl2 à 1,5 final (50mM) | 0,6 |
| Amorce sens (100 ng/µl) | 2 |
| Amorce anti-sens (100 ng/µl) | 2 |
| Tampon 10X | 2 |
| Taq DNA 5U/µl | 0,16 |
| dNTP 0,2 final | 3,2 |
| DNA 20 à 50 ng/µl | 2 |

Les séquences d'amorces du gène *CYP11A1* utilisées sont :

- les amorces sens (oligo F) : 5'-GGCTGAGCAATCTGACCCTA-3'
- les amorces anti- sens (oligo R) : 5'-TAGGAGTCTTGTCTCATGCCT-3'

Pour chaque individu, 2 μ l d'ADN dilué sont mélangés à 18 μ l du mix dans un tube à PCR.

2.3.1.3 Programmation des cycles PCR

Les tubes de PCR préparés sont posés dans le thermocycleur programmé au préalable. Les conditions pour le déroulement des cycles d'amplification par PCR sont présentées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 4 : La programmation des cycles de la PCR

| Nombres de cycles | Etape | Température (°C) | Durée |
|--------------------------|-----------------------|-------------------------|--------------|
| 1 | Dénaturation initiale | 94 | 4 min |
| 37 | Dénaturation | 94 | 30 sec |
| | Hybridation | 61 | 30 sec |
| | Elongation | 72 | 30 sec |

2.3.1.4 Contrôle de la PCR

La qualité des produits de PCR obtenus est contrôlée par une électrophorèse. Cette méthode permet la séparation de particules chargées sous l'action d'un champ électrique uniforme. La migration d'une molécule d'ADN dépend de sa taille et de la concentration du gel d'agarose, mais le voltage et la force ionique du tampon interviennent également.

Dans notre étude, le gel d'agarose à 2% (2g d'agarose+ 100 ml de TBE (à 1X) dans lequel a été incorporé 10 μ l de l'intercalant BET. Ce dernier se fixe entre les bases nucléiques, rendant l'ADN fluorescent sous UV pour visualiser les bandes résultantes.

Dans chaque puits du gel et du côté cathode (-), un mélange de 7 μ l du produit d'amplification et 3 μ l du marqueur de mobilité BBP est déposé (pour suivre le front de migration) en réservant 2 puits, un pour le dépôt du marqueur de taille (pour le contrôle de taille des fragments amplifiés) et le deuxième pour le dépôt du blanc (témoin négatif). Ce dernier, sert à détecter si une éventuelle contamination de l'ADN est survenue au cours de la PCR.

Après migration des fragments sur le gel et exposition de ce dernier sous UV, nous avons pu visualiser les fragments amplifiés sous forme de bandes fluorescentes (Figure 7).

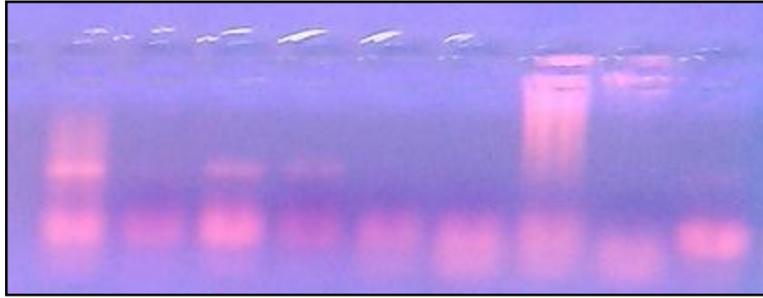


Figure 7 : Le profil électro-phorétique de la PCR du variant T3801C du *CYP1A1*

2.3.1.5 Digestion des produits de PCR par l'endonucléase de restriction *MspI*

Pour le polymorphisme T3801C du gène *CYP1A1*, nous avons utilisé comme enzyme de restriction la *MspI*. Le site de reconnaissance de l'enzyme *MspI* est:



Dans notre étude, 10µl d'ADN sont mélangés à 0,5µl d'enzyme de restriction *MspI*. L'ensemble, est ensuite incubé à 37°C pendant une nuit.

La mutation T3801C du *CYP1A1* crée un site de reconnaissance pour l'enzyme de restriction *MspI*. L'action de clivage de cette enzyme est détectée par une variation du nombre et de la longueur des fragments de restriction obtenus après une digestion enzymatique.

2.4 Contrôle de la digestion

La migration et la visualisation des fragments de restriction obtenus ont été effectuées dans les mêmes conditions que celles des produits PCR. Cependant, la petite taille de ces fragments, a nécessité la préparation d'un gel d'agarose plus résolutif à 3 % (3g d'agarose avec 100ml de TBE à 1X).

Dans chaque puits du gel, 10µl du produit digéré et 3µl de BBP sont déposés. La migration s'effectue sous un courant de 100 volts pendant 45min. Les fragments résultants sont ensuite visualisés sous UV.

3. Etude statistique

Les résultats obtenus sont exprimés par la moyenne pour les variables quantitatives en utilisant l'Excel. Un test du χ^2 a été effectué pour la comparaison des échantillons en utilisant le logiciel Epi-Info, version 6.0. Les valeurs de probabilité (p) inférieures à 0,05 ont été considérées comme statistiquement significatives.

Résultats et discussions

1. Caractères démographiques

1.1. Répartition des patients selon le sexe

Parmi les 49 dossiers traités, 19 étaient pour des femmes, et 30 dossiers étaient pour des hommes. La répartition des patients selon le sexe est établie ci-dessous (Figure 6).

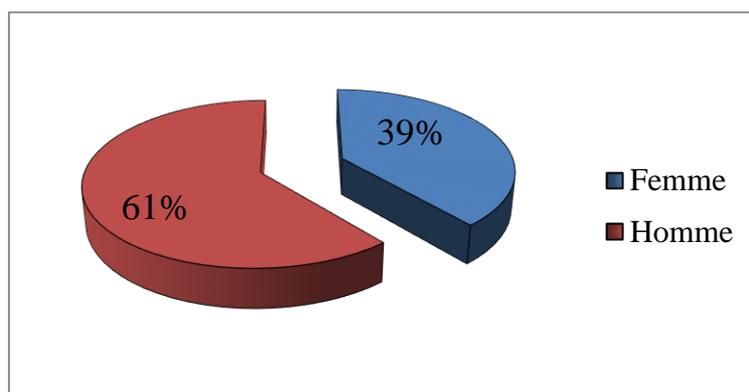


Figure 6 : Répartition des patients selon le sexe.

Nous avons noté une large prédominance masculine avec une fréquence de 61% (30/49) contre 39% (19/49) pour les femmes, avec un sexe ratio de 1,57. Ceci concorde avec différentes études publiées précédemment où l'incidence est estimée à 12,2 pour 100000 hommes et 5,7 pour 100000 femmes, de même avec des résultats qui ont rapporté que le cancer du rein est deux fois plus fréquent chez l'homme que chez la femme avec un sexe ratio de 2/1 (Agouzal, 2009).

Nos résultats sont en accord avec les études antérieures réalisées par Benadiba en 2013 qui relève la prédominance masculine. Une autre étude algérienne a établi un rapport de 2,5 entre hommes et femmes (Yousfi et al., 2014). Bien que notre enquête rapporte une large prédominance dans le sexe masculin mais cela devrait être complété par une cohorte plus grande.

1.2. Répartition des patients selon l'âge

L'âge de nos patients varie entre 25 et 88 ans, avec une moyenne d'âge de 54,26. Notre échantillon est subdivisé selon des tranches d'âge de 14 ans (Tableau 5).

L'âge moyen des femmes dans notre série est de 54,42 ans ; alors que celui des hommes est de 51,73 ans.

Tableau 5 : Répartition des patients selon les tranches d'âge.

| Tranches d'âges | Fréquence | Pourcentage % |
|------------------|-----------|---------------|
| [22 – 35] | 5 | 10,20 |
| [36 – 49] | 11 | 22,45 |
| [50 – 63] | 21 | 42,86 |
| [64 – 77] | 10 | 20,41 |
| [78 – 91] | 2 | 4,08 |
| Total | 49 | 100 |

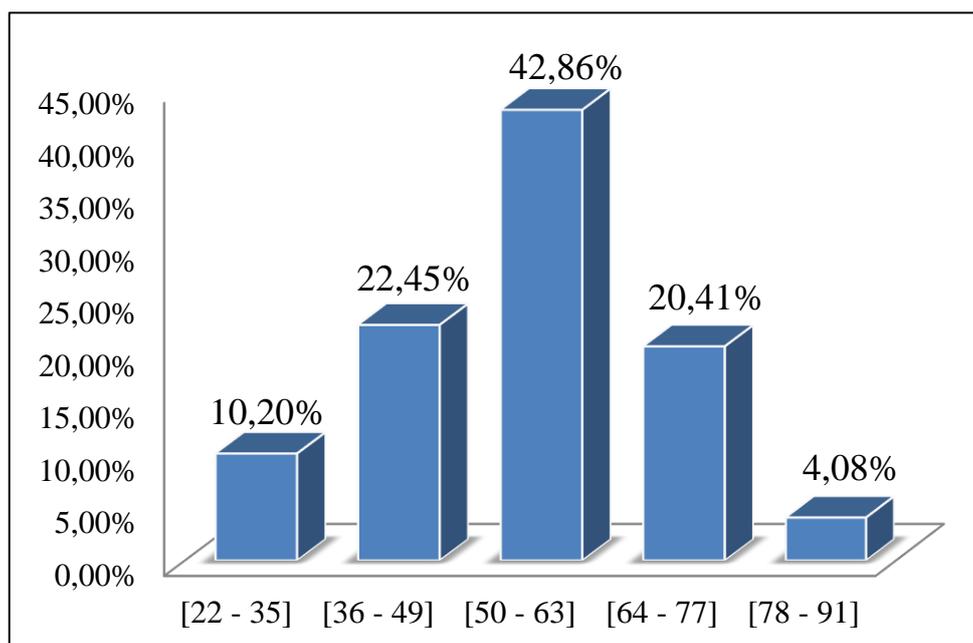


Figure 7 : Répartition des patients selon l'âge

Selon la figure 7 et le tableau 5, la tranche d'âge de 50 à 63 ans a été la plus représentée avec un pourcentage de 42,86%. Cette répartition nous permet de suggérer que l'atteinte par le cancer du rein augmente avec l'âge et devient significative à partir de l'âge 50 ans et que ce risque diminue à partir de l'âge de 78 ans. Cependant il faut noter que le cancer du rein peut se voir à tout âge.

2. Étude histologique

2.1. Répartition des patients selon le type histologique

La répartition des patients selon le type histologique est établie ci-dessous (Figure 8).

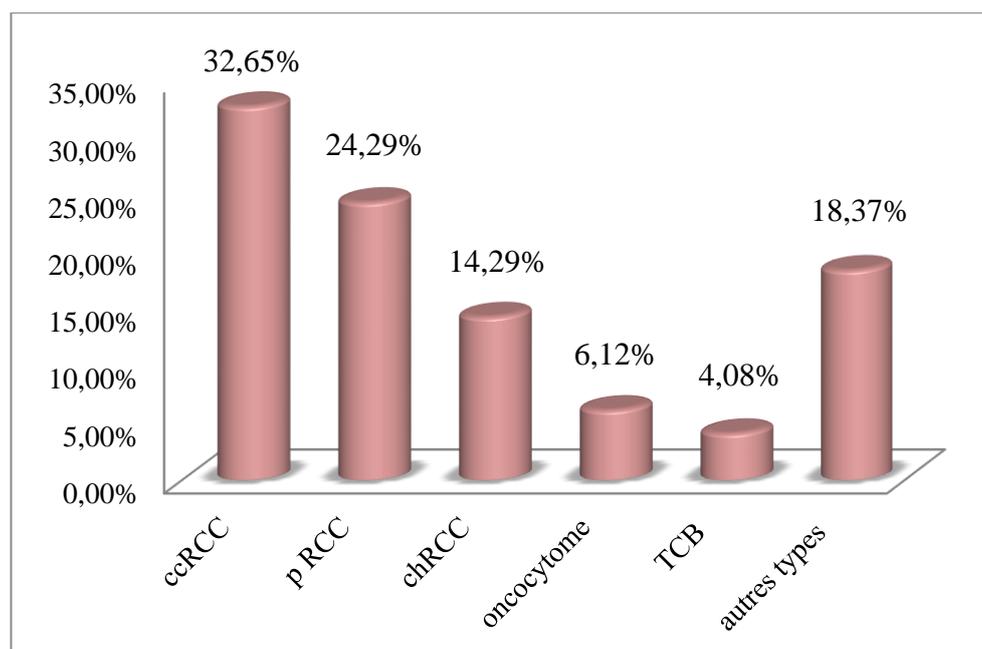


Figure 8 : Répartition des patients selon le type histologique.

ccCCR : carcinome à cellules rénales claires ; **pCCR** : carcinome tubulo-papillaire ; **chCCR** : carcinomes à cellules rénales chromophobes ; **TCB** : carcinome de tube collecteur de Bellini

Tous les patients étudiés étaient atteints d'un CCR, 16 individus parmi nos patients ont un ccCCR représentant une fréquence de 32,65%, c'est le type histologique le plus fréquemment observé, ces données concordent avec les résultats de Cheville et al (2003) qui ont rapporté que ce type est le plus commun avec une fréquence de plus de 70% (7 cas de CCR sur 10).

Pour les pCCR, 12 patients sont atteints par ce type de tumeur soit une fréquence de 24,49%, ce chiffre montre que ce dernier est le deuxième type le plus fréquent après le ccCCR. Ensuite, les chCCR avec une fréquence de 14,29% soit 7 sur 49 patients sont atteints par ce type de tumeur, ces chiffres montrent que ce dernier est moins fréquent, de même, les données de Weiss et lin (2006) ont rapporté une estimation de 5 sur 100 cas des chCCR.

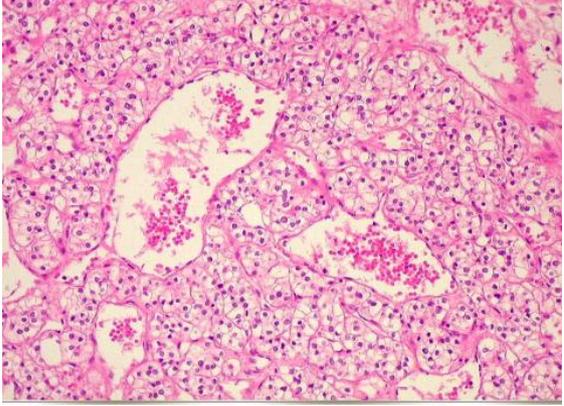
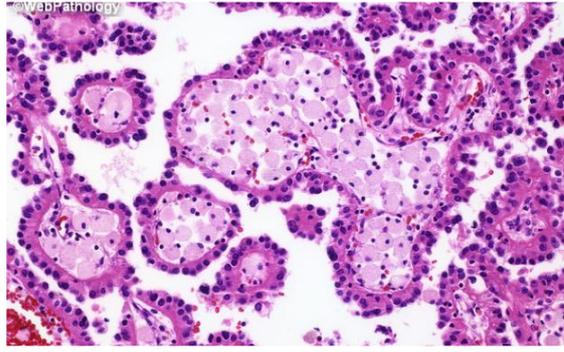
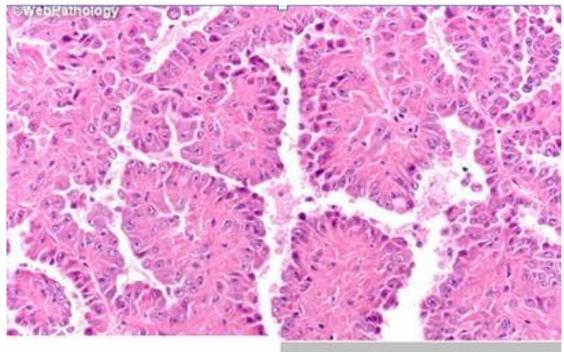
Nous avons constaté également dans notre échantillon que la fréquence des oncocytomes est très faible, estimée par 6,12% (3 cas/49) de l'ensemble des CCR.

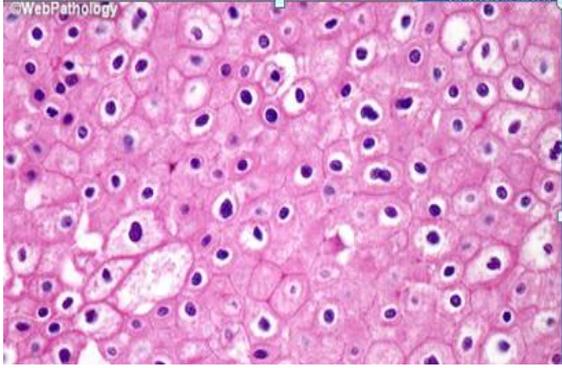
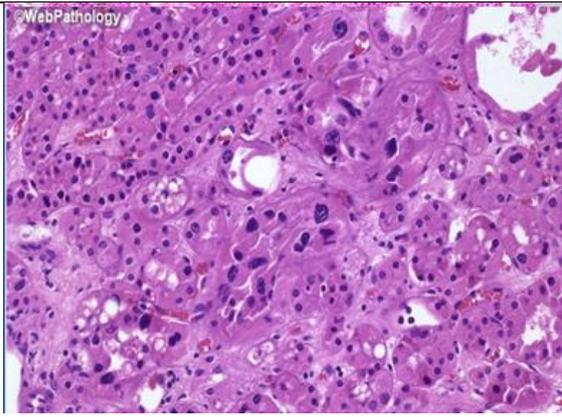
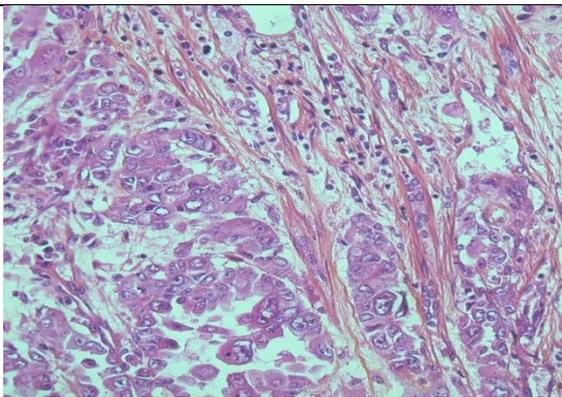
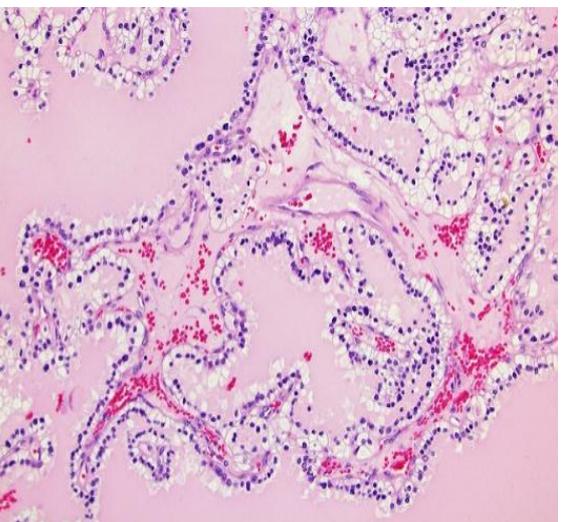
Et en dernière position, les carcinomes des tubes collecteurs de Bellini qui ont aussi une fréquence très faible de 4,08% (2 cas de sexe masculin). Ce qui concorde avec des résultats précédents qui ont rapporté une fréquence de moins de 1% de ce type de cancer et touchant beaucoup plus les hommes (Ouadoud, 2015).

2.2. Etude microscopique

Le tableau 6 représente une vision au microscope des principaux types histologiques de cancer du rein des échantillons examinés pendant notre étude anatomo-pathologique.

Tableau 6 : Coupes histologiques des différents types de CCR.

| | |
|---|--|
| <p>Carcinome à cellules claires</p> <p>Polaire (surtout pole supérieur) le plus souvent unilatérale, cellules tapissés, compactes, à aspect végétale (polyédrique), souvent claire, riche en mitochondries (eosinophile), noyaux discrètement irrégulier et volumineux et nucléolés.</p> |  |
| <p>Carcinome à cellules papillaires type 1</p> <p>Petites cellules cubiques, cytoplasme claire, noyaux hyperchromatique.</p> |  |
| <p>Carcinome à cellules papillaires type 2</p> <p>Larges cellules eosinophiles cylindriques hautes, noyaux volumineux et nucléolés.</p> |  |

| | |
|---|--|
| <p>Le carcinome chromophile</p> <p>Large cellules avec membrane rigide en cadre, présence des vésicules intracytoplasmique, faite une nappe de cellules eosinophile ded taille moyenne, les noyaux sont fripés.</p> |  |
| <p>Oncocytome</p> <p>Tumeur bénigne par fois solide et multicentrique et/ou bilatérale, rare, avec noyaux rond régulier, rarement irrégulier. Pas ou peu de mitoses normales, pas d'envahissement vasculaire, pas de nécrose tumorale.</p> |  |
| <p>Carcinome de Bellini</p> <p>Tumeur maligne polaire avec prolifération tubulaire, parfois associée à des zones solides, présence des signes inflammatoire. Cellules éosinophiles de grande taille, avec noyaux irréguliers.</p> |  |
| <p>Carcinome rénale papillaire à cellules claires</p> <p>Rare, sporadique ou survenant dans les IRC terminale, kystique, unilatéral, petite de taille (< 5 cm), architecture variable. Critère le plus caractéristique est la disposition linéaire des noyaux (situation à distance du pole basale au milieu des cellules ou pré de l'apex, moins de vascularisation.</p> |  |

Toutes les photographies représentées dans le tableau 6 correspondent à un grossissement 100.

3. Etude transversale cas-témoins

3.1. Répartition selon le statut tabagique

La répartition des patients et témoins selon le statut tabagique est établie ci-dessous (tableau 7 et Figure 9).

Tableau 7 : Répartition des patients et des témoins selon le statut tabagique

| | | Fumeur | Non fumeur | Total |
|----------------|-----------|--------|------------|-------|
| Cas | nb | 8 | 2 | 10 |
| | % | 80 % | 20 % | 100 % |
| Témoins | nb | 6 | 14 | 20 |
| | % | 30 % | 70 % | 100 % |

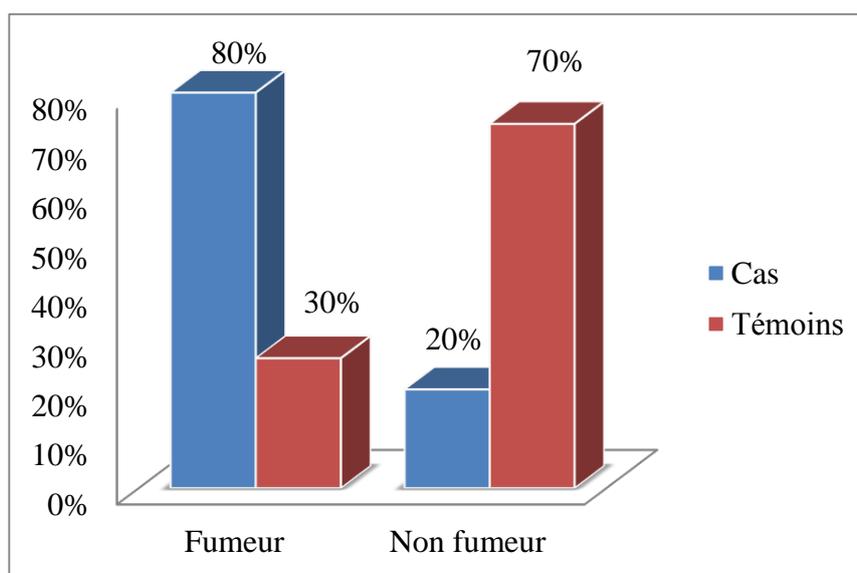


Figure 9 : La répartition cas-témoins selon le statut tabagique

Sur les 10 patients, 8 étaient des fumeurs avec une fréquence de 80%. En parallèle, parmi les 20 témoins, 6 étaient des fumeurs avec une fréquence de 30%, la comparaison des 2 fréquences (cas - témoins) montre que la fumée du tabac semble être associée à un risque élevé de survenue du cancer du rein.

Si nous prenons en considération uniquement la catégorie des patients, le rapport est de 8/2 ce qui peut confirmer également que le tabac peut être considéré comme un facteur de

risque. Nous constatons que le risque de cancer du rein dépend de la dose de tabac fumé ainsi que de l'ancienneté et l'âge de début du tabagisme car dans notre catégorie fumeuse 5 cas sont des anciens fumeurs sur un large spectre de 12 à 25 ans.

Ces résultats concordent avec les études épidémiologiques faites par Longuemaux et al. (2003) qui ont démontré que le tabac est la cause principale d'environ 20 à 30% des cancers du rein touchant les hommes et de 10 à 20 % touchant les femmes.

De même, des études faites par Ambrosetti (2015) qui ont considéré que le tabac double le risque de carcinome rénal et est un facteur contributif dans près d'un tiers des cas.

3.2. Répartition des patients selon la consommation d'alcool

La répartition des patients selon la consommation d'alcool est établie ci-dessous (figure 10) :

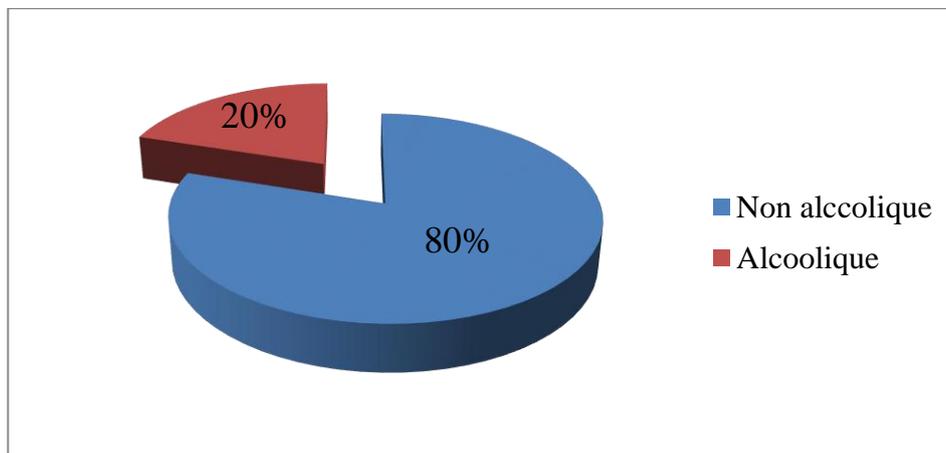


Figure 10 : La répartition des patients selon la consommation d'alcool

Parmi les 10 cas inclus dans notre étude, seulement 2 sont des alcooliques représentant une fréquence de 20%, contre 8 cas non alcooliques avec une fréquence de 80 %. Selon ces résultats nous pouvons conclure que l'alcool ne peut être considéré comme un facteur de risque. Mais et à cause du manque des informations sur nos témoins nous ne pouvons pas conclure l'effet de consommation d'alcool dans l'apparition d'un cancer du rein ou non.

Nos résultats concordent avec des preuves importantes démontrant que la consommation d'alcool (jusqu'à 2 verres par jour) réduit le risque de cancer du rein. Cependant, il est important de ne pas oublier que, selon des preuves solides, la consommation d'alcool accroît le risque d'apparition de plusieurs autres cancers (Choueiri et al., 2013).

3.3. Répartition des patients selon les antécédents médicaux

Tableau 8: Répartition des patients selon les antécédents médicaux (HTA et Diabète)

| | | Exposé | Non exposé | Total |
|----------------|-----------|--------|------------|-------|
| Diabète | nb | 1 | 9 | 10 |
| | % | 10% | 90% | 100% |
| HTA | nb | 5 | 5 | 10 |
| | % | 50% | 50% | 100% |

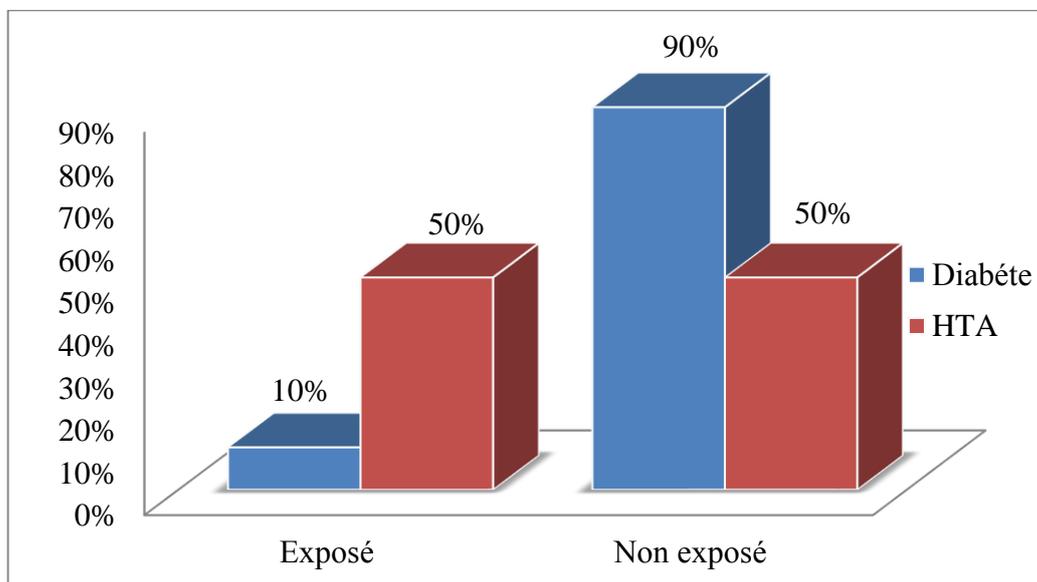


Figure 11 : La répartition des patients selon les antécédents médicaux

Le diabète est retrouvé uniquement chez un seul cas parmi les 10 recrutés. Ce chiffre faible soutient probablement l'absence de relation entre le diabète et le cancer du rein. Cette absence peut être expliquée par la taille réduite de notre échantillon.

Pour l'hypertension artérielle, impossible de juger l'existence d'une corrélation entre la survenue du cancer du rein et l'HTA (50% atteints et 50% non atteints).

A partir des résultats de l'étude de Ferchichi et al. (2012) faite en Tunisie sur 182 individus dont 41% sont des hypertendus, ils ont pu démontrer que plus l'HTA est élevée plus le risque du cancer du rein augmente avec une HTA supérieure ou égale à 12.

Les reins des diabétiques sont susceptibles d'être atteints de néphropathologie à l'origine d'une grande mortalité. Donc le diabète n'a pas un effet direct sur le cancer du rein mais il

provoque des maladies et des lésions au niveau de tissu rénal qui peuvent conduire au cancer et même à une mortalité en particulier le diabète de type 2 (Harding et al., 2015).

3.4. La répartition des patients selon les antécédents familiaux

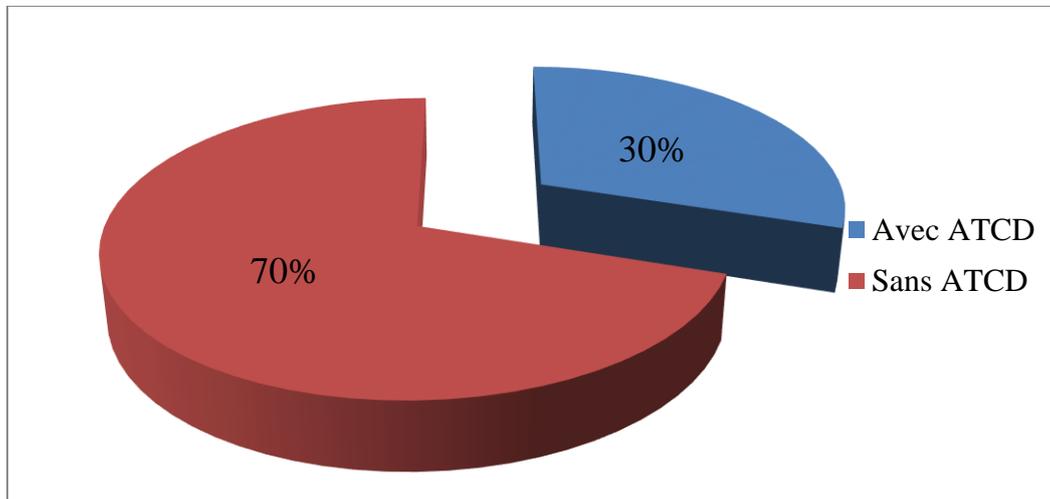


Figure 12 : La répartition des patients selon les antécédents familiaux.

Les données prises à partir du questionnaire établi nous ont permis de classer nos patients selon la présence d'antécédents familiaux.

Parmi les 10 patients recrutés, 70% (7 cas) n'ont aucun antécédent familial, 30% (3 cas), déclarent avoir 1 antécédent familial du 1^{er} degré (la mère) et 2 antécédents du 2^{ème} degré (tante et oncles).

Nos données montrent d'une part, que la forme sporadique du cancer du rein est la plus répandue alors que la forme familiale est la moins fréquente.

Les résultats publiés par Karami et al. en 2014, ont démontré que les personnes dont un parent au premier degré (père, mère, frère, sœur ou enfant) est atteint du cancer du rein risquent davantage de développer elles-mêmes la tumeur.

3.5. Répartition de la population d'étude selon le génotype

Le but de notre étude moléculaire est de rechercher d'éventuelle relation entre le variant allélique T3801C du *CYP1A1* et le CCR.

La digestion du produit d'amplification du gène *CYP1A1* par l'enzyme de restriction *MspI* a révélé les fragments suivants (Figure 13):

- le premier apparaît sur le profil électrophorétique sous forme d'une seule bande de 340pb correspondant au type homozygote sauvage TT,
- et le deuxième sous forme de 3 bandes (340, 200, 140pb) représentant le type hétérozygote TC
- normalement l'homozygote muté CC doit montrer deux bandes, une de 200pb et l'autre de 140pb à cause de la création d'un nouveau site de restriction pour l'enzyme *MspI* ce qui n'a pas été trouvé dans notre échantillon d'étude.

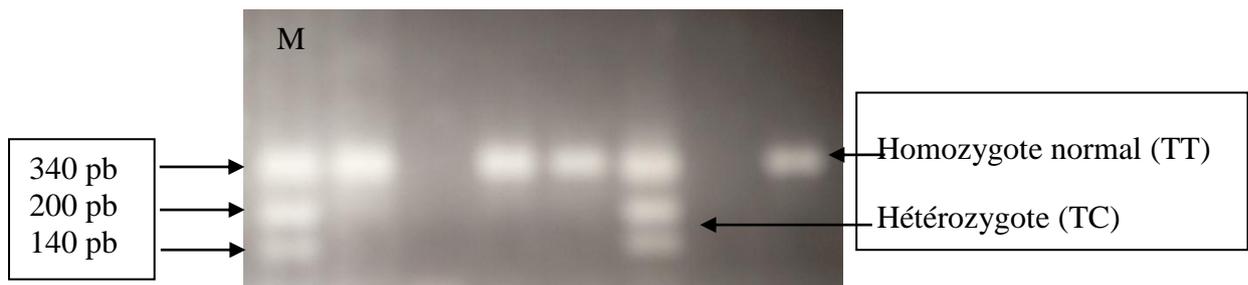


Figure 13 : Profil électrophorétique de la digestion par l'enzyme *MspI*

M : marqueur

Afin de voir si nos résultats sont significatifs ou non, nous avons établi un tableau de contingence pour calculer l'odds ratio et la *p-value*, si elle est $<0,05$ les résultats seront significatifs.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau ci-dessous (Tableau 9):

Tableau 9 : La répartition des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme T3801C du *CYP1A1* chez les patients et les témoins.

| | | Patients | | Témoins | | OR | <i>p value</i> |
|-------------------------|---------|----------|----|---------|------|---------------------|----------------|
| | | n | % | n | % | | |
| Fréquences génotypiques | 3801 TT | 6 | 60 | 13 | 65 | / | / |
| | 3801 TC | 4 | 40 | 7 | 35 | 1,24 [0,20-7,73] | 0,89 |
| | 3801 CC | 0 | 0 | 0 | 0 | / | /* |
| Fréquences alléliques | T | 16 | 80 | 33 | 82,5 | / | / |
| | C | 4 | 20 | 7 | 17,5 | 1,18 [0,24-5,48] | 0,90 |

*Impossible de réaliser le test quand le total d'une ligne ou d'une colonne vaut zéro.

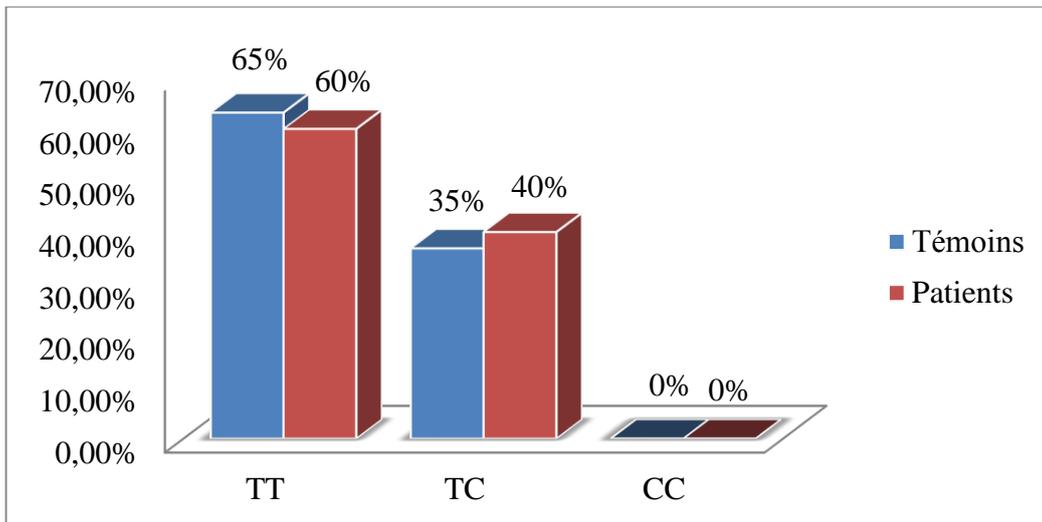


Figure 14 : Les fréquences génotypiques du T3801C du *CYP1A1* des patients et des témoins

Dans notre échantillon la distribution des fréquences génotypiques du polymorphisme T3801C du *CYP1A1* montre que le génotype sauvage TT prédomine que ce soit dans la population des témoins (65 %) ou dans la population des patients (60%).

Le génotype hétérozygote TC se trouve en deuxième position dans les deux populations (cas : 40% et témoins : 35%). Aucun génotype muté (CC) n'a été identifié dans les deux populations.

A partir des résultats obtenus et le calcul des odds ratio (OR) et de la *p-value* (tableau 9) nous pouvons dire qu'il n'existe pas de corrélation entre le polymorphisme T3801C du *CYP1A1* et le cancer du rein pour notre population d'étude donc ce polymorphisme ne représente pas un facteur de risque pour la carcinogénèse rénale. Mais ces résultats restent limités à notre échantillon et ne peut pas être généralisés à l'ensemble de la population algérienne vu notre effectif réduit.

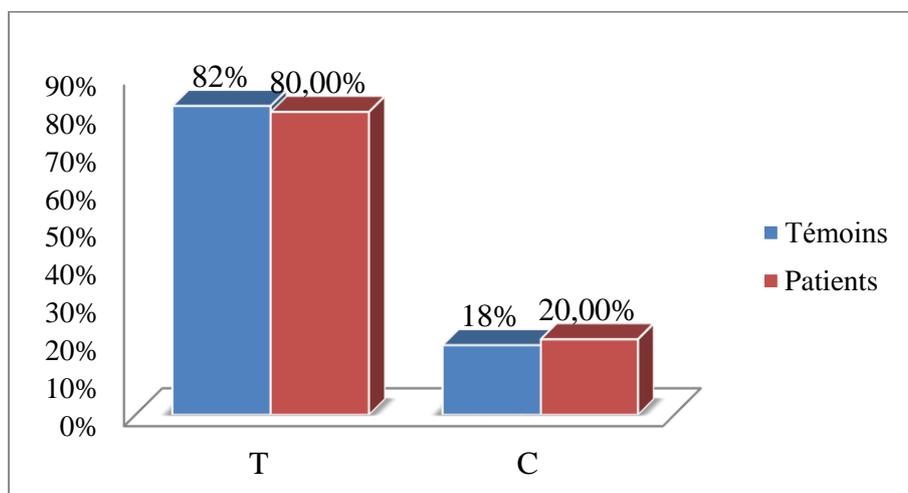


Figure 15: Les fréquences alléliques du T3801C du *CYP1A1* des patients et des témoins

A partir des fréquences alléliques de T3801C du *CYP1A1*, nos résultats montrent que l'allèle T est dominant chez les deux populations (patients et témoins) avec des fréquences alléliques de 80 et 82,5% respectivement, tandis que l'allèle C est moins fréquent avec 20% chez les cancéreux et 17,5% chez les sains. Le calcul de la *p-value* ($p > 0,05$) pour les fréquences alléliques a également révélé une absence de corrélation entre le polymorphisme T3801C du *CYP1A1* et le cancer du rein.

Plusieurs études à travers le monde ont évalué la relation entre le polymorphisme étudié et le cancer du rein (Longuemaux et al., 1999 ; Ahmad et al., 2013 ; Fan-dong Meng et al., 2015).

Longuemaux et al. (1999) ont conçu une étude en France sur 173 patients avec CCR et 211 contrôles pour tester l'éventuelle association entre les polymorphismes génétiques des enzymes impliquées dans le métabolisme xénobiotique et le risque de CCR sporadique et ont rapporté que le variant C3801T du *CYP1A1* augmente le risque d'atteinte par le CCR.

De même, Ahmad et al. (2013) ont démontré pour la première fois une association significative entre les polymorphismes pharmacogénétiques de *CYP1A1* et le risque de développement de CCR dans la population indienne.

Récemment, une méta-analyse réalisée par Meng et al. (2015) qui a porté sur trois études avec un total de 531 cas et 739 témoins. Dans l'ensemble des résultats obtenus, le polymorphisme MspI était significativement associé au risque accru de CCR dans la population chinoise.

Nous n'avons pas trouvé des études qui rapportent une association négative entre le polymorphisme étudié et le CCR et qui appuient les résultats obtenus. L'absence de relation retrouvée dans notre échantillon d'étude peut être expliquée par la taille très réduite de notre population d'étude.

*Conclusion et
perspectives*

Le cancer du rein constitue un groupe hétérogène de tumeurs, dont le ccRCC est le type histologique le plus fréquent et le plus agressif et représente 3% des cancers humains, et le troisième type des cancers urologiques.

Le but des travaux présentés dans ce mémoire est de mieux comprendre la biologie du cancer du rein, de préciser les voies moléculaires et les gènes impliqués dans la carcinogenèse. D'identifier et caractériser les facteurs de risque incriminés ainsi que les types histologiques les plus fréquents. Enfin, étudier la relation entre le polymorphisme T3801C du gène *CYP1A1* et le cancer du rein.

Nos résultats de l'étude rétrospective démontrent que ce type de cancer touche préférentiellement l'homme et les personnes âgés de plus de 50 ans. Le type histologique le plus fréquent est le ccRCC.

Les résultats préliminaires de l'étude moléculaire ne montrent aucune association entre le variant étudié et la cancérogenèse rénale mais ces résultats ne peuvent pas être généralisés à l'ensemble de la population algérienne.

En perspective à ces résultats, il serait intéressant de :

- élargir la taille de l'échantillon afin de pouvoir tirer des conclusions cohérentes sur l'association du polymorphisme *CYP1A1* 3801T>C et le cancer du rein.
- étudier les autres variants du gène *CYP1A1* et leurs implications dans le cancer du rein, tels que m2 (A2455G), m3 (T3205C) et m4 (C2453A), ainsi que la combinaison entre ces différents polymorphismes.
- rechercher d'éventuelles associations entre les gènes de détoxifications de phase II comme le gène *NAT2* et le cancer rénal.

*Référence
bibliographiques*

-A-

ABDEL-RAZZAK Z., AL ATTRACHE H., RAMMAL G. Association of CYP1A1 and CYP2E1 gene polymorphisms with prostate cancer in a Lebanese population. *International Research Journal of Public and Environmental Health*, 2015, 2(10), 135-43.

ACEVEDO C., QUINONES L., CACERES D., et al. Polimorfismo de citocromo P-450 (CYP1A1*2A) como factor de riesgo y pronostico del cancer de prostata. *Chilien Journal of Urology*, 2014, 79(4), 14-25.

AGOUZAL K. Cancer du rein de l'adulte (à propos 141 cas). Thèse en Médecine, sous la direction de LACHKAR A, Rabat : Université Mohammed V, 2009, 239 p.

AHMED ST., ARJUMAND W., SETH A., NAFEES S., RASHID S., ALI N., HAMIZA OO., SULTANA S. Risk of cell carcinoma and polymorphism in phase xenobiotic metabolizing CYP1A1 and CYP2D6 enzymes. *Urol Oncol*, 2013, 31(7), 1350-7.

AMBROSETTI D. Carcinomes rénaux : caractérisation moléculaire et des voies métaboliques dépendant des mécanismes hypoxiques. Thèse en Sciences agricoles, sous la direction de Mazure, Nice : Université Nice Sophia Antipolis, 2015, 102p.

ASTRINIDIS A et PETRI HENSK E. Atlas de la génétique et de la cytogénétique en oncologie et hématologie. Etats-Unis : Meta systems, 2001.

AUDENET F., ROUORET M., MEJEAN A. Cancer du rein et thérapies ciblées : controverses sur les prises en charge thérapeutiques. *Association française d'urologie*, 2009, 19(9), 596-605.

-B-

BAG A., JYALA NS., BAQ N. Cytochrome P450 1A1 genetic polymorphisms as cancer biomarkers. *Indian J cancer*, 2015, 52(4), 479-89.

BALDEWIJNS M M., VAN VLODRP IJ., VERMEULEN PB., SOETEKOUW P M., VAN ENGELAND M., Bruine AP. VHL and HIF signaling in renal cell carcinogenesis. *J Pathol*, 2010, 221(2), 125-38.

BARTSCH H., NAIR U., RISH A., ROJAS M., WIKMAN H., ALEXANDROV K. Genetic polymorphisms of CYP genes, alone or in combination, as a risk modifier of tobacco-related cancers. *Cancer Epidemiol Biomark Prev*, 2000, 9(1), 3-28.

BELAUD S., DELAVIGNE V., DUPERRAY M., et al. Les traitements du cancer du rein, collection Guides patients Cancer info. INCa cancer info, 2013, 92 : 12-13.

BENADIBA S. Renal nephrometry score : évaluation de la reproductibilité inter-observateur entre radiologue et urologue et implication clinique. Thèse en médecine, sous la direction de Pignot G. Paris : la faculté De Médecine de Paris 11 (Kremlin Bicêtre), 2013, 96p.

BEN NJIMA B. Identification et caractérisation des cellules tumorales circulantes dans le cancer rénal à cellules claires. Thèse en Génétique Humaine, sous la direction de Bouhamed-Chaabouni et Paterlini- Brechot P, Tunis: Université Tunis El Manar, 2012, 204 p.

BENSALAH K., ALBIGESA L., BERNHARDA J C., et al. Recommandations en onco-urologie 2016-2018 du CCAFU : Cancer du rein. *Progrès en urologie*, 2016, 27, 27-52.

DUCASSOU L. Etude biochimique d'un cytochrome P450 de cerveau humain: le CYP2U1. Thèse en Chimie Biologique, sous la direction de Boucher J-L, Paris: Université Paris Descartes, 2012, 201 p.

BRUCE A C. Le dépistage des lignées cellulaires NCI-60. *Journal du national cancer institue*, 2016, 108, 7-17.

-C-

CAMILO A et PETIT T. *Mémento de pathologie*. 4^{ème} édition. France: Vernazobres Grego, 2016, 574p.

CHEN J., CHENG M., YI L., et al. Relationship Between CYP1A1 Genetic Polymorphisms and Renal Cancer in China. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2011, 12(4), 2163-6.

CHEVILLE J C., LOHSE C M., ZINCKE H., et al. Comparisons of outcome and prognostic features among histologic subtypes of renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol*, 2003, 27(5), 612-24.

CHOUËIRI TK., JE Y., CHO E. analgesic use and the risk of kidney cancer : A meta-analysis of epidemiologic studies. International journal of cancer, 2013, 134(2), 384-96.

CULINE S et PATARD JJ. Le cancer du rein. France : Springer, 2007, 211 p.

-D-

DALY-SCHVEITZER N., CABARROT E., GUIMBAND R., et al. Cancérologie Clinique. 3^{ème} édition. Paris: Masson, 2003, 434 p.

DAO P. Etude sur les maladies rénales et urologiques chez l'enfant dans le service de pédiatrie du centre hospitalier national Yal Gado ou edraogo (CHN-YO). Thèse en médecine, sous la direction de Sawadogo A, Burkina Faso : Université d'OUAGADOUGOU, 1998, 120 p.

DEHEUNINCK J. Le récepteur MET, une cible fonctionnelle des caspases. Thèse en sciences de la vie et de la santé, sous la direction de Fafeur V, Lille: Université Des Sciences Et Technologies De Lille, 2006, 267p.

DEMERS P., DAVIES H., FRIESEN MC., et al. Cancer and occupational exposure to pentachlorophenol and tetrachlorophenol (Canada). Cancer Causes Control, 2006, 17(6), 749-58.

DORMOY V. Du développement au cancer : implication des voies néphrogéniques dans la croissance du carcinome à cellules rénales humain. Thèse en pharmacologie cellulaire et moléculaire, sous la direction de Massfelder, Strasbourg : université de Strasbourg, 2010, 161p.

-E-

EBLE JN. Pathology and genetics of tumours of the urinary system and male genital. Health organization, International Agency for Research on Cancer, 2004, 23, 359.

EDDALZI H. Cancer du rein, expérience du service d'urologie de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech. Thèse en médecine, sous la direction de Touiti D, Marrakech : université Cadi Ayyad, 2012, 180 p.

EDELINE J., VIGNEAU C., PATARD J.J., et al. Signal Ling pathways in renal-cell carcinoma: from the molecular biology to the future therapy. Bull Cancer, 2010, 97, 5-15.

EVERITT J.I., WALKER C.L., GOLDSWORTHY T.W., et al. Altered expression of transforming growth factor-alpha: an early event in renal cell carcinoma development. Mol Carcino, 1997, 19(3), 213-9.

EL ROUMY EH. Le cancer du rein : étude rétrospective (à propos de 22 cas). Thèse en médecine, sous la direction de Sarf I, Marrakech : université Cadi Ayyad, 2007, 171p.

-F-

FARIN FM., POHLMAN TH., OMIECINSKI CJ. Expression of cytochrome P450s and microsomal epoxide hydrolase in primary cultures of human umbilical vein endothelial cells. Toxicol Appl Phannacol, 1994, 124(1), 1-9.

FERCHICHI I., KOURDA N., DEROUICHE A., et al. L'hyper tension artérielle facteur de prédisposition au cancer du rein dans la population tunisienne. La Tunisie médicale, 2012, 90(5), 397- 400.

FERGELOT P., RIOUX-LECLERCQ N., Patard JJ. Voies moléculaires de l'angiogenèse tumorale et nouvelles approches thérapeutiques ciblées dans le cancer du rein. Prog Urol, 2005, 15(6), 1021-9.

FONG G.-H. Regulation of angiogenesis by oxygen sensing mechanisms. Journal of molecular medicine (Berlin, Germany), 2009, 87(6), 549-60.

FONTANA RJ., LOWN KS., PAINE MF., et al. Effects of a chargrilled meat diet on expression of CYP3A, CYP 1A, and P-glycoprotein levels in healthy volunteers. Gastroenterology, 1999, 117(1), 89-98.

-G-

GAK E., TAYLOR W G., CHAN M., et al. Processing of hepatocyte growth factor to the heterodemic from is required for biological activity. Federation of europein biochemical societies (FEBS), 1992, 311(1), 17-21.

GERMAIN S. Angiogénèse et cancer du rein : hypoxie et pseudo-hypoxie. Dossier thématique, 2011, 2(1), 12-17.

GEORGE J., LIDDLE C., MURRAY M., et al. Pre-translational regulation of cytochrome P450 genes is responsible for disease-specific changes of individual P450 enzymes among patients with cirrhosis. *Biochem Pharmacol*, 1995, 49(7), 873-881.

GNARRA JR., TORY K., WENG Y., et al. Mutations of the VHL tumour suppressor gene in renal carcinoma. *Nat Genet*, 1994, 7(1), 85-90.

GORIS GBENOU M., FLECHON A., BALDE M., et al. The flying publisher guide to: les tumeurs rénales. La 1^{ère} édition. France: Print, 2012, 107 p.

GUEGUEN Y., MOUZAT K., FERRARI L., et al. Les cytochromes P450 : métabolisme des xénobiotiques, régulation et rôle en clinique. *Ann Biol Clin*, 2006, 64(6), 535-48.

GUIREIN. Les traitements du cancer du rein. Collection guides patients cancer info (INCa). 2013, 92: 38-40.

-H-

HAN W et LO h. Landscape of EGFR signaling network in human cancers: Biology and therapeutic response in relation to receptor subcellular locations. *Cancer letters*, 2012, 318(2), 124-34.

HARDING JL., SHAW JE ., PEETERS., et al. Cancer risk among people with type 1 and type 2 diabetes: disentangling true associations, detection bias, and reverse causation. *Diabete care*, 2015, 38(4), 734-5.

HODGES VM., MOLLOY GY., WICKRAMASINGHE SN. Demonstration of mRNA for five species of cytochrome P450 in human bone marrow, bone marrow-derived macrophages and human haemopoietic cell lines. *Br J Haematol*, 2000, 108(1), 151-6.

-J-

JAOUEN A. Carcinomes papillaires du rein : Analyse anatomo-clinique, immunohistochimique, et étude des mutations du gène MET dans une série de 100 cas. Thèse

en Médecine, sous la direction de Decaussin-Petrucci M, Lyon : université Claude Bernard-Lyon 1, 2015, 230 p.

JUNGERS P., JOLY D., BLANCHARD A., et al. Lithiases rénales héréditaires monogéniques : récents acquis diagnostiques et thérapeutiques. *Néphrologie et thérapeutique*, 2008, 4(4), 231-255.

-K-

KARAMI S., DAUGHERTY SE., PURDUE MP. Hystorectomy and kidney cancer risk: a meta-analysis. *International journal of cancer*, 2014, 134(2), 405-10.

KAWAJIRI K. Cyp1a1. IARC Scientific publication, 1999, 148, 159-172.

KHLLIL-BENDJEMANA K. Etude de polymorphisme des enzymes de détoxification des xénobiotiques dans le cancer de nasopharynx. Thèse en sciences, sous la direction de Satta D, Constantine : université Mentouri, 2008, 123p.

KUWADA M., CHIHARA Y., LOU Y., et al. Novel missense mutation in the FH gene in familial renal cell cancer patients lacking cutaneous leiomyomas. *BMC Res Notes*, 2014, 7, 203.

-L-

LACOMBE M. L'abrégé d'anatomie et de physiologie humaine. 7^{ème} édition. France: Lamarre, 2015, 272p.

LAMOTT G. thèses d'exercice : «interaction médicamenteuse : le rôle des CYP450 ». Lion : s.n, 2002.

LE BROU D. Impact de l'environnement chimique sur la prise en charge de molécules à visée anticancéreuse : Effet du cadmium sur l'efficacité potentielle de la Phenstatine et de ses métabolites dans le traitement du cancer de la prostate. Thèse en Sciences du Médicament, sous la direction de Pommery N, Lille, Université Lille Nord de France, 2011, 205 p.

LMEZGUIDI K. Référentiels sur le cancer du rein. Thèse en Médecine, sous la direction de Ameer A, Rabat : Université Mohammed V –Souissi, 2013, 369 p.

LONGUEMAUX S., RODRIGUES-LIMA F., DUPRTE J.M. Carcinome à cellules rénales et facteurs environnementaux. *Prog Urol*, 2003, 13(5),1194-6.

LUBENSKY IA., SCHMIDT L., ZHUANG Z., et al. Hereditary and sporadic papillary renal carcinomas with c-met mutations share a distinct morphological phenotype. *Am J Pathol*, 1999, 155(2), 517-26.

LYTTON S D., HELANDER A., ZHANG-GOUILLOIN Z Q., et al. Autoantibodies against cytochrome P4502E1 and P4503A in alcoholics. *Mol Pharmacol*, 1999, 55(2), 223-33.

-M-

MAK B C et YEUNG R S. The tuberous sclerosis complex genes in tumor development. *Cancer Invest*, 2004, 22(4), 588-603.

MARIEB N E. *Biologie humaine : principe d'anatomie et de physiologie*. 8^{ème} édition. Britannique: Pearson education, 2008, 631p.

MASSON LF., SHARP L., COTTON SC., et al. Cytochrome P-4501A1 gene polymorphisms and risk of breast cancer: a HuGE review. *Am J Epidemiol*, 2005, 161(10), 901-15.

MCMANUS ME., BURGESS WM., VERONESE ME., et al. Metabolism of 2-acetylaminofluorene and benzo(a)pyrene and activation of food-derived heterocyclic amine mutagens by human cytochromes P-450.. *Cancer Res*, 1990, 50, 3367-3376.

MEJEAN A., ANDRE M., DOUBLET J D., et al. Kidney tumors. *Prog Urol*, 2004, 14(4), 999-1035.

MENG FD., MA P., SUI CG., et al. Association between cytochrome P450 1A1 (CYP1A1) gene polymorphisms and the risk of renal cell carcinoma: a meta-analysis. *Scientific reports*, 2015, 5, 1-6.

MILLER SA., DYKES DD., POLESKY HF et al. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic acid research*, 1988, 16(3), 1215.

MOONEY LA., BELL DA., SANTELLA RM., et al. Contribution of genetic and nutritional factors to DNA damage in heavy smokers. *Carcinogenesis*, 1997, 18(3), 503-9.

MULLIS K., FALOONA F., SCHARF S et al. specific enzymatic amplification of DNA in vitro : the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symposia on quantitative biology*. 1986, 51(1), 263-73.

-N-

NAKA D., ISHII T., YOSHIYAMA Y., et al. Activation of hepatocyte growth factor by proteolytic conversion of a single chain form to a heterodimer. *J Biol Chem*, 1992, 267(28), 20114-19.

NAKAMURA T. Structure and function of hepatocyte growth factor. *Prog Growth Factor Res*, 1991, 3(1), 67-85.

NALDINI L., TAMAGNONE L., VIGNA E., et al. Extracellular proteolytic cleavage by urokinase is required for activation of hepatocyte growth factor /scatter factor. *EMBO J*, 1992, 11(13), 4825-33.

NEBERT DW et DALTON TP. Le rôle des enzymes du cytochrome P450 dans les voies de signalisation endogène et la carcinogénèse environnementale. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6(12), 947-60.

NGUYEN T-A. Relations structure-fonction dans la superfamille des cytochromes P450, étude bioinformatiques. Thèse en analyse de génomes et modélisation moléculaire, sous la direction de Neumann JM et André F, Paris, Université Paris-Diderot, 2007, 361p.

-O-

OUADOUD H. Les tumeurs malignes du rein chez l'adulte (40 cas). Thèse en Médecine, sous la direction de Farih M H, Fès, Université Mohammed Ben Abdellah, 2015, 175 p.

-P-

PARK M., DEAN M., KAUL K., et al. Sequence of MET protooncogene cDNA has features characteristic of the tyrosine kinase family of growth-factor receptors. Proc Natl Acad Sci USA, 1987, 84(18), 6379-83.

PATARD J J., BAUMERT H., BEN SALAH K., et al. Recommendation en onco-urologie 2013 du CCAFU: cancer du rein. Association française d'urologie, 2013, 23(2), 177-204.

PATARD J J., BAUMERT H., CORREAS J M., et al. Recommendations Onco-Urology 2010: Kidney cancer. Prog Urol, 2010, 20(4), 319-39.

-R-

RABILLER J. Exploration des difficultés dans la prise de traitement au long cours chez le patient transplanté rénal : comment le rendre acteur de sa santé. Thèse en pharmacie, sous la direction de Onno C, Angers, Université Angers, 2013, 211 p.

RANDA. Thèse en ligne, Fès-Boulemane 2009, 84p. http://scolarite.fmp-usmba.ac.ma/cdim/mediatheque/e_theses/130-09.pdf

RATCLIFFE PJ. Fumarate hydratase deficiency and cancer: activation of hypoxia signaling?. Cancer cell, 2007, 11(4), 303-5.

RAGUEBI G. La néphrectomie partielle dans le traitement du cancer du rein. Thèse en médecine, sous la direction de Qarro M, Fès, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, 2015, 150 p.

RICHARD S., GRAFF J., LINDAU J., et al. Van Hippel Lindau diseases. Lancet. 2004, 363(0416), 1231-4 .

REIN G. Tumeur maligne; affection maligne du tissu lymphatique ou hématopoïétique: cancer du rein de l'adulte. Guide-affection longue durée, 2010, 40: 16.

ROCHA JC., SILVA RL., MENDONCA BB., et al. High frequency of novel germline mutations in the VHL gene in the heterogeneous population of Brazil. Journal of Medical Genetics, 2003, 40(3), 1-6.

-S-

SABATINI DM. mTOR and cancer: insights into a complex relationship. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6(9), 729-34.

SADEK CM et ALLEN-HOFFMAN BL. Cytochrome P450JA 1 is rapidly induced in nonnal human keratinocytes in the absence of xenobiotics. *Biol Chem*, 1994, 269(23), 16067-74.

SAOUD MK. Les tumeurs rénales héréditaires : de la génétique à la particularité de la prise en charge (Revue de la littérature). Thèse en médecine, sous la direction de khallouk A, Fés, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, 2014, 248p.

SCHAFFLER A et MENCHE N. Anatomie physiologie biologie. 2^{ème} édition française traduite de la 4^{ème} édition allemande. Paris : Maloine, 2004, 454p.

SCHWEGLER J et LUCIUS R. Le corps humain : anatomie et physiologie. France : Maloine, 2013, 450p.

SCOTTE F., COLONNA P., ANDRIEU J M. Cancérologie. 2^{ème} édition. Paris: ellipses, 2008, 320 p.

SEMENZA GL. HIF- 1 : mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia. *J Appl Physiol* (1985), 2000, 88(4), 1474-80.

SMITH G., STUBBINS MJ., HARRIES LW., et al. Molecular genetics of the human cytochrome P450 monooxygenase superfamily. *Xenobiotica*, 1998, 28(12), 1129-65.

SOUSSI T. Gene : VHL (von Hippel-Lindau). *Bulletin du Cancer. Genes et cancers*, 2000, 87(11), 771-2.

SUGAWARA T., NOMURA E., SAGAWA T., et al. Polymorphisme de CYP1A1 et risque de malignité gynécologique au japon. *Int J Gynecol Cancer*, 2003, 13(6), 785-90.

-T-

THUM T et BORLAK I. Gene expression in distinct regions of the heart. *Lancet*, 2000, 355(9208), 979-83.

TORO J R., WEI M H., GLENN G M., et al. BHD mutation clinical and molecular genetic investigations of Birt-Hogg-Dube syndrome: a new series of 50 families and a review of published reports. *Journal of medical genetique*, 2008, 45(6), 321-31.

-V-

VIVANCOI et SAWYERS C L. The phosphatidylinositol 3-Kinase AKT pathway in human cancer. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2(7), 489-501.

-W-

WEISS R H et LIN P Y. Kidney cancer: identification of novel targets for therapy. *Kidney International*, 2006, 69(2), 224-32.

WILLEY JC., COY EL., FRAMPTON MW., et al. Quantitative RT-PCR measurement of cytochromes p450 1A1, 1B1, and 2B7, microsomal epoxide hydrolase, and NADPH oxidoreductase expression in lung cells of smokers and nonsmokers. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1997, 17(1), 114-24.

-Y-

YOUSFI., KERROUMI., BAZZI., et al. L'évolution de la prise en charge du cancer du rein en Algérie entre insuffisance et modernité. Université D'ORAN, 2014, 35p. <http://www.aau-algerie.com/upload/1-3-1-yousfi.pdf>

YVANIE C et MARTINEZ F. D'autre rein que les miens patients et médecins racontent l'histologie de la dialyse et de la greffe. France: Le cherche-Midi, 2015, 232p.

-Z-

ZHUO W., ZHANG L., QIU Z., et al. Le cytochrome P450 1A1, le polymorphisme MspI augmente-t-il le risque de leucémie lymphoblastique aiguë? Preuve des cas 2013 et 2903 contrôles. *Gene*, 2012, 510(1), 14-21.

ZIMMER M., DOUCETTE D., SIDDIQUI N., et al. Inhibition of hypoxia-inducible factor is sufficient for growth suppression of VHL^{-/-} tumors. *Mol Cancer Res*, 2004, 2(2), 85- 95.

ZITOUNI M., AMOKRANE F., CHERF-BOUZIDA F., et al. Une nouvelle vision stratégique de lutte contre le cancer centrée sur le malade. *Plan national cancer 2015-2019*, 2016, 178 : 18-21.

Résumé

Le cancer du rein représente 3% des cancers humains, dans 85% des cas il s'agit des CCR. Son incidence est en nette augmentation avec une prédominance masculine et un sexe ratio de 1,57.

Les objectifs de notre étude sont d'une part rechercher l'implication de certains facteurs de risque dans la survenue du cancer du rein, ainsi que la détermination des types de CCR les plus fréquents à travers une étude anatomo-pathologique, et d'autre part la recherche d'éventuelles associations entre le polymorphisme T3801C du *CYP1A1* et la survenue du cancer du rein.

Patients et méthodes : 49 patients ont été recrutés pour l'étude statistique et anatomopathologique. 10 patients et 20 témoins ont été prélevés et une extraction de l'ADN a été réalisée par la méthode au NaCl. Le génotypage du polymorphisme T3801C du gène *CYP1A1* a été effectué par une PCR-RFLP.

Résultats : l'étude statistique indique une fréquence élevée du cancer du rein à partir de l'âge de 50 ans, et que le tabac est le facteur de risque le plus incriminé. 5 types histologiques ont été trouvés dans notre échantillon dont la répartition selon la fréquence est : ccRCC, pRCC, chRCC, oncocytome et les carcinomes des TCB.

Les résultats de la comparaison des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme T3801C du *CYP1A1* ont montré une *p value* supérieure à 0,05 ce qui nous laisse suggérer que ce dernier ne représente pas un facteur de risque pour le cancer du rein.

Conclusion : l'effectif de notre population est faible (10 patients), ceci ne nous permet pas d'apporter des résultats formellement concluants, donc il sera nécessaire d'élargir la taille de l'échantillon et les travaux doivent se poursuivre.

Mots clés : cancer du rein, polymorphisme, T3801C *CYP1A1*, PCR/RFLP, facteurs de risque, type histologique.

Abstract:

Kidney cancer accounts for 3% of human cancers, 85% of which are RCCs. Its incidence is markedly increasing with a male predominance and a sex ratio of 1.57.

The objective of our study is to seek the involvement of certain risk factors in the occurrence of kidney cancer, as well as the determination of the most frequent types of RCC through an anatomico-pathological study and the association of CYP1A1 T3801C polymorphism with the onset of renal cancer.

Patients and methods: 49 patients were recruited for the statistical and pathological study. 10 patients and 20 controls were taken and DNA extraction was performed by the NaCl method. Genotyping of the T3801C polymorphism of the CYP1A1 gene was performed by PCR-RFLP.

Results: The statistical study indicates a high incidence of kidney cancer from the age of 50 years and that tobacco is the most implicated risk factor. 5 histological types were found in our sample whose frequency distribution is: ccRCC, pRCC, chRCC, oncocytoma and TCB carcinomas.

The results of the comparison of the genotypic and allelic frequencies of the *CYP1A1* T3801C polymorphism showed a p value greater than 0.05, which suggests that CYP1A1 does not represent a risk factor for renal cell carcinoma.

Conclusion: Our population size is low (10 patients), this does not allow us to give formally conclusive results, so it will be necessary to enlarge the sample size and the work must continue.

Key words: Kidney cancer, polymorphism, T3801C CYP1A1, PCR / RFLP, risk factors, histological type.

المخلص

يمثل سرطان الكلى 3 بالمائة من سرطان الإنسان، حيث 85 % من الحالات تتجلى في CCR. يتزايد حدوثه بشكل ملحوظ مع هيمنة الذكور بنسبة جنس 1,57.

الهدف من دراستنا هو من جهة السعي لإشراك عوامل خطر معينة في حدوث سرطان الكلى، و تحديد أنواع CCR الأكثر انتشارا من خلال دراسة تشريحية مرضية، و من جهة أخرى ربط العلاقة بين تعدد الأشكال *T3801C CYP1A1* و هذا النوع من السرطان.

المرضى و الأساليب: تم أخذ 49 مريض تطوعيا لدراسة إحصائية مرضية. كما تم أخذ عينة من 10 مرضى و 20 شاهد من أجل استخراج الحمض النووي بطريقة كلور- الصوديوم لإجراء التتميط الجيني لتعدد أشكال *T3801C CYP 1A1* عن طريق تقنية PCR-RFLP .

النتائج: تشير الدراسة الإحصائية إلى ارتفاع نسبة الإصابة بسرطان الكلى ابتداء من سن 50 سنة، و أن التدخين هو عامل الخطر الأكثر جرما. تم العثور على 5 أنواع نسيجية في عينتنا موزعة وفقا للتردد التالي : *chRCC*, *pRCC*, *ccRCC*, *oncocyto*me, و سرطان *TCB*.

أظهرت نتائج المقارنة بين الترددات الجينية و الأليلية لتعدد الأشكال *T3801C* ل *cyp1A1* قيمة *P* اكبر من 0,05 مما يجعلنا نفترض أن هذا الأخير لا يمثل عامل خطر لسرطان الكلى.

الخلاصة: إن حجم عينتنا ضعيف (10 مرضى)، مما لا يسمح لنا بتقديم نتائج حاسمة لذلك ينبغي علينا زيادة الحجم العينة و الأبحاث يجب أن يستمر.

الكلمات المفتاحية: سرطان الكلى، متعدد الأشكال , *T3801C CYP1A1* , PCR-RFLP , عوامل الخطر، النوع النسيجي.

Les annexes

Annexe 1

Classification 2004 de l'organisation mondiale de la santé (OMS) des tumeurs rénales (Lopez et al., 2006).

| | | | |
|---|---|---|--|
| Tumeurs à cellules rénales | <p>Carcinome à cellules rénales claires</p> <p>Carcinome kystique multiloculaire</p> <p>Carcinome à cellules rénales papillaires</p> <p>Carcinome à cellules rénales chromophobes</p> <p>Carcinome des tubes collecteurs de Bellini</p> <p>Carcinome rénal médullaire</p> <p>Carcinome avec translocation Xp11.2</p> <p>Carcinome associé au neuroblastome</p> <p>Carcinome fusiforme et tubuleux à stroma mucineux</p> <p>Carcinome à cellules rénales non classées</p> <p>Adénome papillaire cortical</p> <p>Oncocytome</p> | | |
| Tumeurs métanéphriques | <p>Adénome métanéphrique</p> <p>Tumeur stromale métanéphrique</p> | | |
| Tumeurs néphroblastiques | <p>Restes néphrogéniques</p> <p>Néphroblastome</p> | | |
| Tumeurs neuroendocrines | <p>Carcinoïde</p> <p>Carcinome endocrine</p> <p>Tumeur neuro-ectodermique primitive</p> <p>Neuroblastome</p> <p>Phéochromocytome</p> | | |
| Tumeurs germinales | <p>Tératome</p> <p>Choriocarcinome</p> | | |
| Tumeurs mésenchymateuses | <table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="vertical-align: top; width: 50%;"> <p><u>Chez les enfants :</u></p> <p>-Sarcome à cellules claires</p> <p>-Tumeur rhabdoïde</p> </td> <td style="vertical-align: top; width: 50%;"> <p><u>Chez les adultes :</u></p> <p>-Leiomyosarcome</p> <p>- Angiosarcome</p> <p>- Rhabdomyosarcome</p> <p>- Histiocytome malin</p> </td> </tr> </table> | <p><u>Chez les enfants :</u></p> <p>-Sarcome à cellules claires</p> <p>-Tumeur rhabdoïde</p> | <p><u>Chez les adultes :</u></p> <p>-Leiomyosarcome</p> <p>- Angiosarcome</p> <p>- Rhabdomyosarcome</p> <p>- Histiocytome malin</p> |
| <p><u>Chez les enfants :</u></p> <p>-Sarcome à cellules claires</p> <p>-Tumeur rhabdoïde</p> | <p><u>Chez les adultes :</u></p> <p>-Leiomyosarcome</p> <p>- Angiosarcome</p> <p>- Rhabdomyosarcome</p> <p>- Histiocytome malin</p> | | |

| | | |
|---|--|---------|
| | -Néphrome mésoblastique congénital -Tumeur rénale ossifiantes | fibreux |
| Tumeurs mixtes épithéliales et mésenchymateuse | Néphron kystique Tumeur mixte épithéliale et stromale Sarcome synovial | |
| Tumeurs hématopoïétiques et lymphoïdes | Lymphome Leucémie Plasmocytome | |
| Tumeurs métastatique | | |

Annexe 2

Les 4 grades de l'échelle de Fuhrman (Rioux-Leclerc et al., 2008)

| <u>Grade</u> | <u>Critères</u> |
|--------------|---|
| G1 | Membranes nucléaires et noyaux ronds et de forme régulière, aspect normal et bon pronostic. |
| G2 | Membranes nucléaires peu irrégulières, noyaux un peu plus gros et visibles, cellules se divisant plus vite et pronostic intermédiaire. |
| G3 | Membranes nucléaires irrégulières, noyaux volumineux et de formes variables, cellules se multipliant rapidement et pronostic intermédiaire. |
| G4 | Membranes nucléaires très irrégulières, noyaux très gros, cellules se multipliant très rapidement et mauvais pronostic. |

Annexe 3

Classification TNM (Camilo et petit, 2016)

| <u>Critères</u> | <u>Description</u> |
|--|--|
| T (tumeur primitive) | <u>T x</u> : la tumeur primitive ne peut être étudiée <u>T 0</u> : il n'ya pas de tumeur primitive <u>T 1</u> : atteinte très limitée <u>T 2</u> : atteinte plus importante (> de 2cm) <u>T 3</u> : atteinte des tissus conjonctif voisins (fixité) <u>T 4</u> : atteinte des organes voisins |
| N (ganglions régionaux) | <u>N x</u> : il n'est pas possible de statuer sur les ganglions <u>N 0</u> : la recherche de ganglions satellites est négative <u>N 1</u> : atteinte minime ganglionnaire des ganglions proximaux <u>N 2</u> : atteinte majeure ganglionnaire des ganglions proximaux <u>N 3</u> : atteinte des ganglions au delà des ganglions proximaux |
| M (présence ou non des métastases) | <u>M x</u> : il n'ya pas d'éléments permettant de statuer sur les métastases <u>M 0</u> : il n'ya pas de métastases à distance <u>M 1</u> : il existe une (ou des) métastases(s) à distance |

Annexe 4

Stade clinique du cancer du rein en fonction de la classification TNM

(Wilfried, 2015)

| <u>Stade</u> | <u>Critères TNM</u> | <u>Description</u> | <u>Survie à 5ans</u> |
|--------------|---------------------|---|----------------------|
| I | T1, N0, M0 | La tumeur fait environ 7 cm de diamètre et reste localisée au rein | 81% |
| II | T2, N0, M0 | La tumeur fait environ 7 cm de diamètre mais reste limitée au rein | 74% |
| III | T3, N0, M0 | La tumeur a englobé une veine majeure (la veine rénale ou la veine cave), ou un tissu proche du rein mais ne pousse pas dans la glande surrénale | 53% |
| | T1-2-3, N1, M0 | Si la tumeur a envahit un ganglion lymphatique voisin de la tumeur, mais n'a pas envahit d'autres organes, le cancer est classé dans le stade III quelque soit la taille de la tumeur primaire | |
| IV | T4, ou N2 ou M1 | Si la tumeur a envahit la glande surrénale, ou si plusieurs ganglions lymphatiques régionaux sont envahis, le patient est classifié dans le stade IV. De même, si d'autres organes sont atteints par des cellules tumorales, c'est-à-dire que des métastases sont détectées, le cancer est automatiquement classé dans le stade IV, et ce, quelque soit la taille de la tumeur primaire et l'atteinte ou non des ganglions lymphatiques | 8% |

Annexe 6

Le protocole d'extraction d'ADN

(Miller *et al.*, 1988)

1. Préparation des leucocytes

- Dans un tube Falcon de 50 ml ; mettre le sang total (7-10 ml) et compléter à 45ml avec du TE. Laisser 10 min dans la glace.
- Centrifuger 15 min à 3900 g (3900 rpm).
- Déverser le surnageant prudemment afin de garder le culot leucocytaire précipité au fond de tube.
- Rajouter le TE 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 (Si on s'arrête à ce niveau, les mettre dans un tube nunc de 15 ml avec du TE et les conserver à - 20°C dans un congélateur).

2. Extraction de l'ADN

- Décongeler les leucocytes.
- Centrifuger pendant 15 min à 3900 rpm
- 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% (100 g SDS + 1000 ml H₂O)
- Ajouter 100 µL de protéinase K (PK) à 10 mg / ml.
- dans l'étuve, Agiter le tube sur une roue rotative à 37°C pendant une nuit.
- Le lendemain ; refroidir dans la glace.
- Ajouter 1 ml de Na Cl 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 formation de la méduse visible a l'oeil 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 nunc (eppendorf) stérile.

3. Solubilisation de l'ADN

- L'ADN est réhydraté en ajoutant entre 300 et 1000 μL de TE 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).
- Pour la réextraction de l'ADN, dans le cas où il est contaminé (par des protéines ou par un ARN), ajouter à la solution d'ADN, 200 μl SDS et 200 μl PK, agiter et laisser dans la roue à une température de 37°C pendant 7 jours, puis déterminer la DO de cette ADN.

**Implication du polymorphisme T3801C du gène *CYP1A1*
dans la genèse du cancer du rein**

**Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique
Moléculaire.**

Résumé

Le cancer du rein représente 3% des cancers humains, dans 85% des cas il s'agit des CCR. Son incidence est en nette augmentation avec une prédominance masculine et un sexe ratio de 1,57.

Les objectifs de notre étude sont d'une part rechercher l'implication de certains facteurs de risque dans la survenue du cancer du rein, ainsi que la détermination des types de CCR les plus fréquents à travers une étude anatomo-pathologique, et d'autre part la recherche d'éventuelles associations entre le polymorphisme T3801C du *CYP1A1* et la survenue du cancer du rein.

Patients et méthodes : 49 patients ont été recrutés pour l'étude statistique et anatomopathologique. 10 patients et 20 témoins ont été prélevés et une extraction de l'ADN a été réalisée par la méthode au NaCl. Le génotypage du polymorphisme T3801C du gène *CYP1A1* a été effectué par une PCR-RFLP.

Résultats : l'étude statistique indique une fréquence élevée du cancer du rein à partir de l'âge de 50 ans, et que le tabac est le facteur de risque le plus incriminé. 5 types histologiques ont été trouvés dans notre échantillon dont la répartition selon la fréquence est : ccRCC, pRCC, chRCC, oncocytome et les carcinomes des TCB.

Les résultats de la comparaison des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme T3801C du *CYP1A1* ont montré une *p value* supérieure à 0,05 ce qui nous laisse suggérer que ce dernier ne représente pas un facteur de risque pour le cancer du rein.

Conclusion : l'effectif de notre population est faible (10 patients), ceci ne nous permet pas d'apporter des résultats formellement concluants, donc il sera nécessaire d'élargir la taille de l'échantillon et les travaux doivent se poursuivre.

Mots clés : cancer du rein, polymorphisme, T3801C *CYP1A1*, PCR/RFLP, facteurs de risque, type histologique.

Laboratoires de recherche : Laboratoire de biologie et génétique moléculaire de l'université de Constantine 3, et laboratoire d'uro-néphrologie Daksi.

Jury d'évaluation :

Président du jury : CHAOUI Naouel (MCA - UFM Constantine 1).
Rapporteur : REZGOUNE Djalila (MCA - UFM Constantine 1).
Examineurs : BECHKRI Sara (MCB - UFM Constantine 1).

Date de soutenance : 04/07/2017