

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'enseignement Supérieure et de la Recherche  
Scientifique



Université ABDERRAHMANE MIRA-Bejaïa  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Physico-Chimique

## **Mémoire de Master**

Filière : Biologie

Option : Génétique Appliquée

### **Thème**

**Etude comparative des profils  
protéiques sanguins et urinaires des  
patients atteints de tumeurs  
cérébrales**

**Présenté par : M<sup>elle</sup> MEZIANI Rezkia**

**Encadré par : D<sup>r</sup> GHIDOUCHE A.**

**Devant les membres de jury :**

Président: M<sup>r</sup> BRIBI N.

Examineur: M<sup>r</sup> BOUGUEZZA Y.

Examineur: M<sup>r</sup> HARFI T.

2012/2013





## **REMERCIEMENTS**

*Au terme de ce travail, je tiens à remercier d'abord, le bon Dieu de m'avoir donné le courage et la patience pour le finir.*

*Je remercie :*

*Le service neurochirurgie du CHU khalil Amrane qui m'a permis d'utiliser ses échantillons.*

*L'équipe du laboratoire d'enzymologie de m<sup>me</sup> Khettal B.*

*L'équipe de laboratoire de chimie industrielle qui m'a donné la chance de faire le test de la spectroscopie IR-TF.*

*Les membres de jury d'avoir accepté d'évaluer mon travail*

*Et je remercie de tout mon cœur mon promoteur D<sup>r</sup> GHIDOUCHE A. qui m'a beaucoup aidé, merci pour votre compréhension et votre aide.*

*Merci pour ma famille et tous mes amis.*

**M-k**

# Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mes chers parents qui m'ont toujours encouragé tout au long de mes études.*

*A mes chers frères M<sup>D</sup> Said et Salah (l'américain)*

*A mes chères sœurs Saida(Aia), Atika(Ta3ta), Ouzna (Bizbi), Meriem (Millo), Dalila (Madame La France) et Taous (Taw)*

*A mon très cher neveu Yasser (A3zouzou)*

*A toute ma famille.*

*A tous mes amis : Ouahiba, Lynda (Guech Guech), Dalila (Musdano), Yamina (Mimi), Samira, Tina, Nedjma , Aziz (DBK), Omar ,Nabil, Sofiane et les autres.*

*A Toute La Promotion Génétique : Sahra, Souhila, Linda, Yasmine, Tutu, Faty, Lila, Samiha,, Nabil, Mahdi, Sida Li, Sakina, Salma, Assia , Nabila et Samira (Samy) et Moi Même*

*Sans oublier mon promoteur D<sup>r</sup> GHIDOUCHE A.*

# ***SOMMAIRE***

**Liste des figures.**

**Liste des tableaux.**

**Liste des abréviations.**

**Problématique..... 1**

**Introduction.**

I. Le cerveau ..... 2

I.1. Anatomie ..... 2

I.2. Histologie ..... 4

I.2.1. Les neurones ..... 4

I.2.2. Les gliocytes ..... 5

I.2.3. La barrière hématoencéphalique ..... 7

II. Généralités sur les tumeurs..... 8

II.1. Les caractéristiques des cellules tumorales ..... 8

II.2. Les bases moléculaires des cancers ..... 10

II. 2.1. Les oncogènes..... 11

II.2.2. Les gènes suppresseurs des tumeurs..... 11

II.2.3. Les gènes de maintien de l'intégrité de génome..... 12

II.3. Les marqueurs tumoraux ..... 12

II.3.1. Définition ..... 12

II.3.2. caractéristiques des marqueurs tumoraux..... 14

II.3.3. L'intérêt des marqueurs tumoraux ..... 14

II.3.4. Classification des marqueurs tumoraux..... 15

II.3.5. Exemples de quelques marqueurs tumoraux ..... 16

II.4. le cancer ..... 17

II.4.1. Définition ..... 17

II.4.2. le processus de la cancérogénèse .....	19
II.4.2.1. La phase d'initiation .....	19
II.4.2.2. La phase de promotion .....	19
II.4.2.3. La phase de progression .....	20
II.4.2.4. La phase d'invasion .....	20
II.4.3. Les tumeurs cérébrales .....	20
II.4.3.1. Définition .....	20
II.4.3.2. Les symptômes .....	21
II.4.3.3. Classification .....	21
II.4.3.4. les tumeurs cérébrales à l'échelle moléculaire .....	22
II.4.3.4.1. Répression des gènes suppresseurs .....	23
II.4.3.4.2. Activation des oncogènes .....	27
II.4.3.4.3. La perte de la sénescence réplivative .....	29
II.4.3.4.4. La perte d'hétérozygotie (LOH) .....	29
II.4.3.4.5. O <sup>6</sup> methylguanine-methyltransférase (MGMT) .....	30
II.4.3.5. Les marqueurs des tumeurs cérébrales .....	31
III. Les liquides biologiques .....	32
III.1. Le sang .....	32
III.2. Les urines .....	35
III.3. La filtration de sang et la formation des urines .....	35
III.3.1. L'anatomie des reins.....	35
III.3.2. Le rôle des reins .....	36
III.3.3. La formation des urines .....	36
<b>Les méthodes d'analyse protéiques.</b>	
I. Les méthodes colorimétriques .....	38
I.1. La méthode de Biuret.....	38
I.2. La méthode de Lowry .....	38

I.3. La méthode de Bradford .....	39
I.3.1. Principe .....	39
I.3.2. Les solutions utilisées .....	40
II. Méthode non colorimétrique .....	41
II.1. La chromatographie .....	41
II.2. L'électrophorèse.....	42
II.3. La spectroscopie de masse.....	42
II.4. la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IF-TR).....	43
II.4.1. Principe .....	43
II.4.2. Les avantages.....	45
<b>Partie pratique et résultats.</b>	
I. Préparation des échantillons et des solutions.....	46
I.1. Préparation des solutions .....	46
I.2. Préparation des échantillons .....	46
II. La méthode de Bradford .....	47
II.1. La courbe d'étalonnage .....	47
II.2. Le dosage des protéines dans les échantillons de sang et des urines.....	48
III. La spectroscopie IR-TF .....	51
<b>Discussion et conclusion.</b>	
Discussion et conclusion .....	58
<b>Références bibliographiques.</b>	



## *LISTE DES FIGURES*

<b>Figure 1 :</b> Vue latérale de l'hémisphère cérébral droit.....	3
<b>Figure 2 :</b> Représentation schématique d'un neurone .....	5
<b>Figure 3 :</b> Les gliocytes du système nerveux centrale.....	6
<b>Figure 4 :</b> Les caractéristiques des cellules tumorales .....	8
<b>Figure 5 :</b> Les bases moléculaires de développement d'un cancer .....	11
<b>Figure 6 :</b> La représentation en pourcentage des principaux marqueurs tumoraux dosés.....	14
<b>Figure 7 :</b> Graphique d'utilisation des marqueurs tumoraux.....	15
<b>Figure 8 :</b> La théorie de Knudson dans le développement des tumeurs.....	18
<b>Figure 9 :</b> Altérations génétiques impliquées dans la progression des tumeurs gliales .....	23
<b>Figure 10 :</b> La régulation du cycle cellulaire par les voies Rb et p53.....	24
<b>Figure 11 :</b> La voie de signalisation p53/MDM2/p14 <sup>ARF</sup> .....	25
<b>Figure 12 :</b> La voie de signalisation Rb/cycline/CDK/p16 <sup>INK4A</sup> .....	26
<b>Figure 13 :</b> Rôle de PTEN sur la prolifération et la migration cellulaire .....	27
<b>Figure 14 :</b> Les mécanismes génétiques de l'activation d' EGF-R.....	28
<b>Figure 15 :</b> Voies de signalisation PDGF/PDGF-R. ....	29
<b>Figure 16 :</b> Effet de la méthylation du promoteur de MGMT sur la chimiosensibilité aux agents alkylants. ....	30
<b>Figure 17 :</b> Les principaux constituants du sang.....	33
<b>Figure 18 :</b> Technique de préparation du plasma .....	34
<b>Figure 19 :</b> Les principales protéines sériques .....	34
<b>Figure 20 :</b> Liaison de biuret à Cu 2+ dans un milieu très alcalin.....	38
<b>Figure 21 :</b> Structure d'une molécule du bleu de coomassie.....	40

<b>Figure 22 : Principe de HPLC</b> .....	42
<b>Figure 23 : Principe de la spectroscopie IF-TR</b> .....	44
<b>Figure 24 : Le devenir des radiations IR émises</b> .....	45
<b>Figure 25 : Conversion d'interférogramme en spectre</b> .....	45
<b>Figure 26 : La courbe d'étalonnage à 595 nm</b> .....	48
<b>Figure 27 : Résultat de profil de l'échantillon des urines 106-2013</b> .....	52
<b>Figure 28 : Résultat du profil de l'échantillon de sang 41-2013</b> .....	53
<b>Figure 29 : Résultats des profils de tous les échantillons des urines.</b> .....	54
<b>Figure 30 : Résultats des profils de tous les échantillons de sang</b> .....	55

# ***LISTE DES TABLEAUX***

<b>Tableau I</b> : les marqueurs biologiques associés aux différents types tumoraux .....	13
<b>Tableau II</b> : Conséquences des principales altérations génétiques sur le développement du phénotype tumoral .....	22
<b>Tableau III</b> : Quelques changements métaboliques au cours des tumeurs cérébrales .....	31
<b>Tableau IV</b> : Le numéro, l'âge et le sexe de chaque patient atteint d'une tumeur cérébrale .....	46
<b>Tableau V</b> : Répartition des patients par tranche d'âge .....	47
<b>Tableau VI</b> : Les absorbances de la gamme étalon mesurées à 595 nm .....	47
<b>Tableau VII</b> : L'absorbance et la concentration de chaque échantillon de sang .....	49
<b>Tableau VIII</b> : L'absorbance et la concentration de chaque échantillon des urines.....	49
<b>Tableau IX</b> : présence ou absence du pic ( $1100-1000\text{cm}^{-1}$ ) dans les profils de sang et des urines de chaque patient .....	56
<b>Tableau X</b> : Tableau récapitulatif des résultats de la méthode de Bradford et la spectroscopie IR-TF .....	57
<b>Tableau XI</b> : Type, localisation et volume de la tumeur de chaque patient .....	60

## ***LISTE DES ABREVIATIONS***

- ACE** : Antigène carcino-embryonnaire.
- ADH** : l'hormone antidiurétique.
- AFP** : Alphafoetoprotéine.
- AH**: Acide Hyaluronique.
- ATM**: Ataxia-telangiectasia-mutated.
- ATR**: Ataxia-telangiectasia-released.
- BHE**: Barrière hématoencéphalique.
- CA**: Antigène de cancer.
- CDK** : kinase dépendante des cyclines.
- CKi** : Protéines inhibitrices des CDK.
- CYFRA**: cytokératine fragment.
- DHFR** : Dihydrofolate réductase.
- EDTA**: Acide éthylène diamine tetra-acétique.
- EGF**: Facteur de croissance épithélial.
- EGFR**: Récepteur de facteur de croissance épithélial.
- EPO**: érythropoïétine.
- FAK**: Focal Adhesion Kinase.
- FDP**: Fibrin/Fibrinogen Degradation Products.
- GFAP**: Protéine Glio-Fibrillaire Acide.
- HCG $\beta$**  : Béta- hormone chorionique gonadotrope.
- LCR**: Liquide céphalo-rachidien.
- LOH**: Loss of heterozygosity.
- MGMT**: O<sup>6</sup>-méthylguanine-méthyltransférase.
- NSE** : Neurone spécifique enolase.
- OMS**: Organisation Mondiale de la Santé.
- PAP** : Phosphatase acide prostatique.
- PDGF**: Platelet Derived Growth Factor.
- PSA** : Antigène spécifique de la prostate.
- PTEN**: phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten.
- Rb**: Rétinoblastome.

**SN:** Système nerveux.

**SNC:** Système nerveux central.

**SNP:** Système nerveux périphérique.

**SOS:** Son of sevenless.

**SRM:** spectroscopie par résonance magnétique.

**TAF:** tumor angiogenesis factor.

**TCT:** Thyro-calcitonine.

**TRF-1:** Factor Regulator Telomerase-1.

**VEGF:** vascular epithelial growth factor.

Le cancer est une maladie grave, cela correspond à toutes tumeurs malignes qui s'étendent rapidement et ont la capacité de métastaser. On admet que le cancer se développe quand l'équilibre est rompu entre les mécanismes de défense de l'organisme et les forces qui provoquent l'anarchie cellulaire (**Krutovskikh et Partensky, 2011**). Ces dernières sont multiples et imparfaitement connues : terrain héréditaire, facteurs d'environnement,...etc. Puisque le cerveau est le centre de la régulation et de la communication de l'organisme, les tumeurs cérébrales qui se développent ont pour conséquences des complications graves engendrant la mortalité et la morbidité.

Afin de diminuer les complications cancéreuses et d'améliorer le mode de vie des patients, plusieurs techniques de diagnostic et de pronostic ont été développées dont on cite le dosage des marqueurs tumoraux dans les liquides biologiques tels que le sang, les urines et le LCR. La récupération du LCR est difficile. Du fait de l'état physiologique du patient atteint d'une tumeur, il est déconseillé de lui prélever des quantités importantes du sang pour lui faire des analyses, mais les urines sont le fluide biologique le plus facile à récupérer puisque le patient fait ces besoins quotidiennement sans provoquer l'aggravation de son état clinique.

Ainsi, de notre étude nous proposons l'étude comparative du sang et urines de patients atteints de tumeurs cérébrales. Afin de pouvoir potentiellement identifier de nouveaux marqueurs ou profils aidant au diagnostic et pronostic des patients.

# INTRODUCTION

## I. Le cerveau

Le système nerveux (SN) est le centre de la régulation et de la communication de l'organisme (**Marieb, 1999**). Sur le plan anatomique il comprend deux grandes divisions : le système nerveux central (SNC) et le système nerveux périphérique (SNP) (**Di Marino et al., 2011**).

Le SNC correspond à deux structures différentes : l'encéphale et la moelle épinière (Lang, 2000a), tandis que le SNP représente l'ensemble des nerfs crâniens, les nerfs spinaux et les ganglions (**Vallat et Magy, 2005**).

- ❖ L'encéphale; du grec ; *en* : dedans, *képhalê* : tête. Situé à l'abri de la boîte crânienne (**Drake et al., 2006**), il est composé du cerveau, cervelet et le tronc cérébral (**Marieb, 1999**).
- ❖ Le cerveau : du latin *cerebrum*. Est la structure la plus complexe que l'on connaisse (**Rouleau, 2009**) et la principale de l'encéphale. C'est une masse de tissu gris rosâtre plissé et mou d'environ 1,4Kg (**Marieb, 1999**), composé d'environ 80% d'eau lui conférant ainsi un aspect gélatineux, il est capable d'assurer des opérations complexes telles que la perception visuelle, la discrimination auditive, la compréhension du langage, ...etc (**Schnider, 2008**). Donc on peut résumer son rôle comme gardien de nos souvenirs et pensées et le moteur de nos comportements (**Marieb, 1999**).

### I.1. Anatomie

Le cerveau se compose de deux structures différentes : le télencéphale et le diencephale (**Di Marino et al., 2011**).

#### ❖ Le télencéphale

Est la partie la plus grosse du cerveau et représente 83% de la masse de l'encéphale, contenant plus de 15 milliards de neurones et 50 milliards de cellules gliales. Le télencéphale correspond à deux hémisphères cérébraux : droit et gauche, séparés par une scissure interhémisphérique (**Rouleau, 2009**), il est composé de deux parties différentes : périphérique et centrale (**Marieb, 1999**).

Le cortex cérébral est la partie périphérique du télencéphale, est une couche mince de 2 à 5 mm de la substance grise (**Rouleau, 2009**) qui correspond aux corps cellulaires des

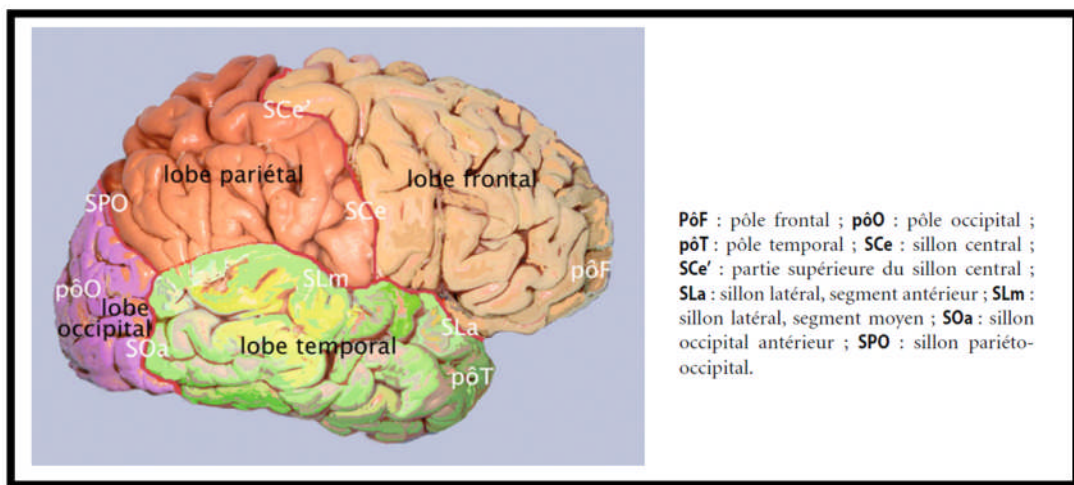


neurones (Di Marino et al., 2011) ; la structure du cortex des deux hémisphères est presque symétrique, mais les deux hémisphères ne sont pas absolument égaux sur le plan fonctionnel.

La substance blanche représente la partie centrale du télencéphale, elle est constituée à partir des prolongements axonaux et de la gaine de myéline, contenant ainsi des noyaux basaux qui correspondent aux neurofibres myélinisées regroupées en faisceaux (Marieb, 1999).

#### o Les différents lobes du cortex cérébral

Les sillons primaires profonds séparent le cortex de chaque hémisphère en Cinq lobes : frontal, pariétal, occipital, temporal et insulaire. Le sillon latéral appelé aussi scissure de Sylvius sépare le lobe temporal du lobe frontal et pariétal, le sillon central ou scissure de Rolando sépare le lobe frontal et le lobe pariétal, le sillon pariéto occipital sépare le lobe occipital des lobe pariétal et temporal (Hasboun, 2003). La **figure 1** montre quatre lobes frontal, pariétal, occipital et temporal du cortex cérébral d'un hémisphère droit (Di Marino et al., 2011).



**Figure 1:** Vue latérale de l'hémisphère cérébral droit (Di Marino et al., 2011).

*Les sillons primaires divisent le cortex cérébral en lobes. Le lobe de l'insulaire n'est pas mentionné, il est recouvert par des parties des lobes frontal, pariétal et temporal on le trouve en écartant la scissure de Sylvius.*

#### ❖ Le diencéphale

Le diencéphale se trouve au centre du cerveau et enfoui dans les structures télencéphaliques. Il est composé essentiellement de trois structures : le thalamus, l'épithalamus et l'hypothalamus (Marieb, 1999).

## I.2. Histologie

Le cerveau est composé de deux types de cellules : les neurones et les gliocytes (Marieb, 1999).

### I.2.1. Les neurones

Le neurone est l'unité structurale et fonctionnelle du système nerveux. En effet, les neurones sont hautement spécialisés, ils communiquent entre eux au niveau des synapses (Lang, 2000a). Ils reçoivent, traitent et acheminent les messages sous forme d'influx nerveux entre les différentes parties du corps (Marieb, 1999).

#### ❖ Les caractéristiques des neurones

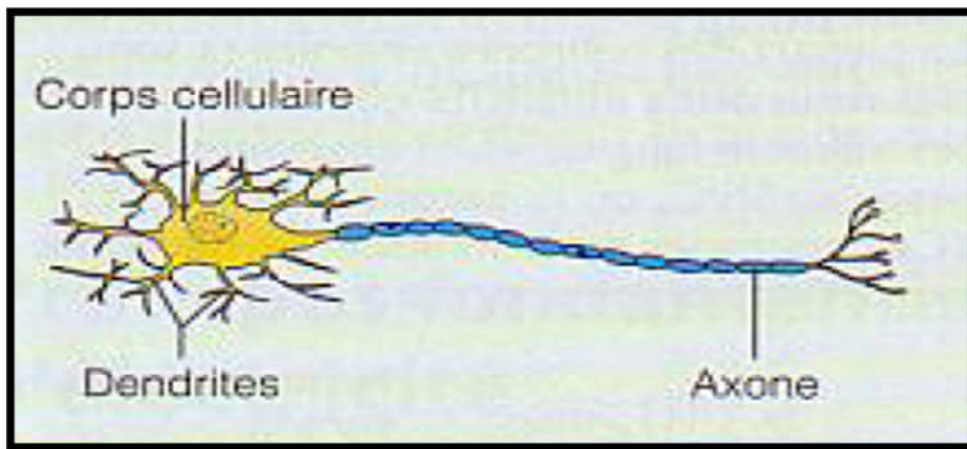
- Le neurone est la cellule la plus longue du corps humain.
- Ils ont une longévité extrême : ils peuvent vivre et fonctionner tout au long de la vie s'ils reçoivent une bonne nutrition;
- Ils sont étroitement associés à des gliocytes (Seigneurin, 2007).

#### ❖ La structure des neurones

La cellule nerveuse est composée de trois structures fonctionnelles : sécrétrice, conductrice et réceptrice représentées dans la **figure 2** (Marieb, 1999).

- L'unité sécrétrice : correspond au corps cellulaire d'un diamètre de 5 à 140  $\mu\text{m}$ , c'est le centre biosynthétique des neurones, il contient un gros noyau sphérique et les organites habituels à l'exception des centrioles (Marieb, 1999) ;
- L'unité conductrice : la plupart des neurones ont un seul axone (Seigneurin, 2007) qui est issu de prolongement d'une région conique du corps cellulaire (cône d'implantation). C'est un mince prolongement dont le diamètre reste uniforme jusqu'à son extrémité. L'axone se ramifie en formant des télodendrons qui se terminent par des extrémités bulbeuses, se sont les corpuscules nerveux terminaux (André et al., 2008) qui comportent des vésicules contenant des neurotransmetteurs (Lang, 2000a). Les axones sont recouverts par la gaine de myéline qui est une substance blanchâtre, segmentée de nature lipidique ; cette substance protège les axones, les isole électriquement les uns des autres et elle accroît la vitesse de transmission de l'influx nerveux (Marieb, 1999) ;

- L'unité réceptrice : représente les dendrites, courts prolongements (Silbernagl, 2000) dotées de mêmes organites que le corps cellulaire (Marieb, 1999).



**Figure 2 :** Représentation schématique d'un neurone (Marieb, 1999).

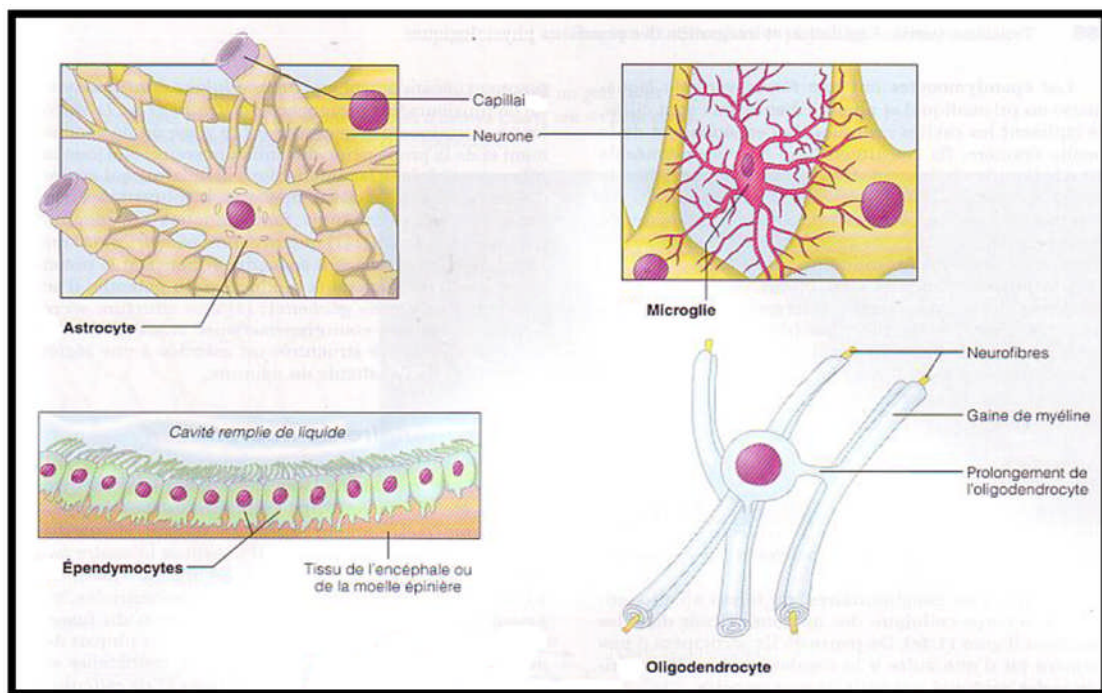
*L'unité sécrétrice est le corps cellulaire qui porte des prolongements courts, les dendrites, représentant l'unité réceptrice, et un prolongement axonal correspondant à l'unité conductrice.*

### I.2.2. Les gliocytes

Le tissu nerveux nécessite un tissu d'environnement : la glie, dont on distingue deux types : la glie centrale qui correspond aux gliocytes du SNC et la glie périphérique qui correspond aux cellules gliales du SNP (Seigneurin, 2007).

Les gliocytes du SNC sont des petites cellules non excitables, elles sont nombreuses, environ dix fois plus que les neurones. Elles possèdent un corps cellulaire central et des prolongements ramifiés et entourent les cellules nerveuses (André et al., 2008).

Il existe quatre types dont chacun assure une fonction particulière, mais, en général, les gliocytes ont pour fonction de soutenir et de protéger les neurones. La **figure 3** montre les gliocytes du système nerveux central (Marieb, 1999).



**Figure 3:** les cellules gliales du système nerveux central (Marieb, 1999).

*La glie centrale correspond aux : astrocytes qui émettent des prolongements en se liant aux capillaires et aux neurones, les oligodendrocytes en myélinisant les neurones, les épendymocytes en recouvrant les cavités ventriculaires et les microglies en protégeant les neurones.*

- **Les astrocytes :** Se sont les gliocytes les plus abondants (Marieb, 1999) elles représentent 50% des cellules gliales (Haberer et al., 2010), ces cellules sont volumineuses et étoilées (Seigneurin, 2007). Les astrocytes participent à la formation de la barrière hémato-encéphalique (BHE) (Rouleau, 2009), ils sont formés d'un corps cellulaire et des prolongements cytoplasmiques. Le cytoplasme des astrocytes est riche en GFAP (Protéine Glio-Fibrillaire Acide) et de grains de glycogènes, ce stocke constitue la principale réserve énergétique cérébrale (André et al., 2008);
- **Les oligodendrocytes :** Ils possèdent un corps cellulaire de petite taille d'où partent des prolongements cytoplasmiques plats assurant la myélinisation des axones (André et al., 2008) ;
- **Les microglies:** Les microglies sont de petites cellules ovoïdes qui contiennent des prolongements épineux (Seigneurin, 2007). Ces cellules ont un rôle dans le maintien de l'intégrité des neurones : lorsque les microglies détectent des microorganismes étrangers ou des neurones morts, elles se transforment en macrophages qui phagocytent les microorganismes et les débris des neurones (Marieb, 1999) ;

○ **Les épendymocytes :** Les épendymocytes sont des cellules ciliées de différentes formes, elles constituent un épithélium cilié assurant le revêtement des cavités ventriculaires (**Marieb, 1999**), il s'agit d'une barrière perméable qui joue un rôle dans les échanges entre le liquide céphalo-rachidien (LCR) et le liquide interstitiel où baignent les cellules du SNC (**André et al., 2008**).

### **I.2.3. La barrière hématoencéphalique (BHE)**

Contrairement aux autres tissus de l'organisme, le tissu nerveux de l'encéphale a besoin d'un milieu interne constant pour bien fonctionner. La maintenance de l'homéostasie de ce milieu est réalisée grâce à un système biologique complexe, la barrière hématoencéphalique (BHE). Cette barrière est absente au niveau de l'hypothalamus et les plexus choroïdes et incomplète chez les nouveau-nés (**Marieb, 1999**).

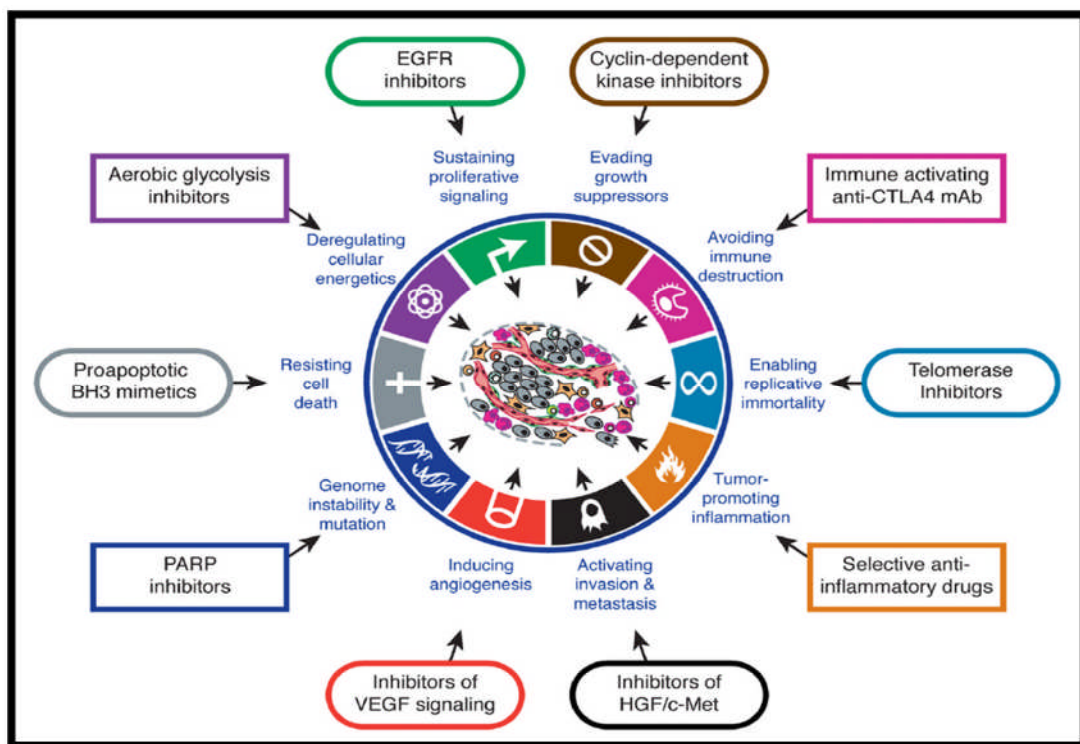
La BHE est formée à partir d'un endothélium continu de la paroi du capillaire, une lame basale épaisse entourant la face externe du capillaire et les pieds bulbeux des astrocytes qui se lient aux capillaires et aux neurones (**Liu et al., 2011**).

Les cellules endothéliales des capillaires cérébraux sont reliées par des jonctions serrées en formant les capillaires les plus imperméables de l'organisme, cette caractéristique permet à la BHE de fonctionner d'une manière sélective : Les molécules hydrophiles d'un poids moléculaire supérieur à 600 Da ne passent pas à travers cette barrière tandis que les molécules liposolubles la franchissent passivement. C'est ce qui permet le passage du glucose, des acides aminés essentiels et quelques électrolytes et le largage des déchets du métabolisme (urée, créatine), des toxines et plusieurs médicaments (**Marieb, 1999**).

## II. Généralités sur les tumeurs

### II.1. Les caractéristiques des cellules tumorales

La cancérogénèse nécessite l'acquisition de nouvelles compétences par les cellules normales (Méjean et Lebret, 2008) ; en 2000, Hanahan et Weinbergen ont classé ces nouvelles capacités des cellules cancéreuses en six catégories (Méjean et Lebret, 2010), suite à l'évolution de l'oncologie, quatre autres caractéristiques ont été mises en évidence par les mêmes chercheurs en 2011. La **figure 4** représente les dix caractéristiques des cellules tumorales (Hanahan et Weinbergen, 2011).



**Figure 4 :** Les caractéristiques des cellules tumorales (Hanahan et Weinbergen, 2011).

Chacune des dix caractéristiques acquises par les cellules tumorales joue un rôle important dans le processus de la cancérogénèse.

Ces caractéristiques sont les suivantes :

- **Indépendance aux signaux de prolifération :** les cellules tumorales produisent les facteurs d'activation des voies de signalisations mitotiques et leur récepteurs tels que : Epithelial Growth Factor (EGF) et son récepteur EGFR ; les cellules tumorales se

caractérisent aussi par des voies de signalisation proliférative actives d'une manière permanente (Méjean et Lebret, 2008);

- **Insensibilité aux signaux antiprolifératifs** : cette caractéristique est développée suite à l'altération des voies de signalisation impliquant les protéines exerçant un contrôle négatif sur la progression du cycle cellulaire telle que l'altération de la voie de la protéine rétinoblastome (Rb). Cette dernière peut être réprimée suite à la surexpression des cyclines (Méjean et Lebret, 2010);
- **Echappement à l'apoptose** : au niveau de la cellule tumorale les protéines impliquées dans le déclenchement de l'apoptose sont réprimées, c'est le cas de répression de la protéine p14 (Hanahan et Weinbergen, 2000) ;
- **Potentiel prolifératif illimité** : les cellules tumorales perdent la sénescence répllicative grâce à la surexpression de la télomérase qui empêche le raccourcissement des chromosomes. (Hanahan et Weinbergen, 2012) ;
- **Activation de l'angiogénèse** : au stade pré-invasif, la tumeur est avasculaire (Méjean et Lebret, 2008) et elle ne dépasse pas 2 à 3 mm<sup>3</sup>, ses besoins en éléments nutritifs et en oxygène ainsi que l'élimination de ses déchets sont assurés par la diffusion. Lorsque la vascularisation devient incapable de soutenir le nombre croissant des cellules tumorales, des facteurs de l'angiogénèse tumorale TAF (tumor angiogenesis factor) interviennent pour former de nouveaux vaisseaux à partir du réseau vasculaire préexistant (Chabannes et al., 2001).
- **Invasion et dissémination métastatique** : les cellules tumorales synthétisent des facteurs qui stimulent la transition épithélio-mésenchymateuse permettant l'invasion et la formation de métastases (Boiteux, 2008).
- **Susceptibilité importante aux dommages de l'ADN** : les cellules cancéreuses ont une grande instabilité génomique favorisée par leur multiplication illimitée et l'altération des systèmes de réparation des lésions de l'ADN (Hanahan et Weinbergen, 2012) ;
- **Dérégulation du métabolisme énergétique** : les cellules cancéreuses augmentent l'expression des gènes codant pour les transporteurs du glucose, afin de maintenir leur croissance et leur prolifération (Hanahan et Weinbergen, 2011) ;
- **Echappement au système immunitaire** : la cellule cancéreuse échappe au contrôle exercé par le système immunitaire en sécrétant notamment des facteurs

immunosuppresseurs ou en recrutant des cellules inflammatoires dotées d'une activité immunosuppressive comme les lymphocytes T suppresseurs (**Hanahan et Weinbergen, 2011**) ;

- **Amplification du processus de la cancérogénèse due à l'inflammation :** L'inflammation contribue à l'amplification du processus de la cancérogénèse en fournissant au microenvironnement tumoral des molécules bioactives telles que des facteurs de croissance ou des facteurs pro-angiogéniques (**Hanahan et Weinbergen, 2012**).

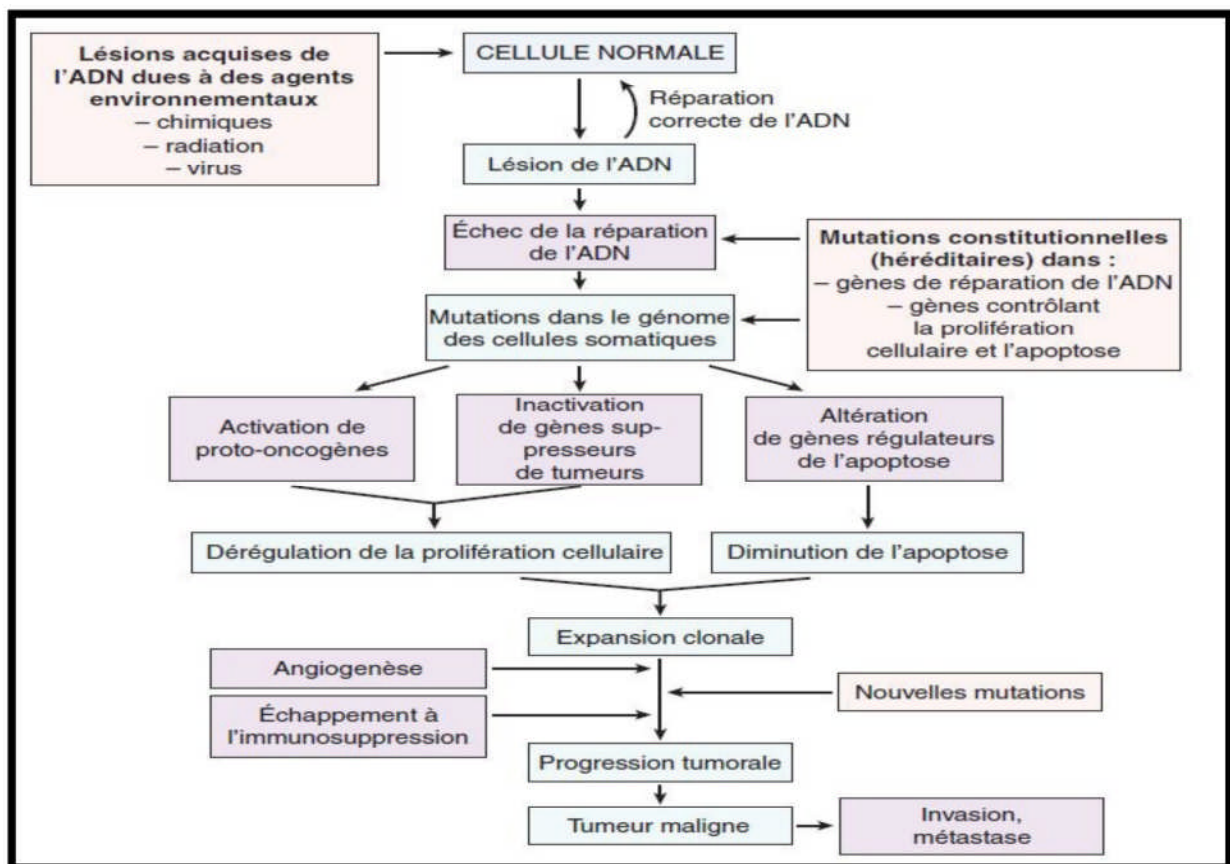
## **II.2. Les bases moléculaires des cancers**

Le cancer est une maladie complexe qui peut impliquer plusieurs gènes, il peut avoir une origine génétique ou environnementale (**Baldi et al., 2008**).

La prédisposition génétique est un point important dans l'oncologie moléculaire. En effet, chaque cancer est le résultat d'une combinaison de causes environnementales et héréditaires (**Jeanteur et al., 1990**).

Des agents exogènes (UV, fumée de cigarette,...) ou endogènes (radicaux libre,...) endommagent ADN de la cellule (**Baldi et al., 2008**), ce phénomène a comme conséquences : activation des proto-oncogènes, inactivation des gènes suppresseurs des tumeurs et les gènes de réparation de l'ADN. La **figure 5** montre les bases moléculaires du développement d'un cancer (**Wiebrands, 2010**)





**Figure 5 :** Les bases moléculaires de cancer (Wiebrands, 2010).

*Des lésions acquises non réparées et des mutations héréditaires sont à l'origine de la formation d'une cellule tumorale suite à dérégulation d'un ou de plusieurs gènes de régulation du cycle cellulaire. L'expansion clonale et l'acquisition de nouvelles caractéristiques par cette cellule tumorale engendrent le développement d'un cancer.*

### II.2.1. Les oncogènes

Les oncogènes sont des gènes qui provoquent une prolifération tumorale (Jeanteur et al., 1990), se sont des formes altérées de gènes normaux d'origine cellulaire, les proto-oncogènes, mutés au cours de leur répliation. Au niveau de la cellule tumorale les oncogènes ont une action dominante (Stoppa-Lyonnet et al., 2010); l'altération d'un seul allèle est suffisante pour un gain de fonction et à la contribution au phénotype tumoral (Krutovskikh et Partensky., 2011).

### II.2.2. Les gènes suppresseurs des tumeurs

Un gène suppresseur des tumeurs est un inhibiteur de la croissance cellulaire, il s'agit d'un gène récessif où l'altération des deux allèles est nécessaire pour la perte de la fonction du

produit de ce gène, ce qui se traduit alors par l'absence du signal de non prolifération (Stoppa-Lyonnet et al., 2010).

### **II.2.3. Les gènes de maintien de l'intégrité du génome**

Les gènes de maintien de l'intégrité du génome codent pour un complexe multi-fonctionnel capable d'assurer la maintenance de l'intégrité du génome. L'altération des deux allèles de ces gènes conduit à une susceptibilité accrue au phénomène de l'apoptose ou au développement d'un cancer (Stoppa-Lyonnet et al., 2010).

## **II.3. Les marqueurs tumoraux**

Dans l'organisme, de nombreuses protéines sont présentes où leurs concentrations varient en fonction de l'état physiologique ou pathologique de l'individu (Violettes, 2006).

Le cancer est un exemple des cas pathologiques qui influencent le contenu de l'organisme en protéines et leurs concentrations. Les biomolécules produites par les cellules tumorales sont nommées : marqueurs tumoraux (Dubois, 2008).

### **II.3.1. Définition**

Un marqueur tumoral est une molécule synthétisée par la tumeur ou le tissu environnant (Legrand et al., 2008), ce paramètre moléculaire se rencontre sur le tissu tumoral ou dans les liquides biologiques tels que le sang et les urines (Rigaud et al., 2002) dont la concentration varie en fonction de stade de développement de la tumeur (Lavner et al., 2000).

Les marqueurs tumoraux sont différents des molécules synthétisées par les tissus sains (Leininger-Muller, 2012), ils peuvent être des molécules modifiées qualitativement ou quantitativement exprimées dans différents cancers (Mohamed, 2010), ou des molécules spécifiques d'une origine tissulaire précise (tableau I).

**Tableau I :** les marqueurs biologiques associés aux différents types tumoraux. (Mohamed, 2010)

Pathologie	Type de marqueur utilisable	Nom de marqueur
Tumeurs du colon et du rectum	ACE, CA 19.9	Antigène carcino-embryonnaire, cancer antigen 19.9
Tumeurs de l'estomac et du pancréas	ACE, CA 19.9	Antigène carcino-embryonnaire, cancer antigen 19.9
Tumeurs du sein	ACE, CA 15.3	Antigène carcino-embryonnaire, cancer antigen 15.3
Tumeurs de la prostate	PSA, PAP	Antigène spécifique de la prostate Phosphatase acide prostatique
Tumeurs de l'ovaire	CA 125, ACE	cancer antigen 125 Antigène carcino-embryonnaire
Tumeurs de l'appareil de reproduction -tumeurs de testicule -tumeurs germinales de l'ovaire -tumeurs placentaires	AFP B HCG B HCG	Alphafœtoprotéine Béta- hormone chorionique gonadotrope
Tumeurs bronchiques primitives -adénocarcinomes -cancer à petites cellules -cancer épidermoïdes	ACE NSE	Antigène carcino-embryonnaire Neurone spécifique enolase
Tumeur du foie	AFP	Alphafœtoprotéine
Tumeurs de la thyroïde -cancer médullaire de la thyroïde -épithélioma cellulaire de la thyroïde	TCT, ACE Thyroglobulines	Thyro-calcitonine Antigène carcino-embryonnaire
Myélome multiple	Immunoglobulines Béta 2 Microglobulines	

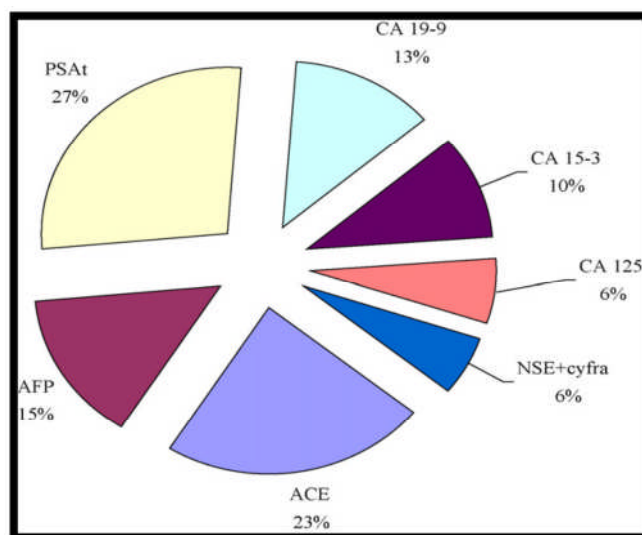
### II.3.2. Caractéristiques des marqueurs tumoraux

Un marqueur tumoral typique se caractérise par :

- La spécificité : pour éviter les mauvaises explorations d'un organe sain ;
- La sensibilité : afin d'éliminer le risque d'ignorer une tumeur maligne (**Campos-Fernandes et al., 2007**).

### II.3.3. L'intérêt des marqueurs tumoraux

L'étude et le dosage des marqueurs tumoraux ont contribué à une avancée considérable en oncologie (**Lavner et al., 2000**). Les principaux marqueurs dosés sont représentés dans la **figure 6** ci-dessous (**Leban et al., 2008**).

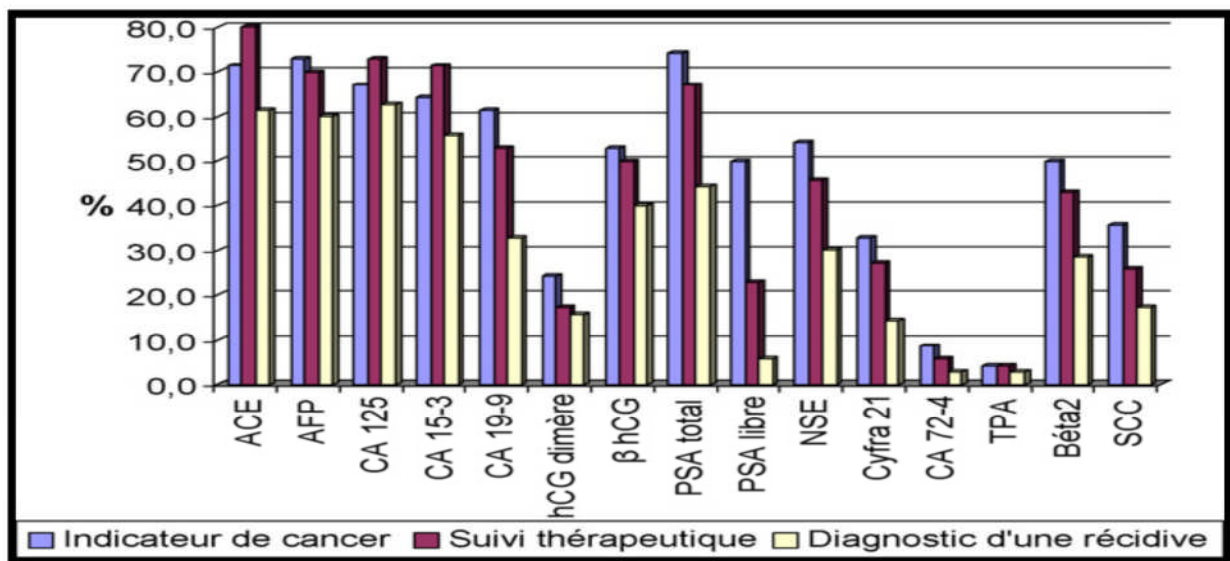


**Figure 6 :** La représentation en pourcentage des principaux marqueurs tumoraux (**Leban et al., 2008**).

*Les marqueurs tumoraux les plus dosés sont : PSA (27%) et ACE (23%) puisque le cancer le plus abondant chez les mâle est celui de prostate et chez les femelle est celui de sein.*

Comme il est montré dans la **figure 7**, les marqueurs tumoraux ont trois modes d'utilisation (**Leban et al., 2008**) :

- L'identification histologique de la tumeur (**Guepratte et al., 2002**) ;
- Le diagnostic précoce des récives;
- L'efficacité thérapeutique (**Riedinger, 2009**).



**Figure 7 :** Graphique d'utilisation des marqueurs tumoraux (Leban et al., 2008).

L'indication de cancer et le suivi thérapeutiques sont les modes d'utilisation dont les pourcentages sont plus élevés pour tous les marqueurs tumoraux ; les pourcentages les plus élevés pour ces trois modes sont : plus de 70% (PSA) pour l'indication de cancer, 80% (ACE) pour le suivi thérapeutique et plus de 60% (CA 125) pour le diagnostic d'une récurrence.

### II.3.4. Classification des marqueurs tumoraux

Les marqueurs tumoraux sont divisés en deux types :

- ❖ **Les marqueurs de fonction :** ils peuvent être des hormones telles que hCG-β, des enzymes comme NSE (Neurone Spécifique Enolase) ou des composants cellulaires (kératine) (Lavner et al., 2000) ;
- ❖ **Les marqueurs d'immunité :** il ya deux groupes des marqueurs d'immunité
  - ✓ Les antigènes des tumeurs : CA 19.9, CA 125, CA 15.3...etc
  - ✓ Les oncogènes onco-fœtaux : ACE, AFP (Legrand et al., 2008).

### II.3.5. Exemple de quelques marqueurs tumoraux

- ❖ ACE : décrit en 1965 par Gold et Freeman est une glycoprotéine de 180 à 200 KDa exprimée pendant les six premiers mois de la gestation (**Andaloussi, 2010**), chez un adulte normal l'ACE est retrouvé à de très faibles concentrations dans la glande mammaire et dans la muqueuse du côlon jouant un rôle protecteur contre les infections microbiennes (**Mohamed, 2010**).

L'ACE est un marqueur des cancers gastro-intestinaux et en particulier le cancer colorectal, où sa surexpression interfère avec la différenciation cellulaire et favorise la métastase grâce à son rôle comme molécule d'adhésion (**Andaloussi, 2010**).

L'ACE est présent dans le plasma de plus de 80% des cancers colorectaux métastatiques et environ 50% des non métastatiques. De plus, l'ACE peut être détecté dans 12% des cancers du sein non métastatiques et 35 à 40% dans des cancers en phase métastatique. L'élévation d'ACE sérique est corrélée à la progression tumorale (**Mohamed, 2010**).

- ❖ hCFHrp : est un marqueur des tumeurs de la vessie, rencontré dans les urines, il autorise l'échappement des cellules tumorales au système immunitaire par l'inhibition de la voie du complément (**Campos-Fernandes et al., 2007**).
- ❖ FDP (Fibrin/Fibrinogen Degradation Products) : est le produit de dégradation des fibrines et fibrinogènes, présent dans les urines d'un patient présentant une tumeur vésicale (**Campos-Fernandes et al., 2007**).
- ❖ AH (Acide Hyaluronique) : présent dans les tissus et les fluides humains normaux, sa concentration augmente lors des cancer colorectaux, tumeurs de wilms et tumeurs vésicales, il joue un rôle dans l'angiogénèse et la métastase, ce marqueur est retrouvé dans les urines sous forme de petit fragment dégradés par une enzyme HA ase (**Campos-Fernandes et al., 2007**).
- ❖ CYFRA 21-1 : est le fragment soluble du cytokératine 19, une protéine présente dans les cellules épithéliales et l'un des constituants du cytosquelette, CYFRA 21-1 est détecté dans le sérum et les urines d'un patient présentant un cancer pulmonaire (**Campos-Fernandes et al., 2007**).
- ❖ La vimentine qui est un marqueur des cellules mésenchymateuse (**Mohamed, 2010**).

- ❖ CA 15.3 : est un marqueur sérique spécifique du cancer du sein, jouant un rôle dans le processus métastatique et développant une résistance aux certains médicaments **(Riedinger, 2009)**.
- ❖ NSE est un marqueur biologique spécifique des neuroblastomes et des gliomes, retrouvé dans le sérum.
- ❖ HCG $\beta$  et AFP sont des marqueurs des tumeurs testiculaires **(Riedinger et Eche., 2006)**.

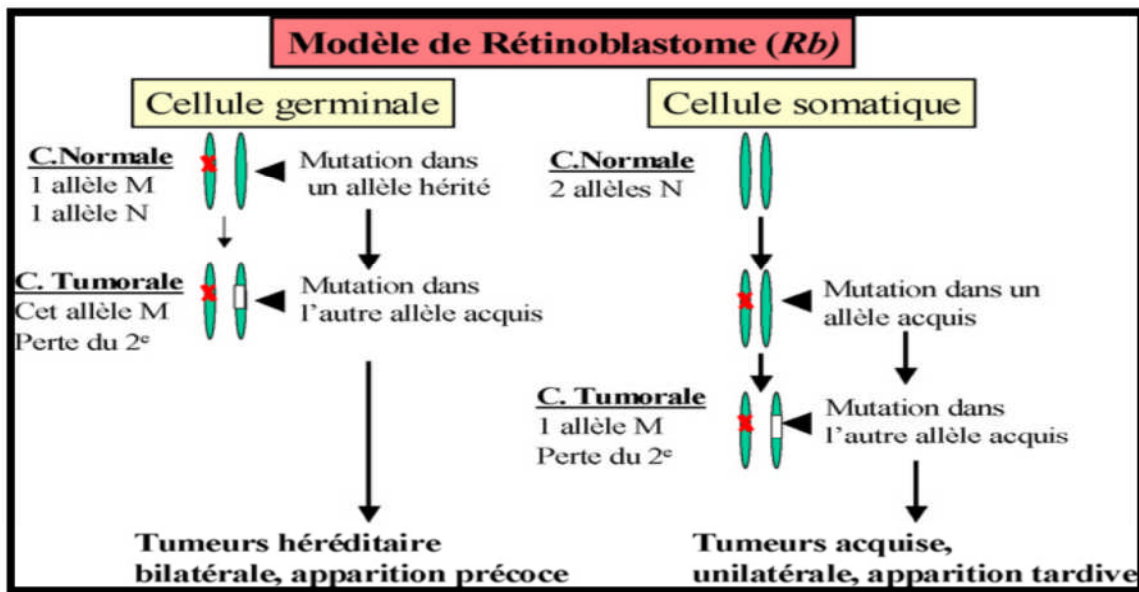
## **II.4. les cancers**

### **II.4.1. Définition**

Le cancer est une maladie génétique de la cellule **(Stoppa-Lyonnet et al., 2010)**, provoqué par de multiples et irréversibles détériorations d'un ou de plusieurs gènes jouant un rôle important dans la régulation du cycle cellulaire **(Krutovskikh et Partensky, 2011)**.

Il se caractérise par une prolifération cellulaire démesurée et anarchique des cellules tumorales **(Tchakline, 1980)** ; cette maladie à pour origine une cellule qui augmente ces capacités de prolifération, acquiert des capacités de migration et perd ces capacités de différenciation **(De pontual et al., 2010)**. Les particularités des cellules tumorales sont liées à l'accumulation d'altérations génétiques dans leurs génomes **(Stoppa-Lyonnet et al., 2010)** qui sont le plus souvent acquises au cours de la genèse tumorale, mais certaines peuvent être d'origine héréditaire (prédispositions familiales) **(Lemaire, 2004)**.

Selon la théorie de Knudson dans le syndrome familial des cancers, le développement d'une tumeur est associé à l'existence d'une première mutation germinale sur un allèle suivie d'une deuxième mutation somatique sur le second allèle d'un gène suppresseur des tumeurs, tandis que dans les tumeurs sporadiques, les deux mutations sont acquises **(Lemaire, 2004)**. **La figure 8** explique le mode de développement des tumeurs selon cette théorie **(Wager et al., 2008)**



**Figure 8 :** la théorie de Knudson dans le développement des tumeurs (Wager et al., 2008).

*Exemple de la répression de la protéine Rb : dans le cas d'une tumeur héréditaire, la mutation héritée est présente dans toutes les cellules somatique et la second mutation est présente uniquement dans la cellule tumorale ; alors que les deux mutations sont présentes seulement dans la cellule tumorale dans le cas d'une tumeur acquise.*

### ❖ Les leucémies

La leucémie est un cancer dont le siège est la moelle osseuse (Jacinthe, 2008). C'est une prolifération maligne de précurseurs des cellules sanguines bloquées à un stade précoce de leur maturation (De Villartay, 1999).

Les leucémies peuvent être aiguës si elles touchent des cellules blastiques ou chroniques si elles touchent des cellules plus matures (Helias, 2005).

Selon le type de cellules anormales produites, on distingue deux formes de leucémie ; la leucémie myéloïde : concerne les descendants des myéloblastes (Roméo, 1998) et la leucémie lymphoïde : concerne les descendants des lymphoblastes (Lefrère et Hermine, 1998)

Les leucémies aiguës lymphoblastiques touchent plus souvent les jeunes et les enfants (80 %) alors que la leucémie myéloblastique peut survenir à tout âge (ligue nationale contre le cancer, 2009).

La leucémie myéloïde chronique s'observe principalement chez des patients d'âge moyen tandis que la leucémie lymphoïde chronique se rencontre surtout chez les personnes âgées (fondation contre le cancer, 2012)



### ❖ Les tumeurs solides

Les tumeurs solides concernent celles qui se développent dans les différents organes du corps. C'est le cas par exemple de cancer du sein où une femme sur 9 développera un cancer du sein au cours de sa vie, 5 à 10 % de formes héréditaires, 51 000 nouveaux cas et 11 700 décès par ce cancer en France en 2008 ; le cancer de la prostate chez l'homme pour lequel le taux standardisé sur la population mondiale est passé de 26 pour 100 000 en 1980 à 121 pour 100 000 en 2005 (**Bonita et al., 2010**) ; en 2011 environ 8 200 nouveaux cas de cancer du foie en France dont près de 80 % concernent des hommes (**Institut national du cancer, 2011**).

## II.4.2. Le processus de la cancérogénèse

La cancérogénèse est un phénomène par le quel une cellule normale est devenue cancéreuse. Ce processus comporte quatre phases : l'initiation, la promotion, la progression et l'invasion (**Schalken, 1992**).

### II.4.2.1. La phase d'initiation

Cette phase ne concerne qu'une seule cellule, elle est irréversible et correspond à l'acquisition des proto-oncogènes, les gènes suppresseurs des tumeurs et les gènes de réparation de l'ADN, une ou plusieurs lésions stables et transmissibles aux cellules filles, les agents responsables peuvent être d'origine physique, chimique et biologique (**Schalken, 1992**).

Lors de la formation des altérations de l'ADN, de nombreux systèmes de réparation interviennent, la plupart de ces systèmes sont fidèles, par contre d'autres sont fautifs et infidèles comme le système SOS qui répare les lésions en introduisant les erreurs d'appariement entre les bases (**Weinberg, 1996**).

### II.4.2.2. La phase de promotion

La promotion est une prolifération clonale de la cellule initiée suite à une exposition prolongée, répétée ou continue à une substance qui entretient et stabilise la lésion initiale, elle correspond à une cascade d'étapes permettant à la cellule initiée d'atteindre le stade d'un cancer histologiquement détectable (**Emily, 2006**).

### **II.4.2.3. La phase de progression**

À ce stade la cellule a totalement échappée aux mécanismes de régulation gérés par l'organisme. Elle correspond à l'acquisition de l'indépendance de la prolifération, la perte de la différenciation et l'expression phénotypique de la malignité (**Enger et al., 2003**).

L'angiogénèse joue un rôle important au cours de cette phase (**Park et al., 2009**), il s'agit de la formation de nouveaux vaisseaux destinés à répondre aux besoins métaboliques de la tumeur (**Ravaud, 2007**), multi-étapes mènent à la formation de nouveaux capillaires par l'excroissance ou le bourgeonnement des vaisseaux préexistants. L'initiation de ce processus s'effectue grâce à la synthèse, par les cellules tumorales et non tumorales associées à la tumeur, de facteurs de croissance appelés facteurs ou inducteurs angiogéniques tels que : vascular epithelial growth factor (VEGF) (**Chabannes et al., 2001**).

### **II.4.2.4. La phase d'invasion**

L'invasion est l'infiltration des cellules tumorales dans les autres tissus de l'organisme (**Ladam, 2010**), il s'agit de la formation des métastase, selon la théorie de la graine et du sol introduit par Stephan Paget en 1889 (**Méjean et al., 2008**), via la circulation sanguine ou lymphatique suite à la transition épithélio-mésenchymateuse des cellules tumorales en modifiant les propriétés d'adhésion des cellules en prolifération (**Wiebrands, 2010**).

## **II.4.3. Les tumeurs cérébrales**

### **II.4.3.1. Définition**

Les tumeurs qui se développent dans le cerveau et les méninges sont nommées les tumeurs cérébrales (**Sauvageot et al., 2007**). Ces dernières ont un comportement différent à celui des divers néoplasmes développés dans les différents compartiments du corps : elles métastasent très rarement vers les autres organes et les symptômes produits sont dus au développement local de la tumeur, c'est pour cela qu'un tissu néoplasique cérébral bénin ou malin est désigné sous le non de «tumeur cérébrale» mais pas «cancer du cerveau» (**Bauman, 2007**).

#### II.4.3.2. Les symptômes

Les tumeurs cérébrales engendrent plusieurs signes cliniques dont on cite :

- Augmentation du contenu intracrânien et hypertension intracrânienne ;
- Déficits moteurs ou sensitifs, vomissements et céphalées ;
- Les crises épileptiques ;
- La métastase cérébrale provoque une hémorragie intracérébrale qui est une complication grave en augmentant ainsi la morbidité et la mortalité (**Hadoux et Besse., 2011**) ;
- Hémiplégie, hémianopsie, hallucination et psychique (**Durando et al., 2006**).

#### II.4.3.3. Classifications

Les tumeurs cérébrales sont phénotypiquement et génotypiquement différentes (**Moskal et al., 2009**) ; leur classification se fait selon plusieurs paramètres, dont on cite :

##### ❖ Classification selon l'origine de la tumeur

Deux types de tumeurs cérébrales sont distingués :

- La tumeur cérébrale primaire : est une tumeur neuroépithéliale (**Bouvier et al., 2005**) qui débute dans le cerveau.
- La tumeur cérébrale secondaire : les tumeurs cérébrales secondaires représentent 30 à 45 % des tumeurs cérébrales de l'adulte (**Bernard et al., 2006**) cette tumeur se développe suite à la métastase d'un cancer d'un autre organe du corps vers le cerveau (**Healthcare, 2009**).

Environ 15% des tumeurs cérébrales secondaires sont causées par la métastase de cancer du sein (**Lentzsch et al., 1999**).

##### ❖ Classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) des tumeurs cérébrales selon l'échelle de malignité

Les gliomes représentent 50% des tumeurs cérébrales primaires (**Rousseau, 2007**) dont les glioblastomes représentent la forme la plus agressive (**Clatz et al., 2004**). La classification de l'OMS des gliomes selon le grade histopathologique est un élément fondamental pour la détermination du pronostic et de la stratégie thérapeutique (**Metellus et al., 2008**).

La détermination de ce grade est basée sur plusieurs critères; où la néovascularisation permet la différenciation entre les tumeurs gliales du haut grade et celles du bas grade (Vredenburgh et al., 2007).

- **Grade I:** les tumeurs de ce grade se caractérisent par un potentiel prolifératif faible et elles peuvent être éliminées par une seule résection chirurgicale.
- **Grade II:** se sont des tumeurs récidives dotées d'une croissance moyenne: les astrocytomes diffus de bas grade et les oligodendrogliomes
- **Grade III:** les tumeurs sont malignes et leur traitement se fait par radiothérapie ou chimiothérapie : les astrocytomes anaplasiques et les oligodendrogliomes anaplasiques.
- **Grade IV:** ces tumeurs évoluent très rapidement, elles ont des critères cytologiques de malignité: activité mitotique intense, nécrose : les glioblastomes. (Colle, 2011).

#### II.4.3.4. Les tumeurs cérébrales à l'échelle moléculaire

Les cellules tumorales présentent des mutations génétiques absentes dans les cellules normales du même individu (Liu et al., 2011).

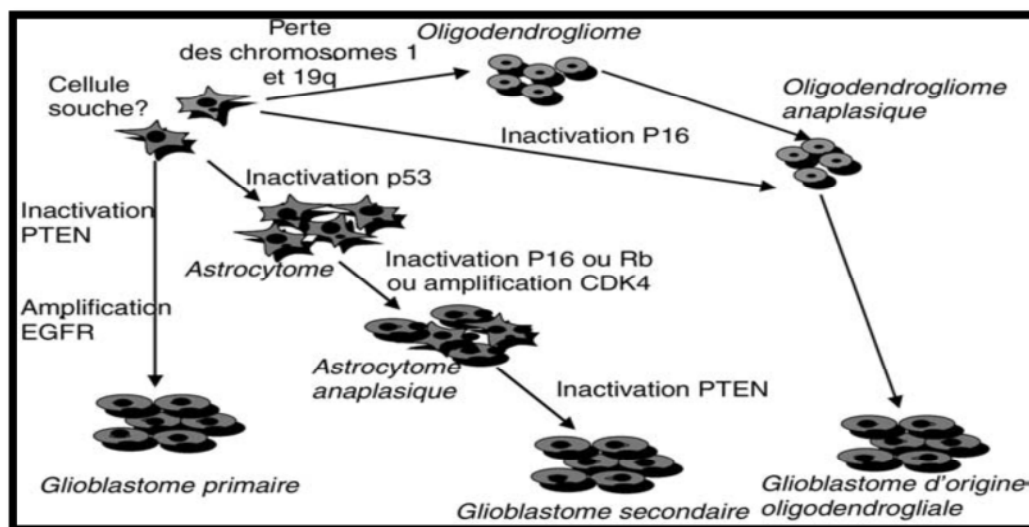
L'oncogénèse est déterminée par la survenue d'altérations génétiques spécifiques aboutissant soit à l'activation des oncogènes, soit à l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeur, le **tableau II** suivant représente les conséquences des principales altérations génétiques sur le développement du phénotype tumorale (Sanson et Taillibert, 2004).

**Tableau II :** Conséquences des principales altérations génétiques sur le développement du phénotype tumoral (Sanson et Taillibert, 2004).

GénotypePhénotype	Inactivation de P53	Inactivation de P16	Inactivation de PTEN	Activation de EGFR
Accélération cycle	+	+	+	+
Inhibition de l'apoptose	+		+	+
Invasion		+	+	+
Angiogenèse	+	+		+
Instabilité génétique	+			

L'accumulation de ces altérations génétiques survenant dans un ordre défini, détermine la progression tumorale et permet d'établir une classification moléculaire des

tumeurs ; la **figure 9** montre la classification moléculaire de quelques tumeurs gliales (**Sanson et Taillibert, 2004**).

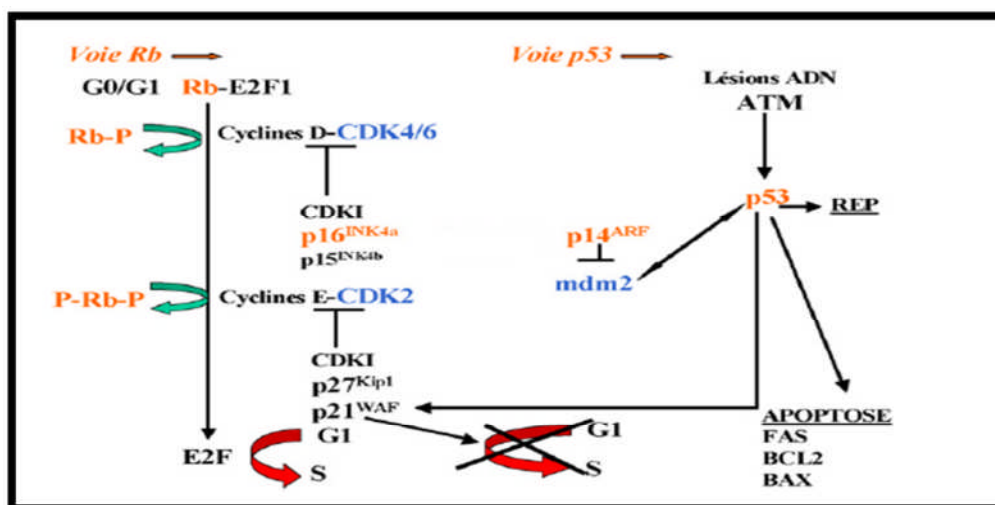


**Figure 9** : Altérations génétiques impliquées dans les différentes voies de la progression des tumeurs gliales (**Sanson et Taillibert, 2004**).

*Le développement des tumeurs gliales est associé à l'altération de plusieurs voies de signalisation impliquant différentes protéines telles que : PTEN, EGFR, p53,... etc. la perte de chromosome 1 ou de locus 19q est aussi un élément important dans l'apparition d'une tumeur gliale de haut grade.*

#### II.4.3.4.1. Répression des gènes suppresseurs des tumeurs

Le cancer est une pathologie de signalisation, au cours de la gliomagenèse, la répression des gènes suppresseurs des tumeurs provoque l'altération de trois principales voies de signalisation : PI3-kinase/Akt/PTEN, p53/MDM2/p14<sup>ARF</sup> et Rb/cycline/CDK/p16<sup>INK4A</sup>. La **figure 10** montre le rôle que jouent ces deux dernières voies dans la régulation du cycle cellulaire (**Wager et al., 2008**)



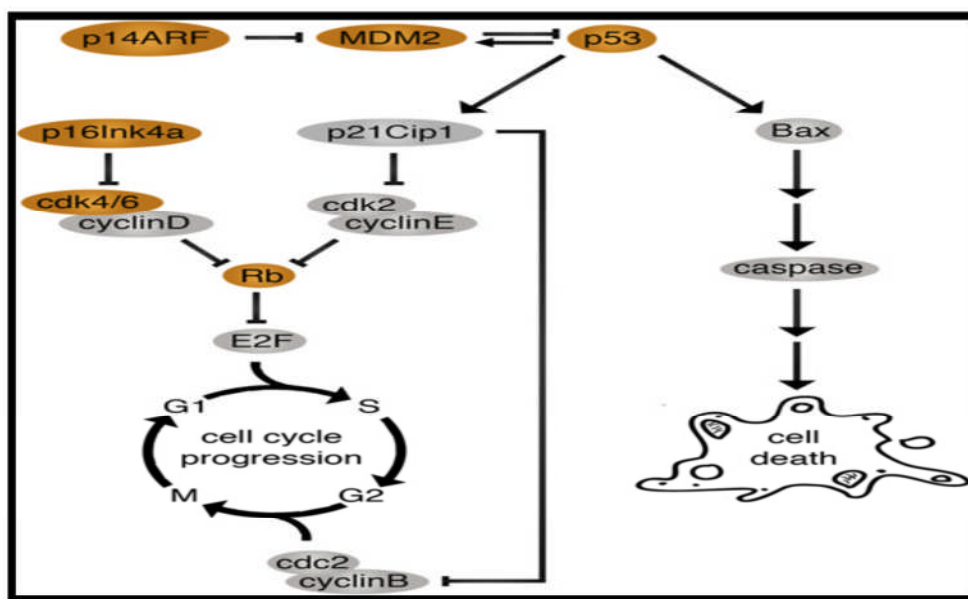
**Figure 10 :** la régulation du cycle cellulaire par les voies Rb et p53 (Wager *et al.*, 2008).

Au cours de la phase G1 du cycle cellulaire, les cyclines phosphorylent la protéine Rb en libérant le facteur E2F, la p53 a un rôle clé dans la transition de la phase G1 en S en autorisant ou non la duplication de l'ADN à travers un point de contrôle de dommage d'ADN (PCDD).

#### ❖ Altération de la voie p53/MDM2/p14<sup>ARF</sup>

La p 53 est une protéine de 53 KDa composée de 393 acides aminés (Drané *et al.*, 2002) codée par un gène TP 53 suppresseur des tumeurs situé sur le bras court du chromosome 17 (Cortèse et Zemmar, 2007). Elle est impliquée dans la régulation du cycle cellulaire soit par le blocage de la division cellulaire d'une manière à réparer d'abord des lésions de l'ADN ou bien par l'initiation de l'apoptose afin d'éliminer les cellules défectueuses de l'organisme (Douc-Rasy *et al.*, 2004). La figure 11 ci-dessous montre les principales protéines impliquées dans cette voie de signalisation (Sauvageot *et al.*, 2007).

Les stimuli génotoxiques tels que les lésions de l'ADN, l'hypoxie et activation des oncogènes aboutissent au recrutement de l'ATM (Ataxia-telangiectasia-mutated) ou l'ATR (Ataxia-telangiectasia-released) qui activent la p53 en la phosphorylant dans son domaine transactivateur (Cortèse et Zemmar, 2007) et l'activation de la p14<sup>ARF</sup>, une protéine codée par un gène suppresseur des tumeurs localisé sur le chromosome 9 qui phosphoryle la sérine 20 et les extrémités N et C terminales de la protéine MDM2 et empêche la formation du complexe inactif p 53-MDM2 (Wager *et al.*, 2008).



**Figure 11** : La voie de signalisation p53/MDM2/p14<sup>ARF</sup> (Sauvageot et al., 2007).

La phosphorylation de MDM2 par p14 induit l'activation de la p53 qui active les protéines pro-apoptotique, ou des protéines inhibitrices des cyclines en activant la protéine Rb qui bloque le cycle cellulaire en phase G1.

Plus de 70% des glioblastomes marquent l'absence de la p 53 sauvage, dans le cas contraire où la p 53 sauvage est présente, des anomalies des facteurs d'activation et de stabilisation de cette protéine ont été signalées tels que la mutation des deux allèles du gène codant pour la p14<sup>ARF</sup> ou la surexpression de MDM2 (Sanson et Taillibert, 2004).

#### ❖ Altération de la voie Rb/cycline/CDK/p16<sup>INK4A</sup>

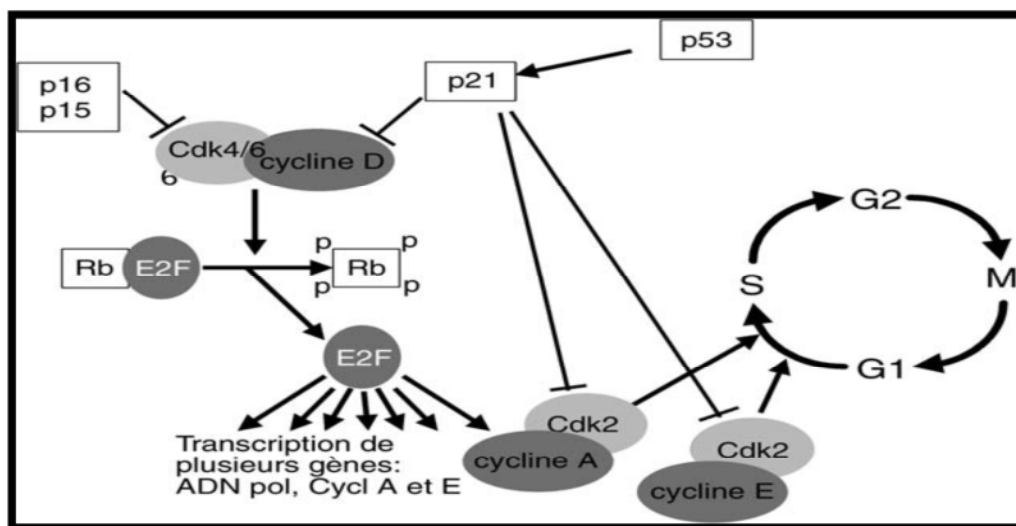
L'activation et répression de chacune des protéines impliquées dans cette voie de signalisation joue un rôle important dans le blocage du cycle cellulaire ou le développement d'une tumeur (Fueyo et al., 2005), la figure 12 montre le rôle que jouent les produits des gènes suppresseurs des tumeurs dans l'arrêt de la division cellulaire (Sanson et Taillibert, 2004).

La protéine Rb, produit du gène RB1, non phosphorylée arrête la division cellulaire en se liant à un facteur transcriptionnel E2F (Sauvageot et al., 2007) qui stimule l'expression des protéines impliquées dans la division cellulaire telles que dihydrofolate réductase (DHFR) et l'ADN polymérase (Wager et al., 2008).

L'inactivation de la protéine Rb se fait par sa phosphorylation grâce aux protéines kinase dépendante des cyclines CDK 4-6 liées à la cycline D, dans ce cas, le facteur E2F est

libre et la division cellulaire se fait d'une manière continue (James, 2005). Pour garder la forme active de la protéine Rb, le groupe des protéines inhibitrices des CDK (CKi) intervient, dont la p16<sup>INK4A</sup> codée par le gène suppresseur des tumeurs, qui empêche la liaison des CDK 4-6 à la cycline D (Wager et al., 2008).

Des anomalies des gènes qui codent pour p16<sup>INK4A</sup> et Rb ont été identifiées dans les gliomes de haut grade (Fueyo et al., 2005).



**Figure 12 :** la voie de signalisation Rb/cycline/CDK/p16<sup>INK4A</sup> (Sanson et Taillibert, 2004). Les protéines p15, p16 et p21 inhibent les cyclines qui phosphorylent la protéine Rb. Un complexe inactif Rb-E2F est formé en empêchant l'expression des protéines impliquées dans la division cellulaire et bloquant le cycle cellulaire en phase G1.

#### ❖ Altération de la voie PI3-kinase/Akt/PTEN

PTEN est un gène suppresseur des tumeurs localisé sur le chromosome 10, le produit de ce gène est l'inhibiteur de deux voies de signalisation, la **figure 13** montre les contrôles négatifs exercés par PTEN sur la prolifération et la migration cellulaire.

- Le contrôle négatif de la prolifération cellulaire :

La PI3-Kinase est une enzyme qui intervient dans la transformation de PIP2 en PIP3 ; ce dernier a un rôle dans l'activation, par phosphorylation, de la protéine AKT/PKB qui inhibe les protéines pro-apoptotique (Sauvageot et al., 2007).

Pour arrêter cette prolifération anarchique, PTEN intervient, en déphosphorylant le PIP3 en PIP2 et empêchant l'activation de la protéine AKT/PKB (James, 2005).

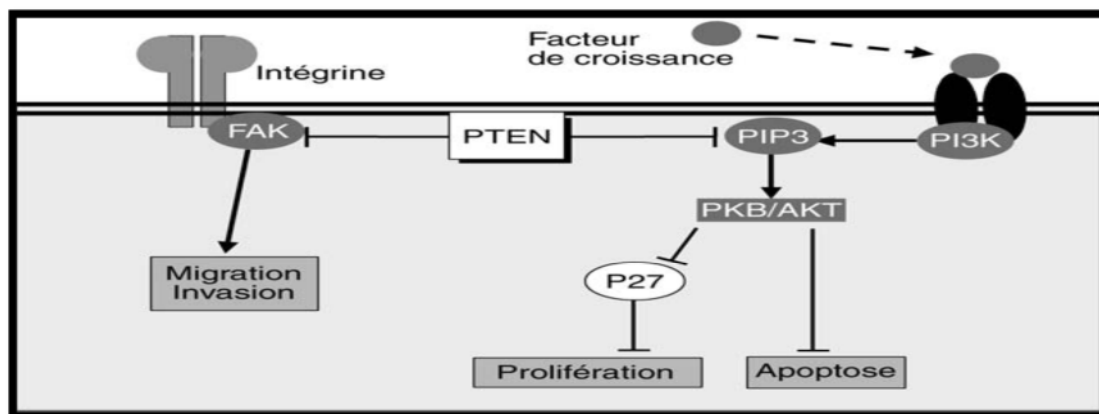
- Le contrôle négatif de la migration cellulaire :

La protéine PTEN réprime la migration cellulaire par capture d'un groupement phosphate en déphosphorylant les protéines FAK (Focal Adhesion Kinase) (Sanson et Taillibert, 2004).



La répression de la protéine PTEN est à l'origine de l'inhibition de l'apoptose et la dérégulation du cycle cellulaire (Fueyo et al., 2005).

Dans 30% des glioblastomes le gène PTEN est muté, très rarement dans les astrocytomes anaplasiques mais pas dans les gliomes de bas grade (Wager et al., 2008).



**Figure 13 :** Rôle de PTEN sur la prolifération et la migration cellulaire (Sanson et Taillibert, 2004).

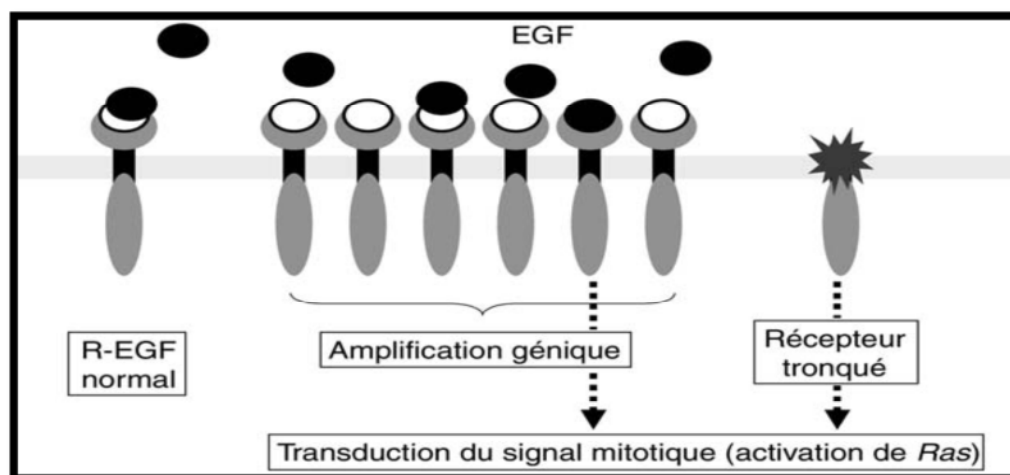
La protéine PTEN arrête la prolifération cellulaire en déphosphorylant le PIP3 et elle arrête aussi la migration cellulaire par la déphosphorylation des protéines FAK.

#### II.4.3.4.2. Activation des oncogènes

##### ❖ L'oncogène EGFR

Comme toutes les tumeurs, les tumeurs cérébrales peuvent être causées par l'activation d'un oncogène (Sauvageot et al., 2007) ; dans les tumeurs cérébrales le principal oncogène activé est erb-1 qui code pour EGFR, un récepteur à activité tyrosine kinase, activant un signal mitotique (Wager et al., 2008), comme la montre la **figure 14** l'activation de cet oncogène peut se faire par sa surexpression (40%) ou par son remaniement conduisant à un récepteur tronqué avec une perte d'une grande portion de sa partie extracellulaire et active d'une façon permanente (Sanson et Taillibert, 2004).

La surexpression du gène erb-1 est l'anomalie génétique qui est à l'origine de 50 à 60% des glioblastomes (Wager et al., 2008).



**Figure 14 :** les mécanismes génétiques de l'activation d'EGFR (Sanson et Taillibert, 2004).

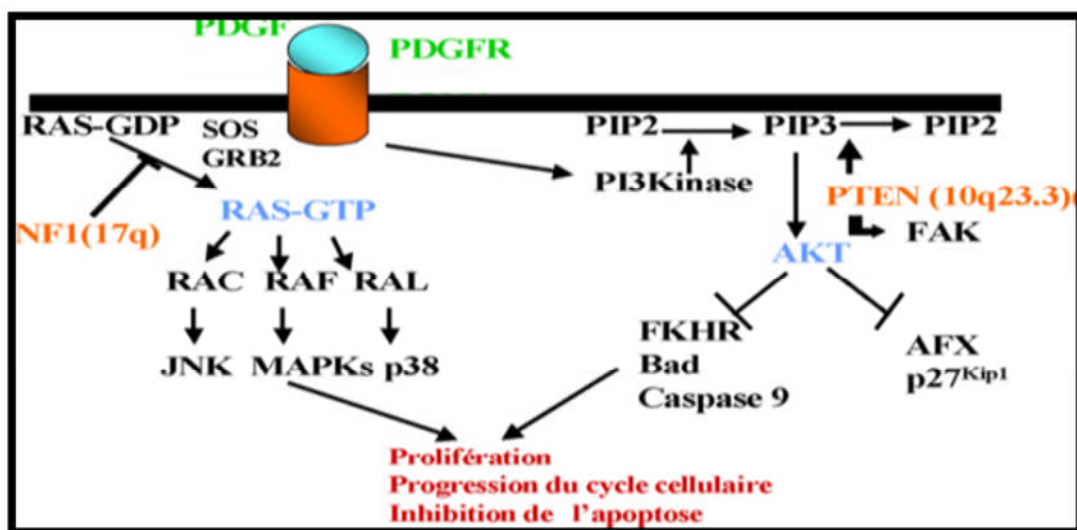
*La surexpression du gène codant pour EGFR ou l'expression de ce gène en un récepteur tronqué augmente la prolifération cellulaire.*

#### ❖ L'oncogène PDGF (Platelet Derived Growth Factor)

Ce facteur de croissance a deux récepteurs PDGFR $\alpha$  et PDGFR $\beta$  qui sont des récepteurs à activité tyrosine kinase (Sauvageot et al., 2007).

Le facteur PDGF se lie à son récepteur PDGFR ce qui aboutit à la phosphorylation des tyrosines de la partie intracellulaire de ce récepteur (Sanson et Taillibert, 2004), suite à ce phénomène, un ensemble de protéines cytoplasmiques sera dirigé vers les chaînes intracytoplasmiques du récepteur PDGFR via leur domaine SH2 qui reconnaissent les tyrosines phosphorylées (James, 2005), ce qui induit l'activation de plusieurs voies de signalisation telles que la voie des MAP Kinase et la voie PI3K/AKT. La figure 15 montre les différentes voies de signalisation activées par le complexe PDGF/PDGFR (Wager et al., 2008).

Dans les gliomes et les méningiomes, la perte de la fonction de la p53 stimule la surexpression de PDGF et PDGFR (Wager et al., 2008) sachant que la surexpression de PDGFR $\alpha$  et ces ligands (PDGF-A, B et C) provoque l'augmentation du nombre des précurseurs des oligodendrocytes, donc, la surexpression est signalée lors des oligodendrocytomes ; tandis que, PDGFR $\beta$  et ces ligands (PDGF-B et C) surexpriment dans tous les gliomes avec une élévation corrélée au grade (Sauvageot et al., 2007).



**Figure 15 :** Voies de signalisation PDGF/PDGFR (Wager *et al.*, 2008).

La surexpression des récepteurs PDGF et leurs ligands à un effet sur plusieurs voies de signalisation en augmentant le signal prolifératif et en inhibant le signal apoptotique.

#### II.4.3.4.3. La perte de la sénescence réplivative:

Les cellules somatiques possèdent un mécanisme moléculaire appelé l'horloge mitotique qui détermine un nombre limité de division cellulaire et dans chaque division cellulaire, les télomères raccourcissent ; lorsque le nombre maximal de divisions est atteint, le mécanisme de la sénescence réplivative se déclenche (Sanson et Taillibert, 2004).

Le gène hTERT code pour la sous unité catalytique de la télomérase, l'expression de ce gène d'une façon permanente est à l'origine de l'immortalisation des cellules tumorales. La surexpression du gène hTERT et la sous expression du facteur TRF-1(Factor Regulator Telomeres-1) ont été observées dans le cas des gliomes malins (Wager *et al.*, 2008).

#### II.4.3.4.4. La perte d'hétérozygotie

Dans le cas du syndrome familial, la deuxième mutation somatique peut être une mutation ponctuelle du gène ou un remaniement chromosomique avec perte de matériel génétique, c'est ce que l'on appelle la perte d'hétérozygotie (LOH: Loss Of Heterozygosity).

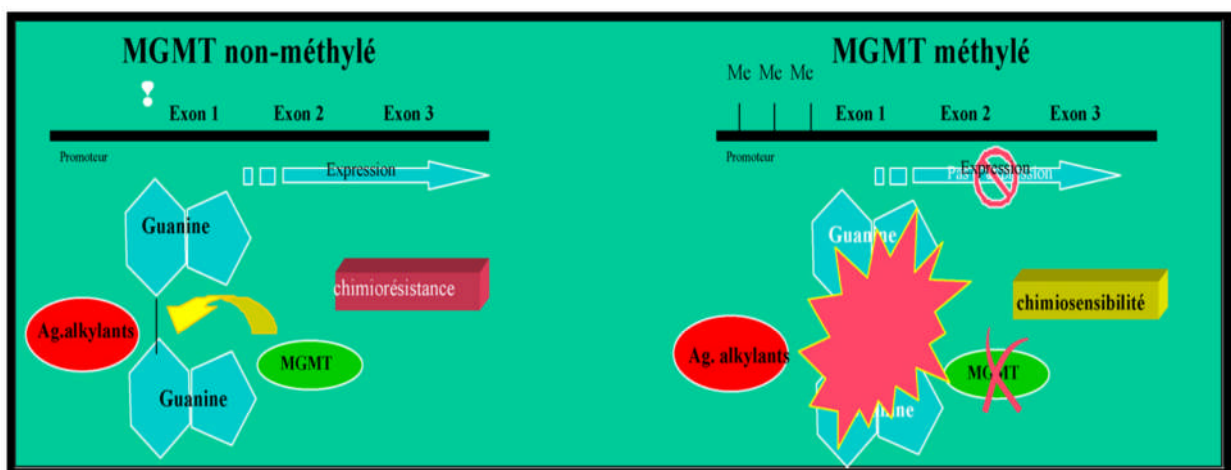
Dans les tumeurs cérébrales, LOH est l'un des mécanismes pouvant participer à réduire au silence un gène suppresseur des tumeurs et à augmenter le degré de l'anaplasie d'une tumeur (Wager *et al.*, 2008).

Exemples de quelques LOH :

- LOH 10q26 : 10q26 porte un gène suppresseur des tumeurs gliales, il est admis que la LOH 10q26 est associé au passage d'un phénotype anaplasique à celui de glioblastome ;
- LOH 13q14 : cette LOH conduit à la perte du gène codant pour la protéine Rb, dans les astrocytomes anaplasiques et les glioblastome cette LOH a été identifiée (**Wager et al., 2008**).

#### II.4.3.4.5. O<sup>6</sup>-méthylguanine-méthyltransférase (MGMT)

MGMT est une enzyme qui participe à la réparation de l'ADN par le recrutement du complexe mismatch (**Ducray et Chinot, 2009**) ; comme il est montré dans la **figure 16** (**Wager et al., 2008**), lorsque le promoteur du gène qui code pour cette protéine (PMGMT) est non méthylé, la protéine s'exprime et la cellule développe une résistance aux agents alkylants. Au contraire la méthylation de PMGMT réduit au silence ce gène et la cellule devient chimiosensible aux médicaments alkylants (**Wager et al., 2008**), (**Frenel et al., 2009**). C'est pourquoi les patients atteints d'une tumeur gliale dont le promoteur de MGMT est méthylé seraient plus sensibles aux agents chimiothérapeutiques tels que le témozolomide et survivraient plus longtemps. Une étude sur 68 patients atteints d'une tumeur gliale du bas grade a montré que le PMGMT est méthylé dans 92,6% de ces cas (**Everhard et al., 2006**).



**Figure 16 :** Effet de la méthylation du promoteur de MGMT sur la chimiosensibilité aux agents alkylants (**Wager et al., 2008**).

*La tumeur gliale est sensible aux agents chimiothérapeutiques lorsque le gène codant pour MGMT est réprimé par la méthylation de son promoteur. La protéine MGMT s'exprime lorsque le promoteur de son gène est non méthylé, en développant une résistance aux agents chimiothérapeutiques.*

#### II.4.3.5. Les marqueurs des tumeurs cérébrales

La spectroscopie par résonance magnétique (SRM) permet de caractériser les changements métaboliques associés à la croissance d'une tumeur, au degré d'agressivité, à la réponse au traitement et à d'éventuelles séquelles thérapeutiques (**Martin-Duverneuil et al., 2008**). Quelques changements métaboliques lors de développement de tumeurs cérébrales sont représentées dans Le **tableau III** (**Guillevin et al., 2009**).

**Tableau III:** quelques changements métaboliques au cours des tumeurs cérébrales.

Adapté de (**Guillevin et al., 2009**).

Métabolites	Signification biologique
<b>Myo- inositol (Mi) (augmentation de la concentration)</b>	prolifération et activation gliale
<b>Choline (augmentation de la concentration)</b>	Anabolisme membranaire et vasculaire Agressivité tumorale
<b>Créatine (Cr) (diminution de la concentration)</b>	Agressivité tumorale
<b>N-acétyl- aspartate (NAA) (diminution de la concentration)</b>	Absence des neurones ou dysfonctionnement neuronal
<b>Lipides libres (augmentation de la concentration)</b>	Nécrose cellulaire
<b>Lactates (augmentation de la concentration)</b>	Marqueur d'anaérobiose, témoin de souffrance cellulaire et de l'agressivité tumorale
<b>Alanine (Ala)</b>	Présence des méningiomes

La SRM, en plus de sa complexité, son coût est très élevé et les radiations sont nocives pour la santé; en plus des marqueurs déterminés par SRM (**Guillevin et al., 2008**), il existe des autres qui sont retrouvés dans le LCR, sang et aussi dans les urines tels que :

- ❖ Olig 1 et Olig 2 sont des facteurs de transcription exprimés dans les oligodendrocytes et leur progéniteurs ; la surexpression de ces facteurs permet de déterminer le

développement des oligodendrogliomes et des glioblastomes dérivés de cette lignée (**Richard Lu et al., 2001**) ;

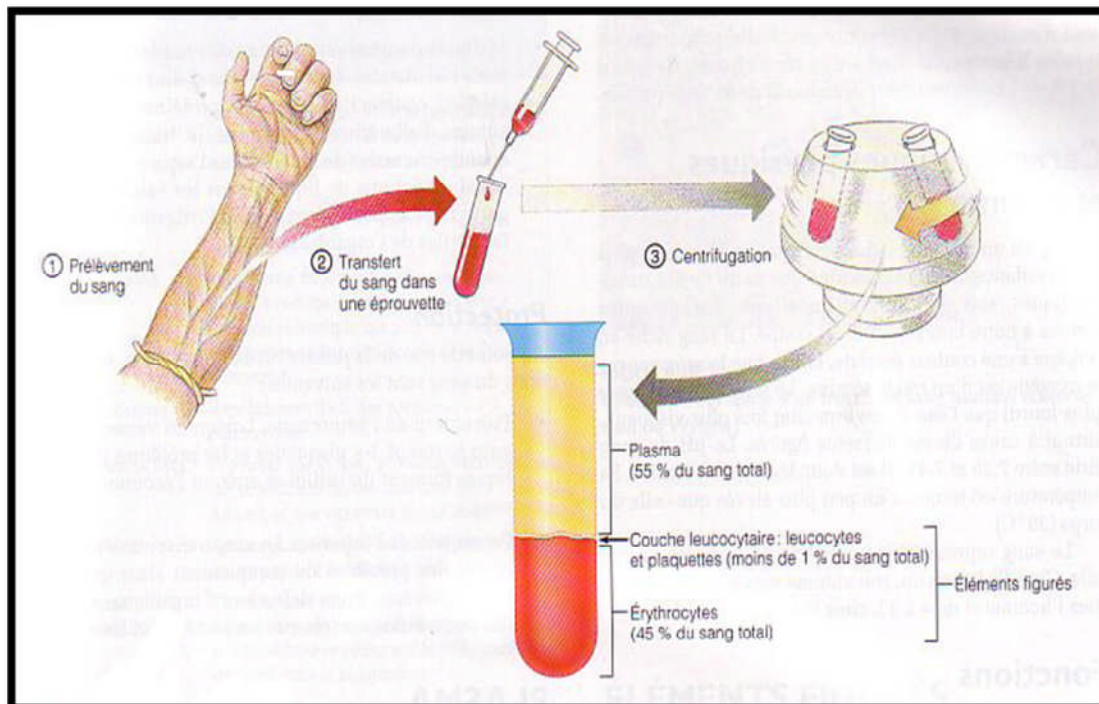
- ❖ PDGFaR : sa surexpression est remarquable dans le cas des tumeurs gliales (**Richard Lu et al., 2001**) ;
- ❖ GFAP (Glial Fibrillary Acidic Protein): sa surexpression est significative au développement des astrocytomes (**Richard Lu et al., 2001**) ;
- ❖ EGFR : est un facteur de pronostic chez les patients plus âgés (> à 75ans) atteints d'une tumeur cérébrale (**Wager et al., 2008**) ;
- ❖ VEGF : la surexpression de ce facteur est signalée dans tous les cancers solides, dans le cas des tumeurs cérébrales, le taux de ce facteur augmente dans le LCR mais pas dans le plasma (**Wager et al., 2008**) ;
- ❖ S-100B est une protéine intracellulaire synthétisée beaucoup plus par les cellules gliales et 30 à 100 fois moins par les adipocytes et les mélanocytes ; elle joue un rôle dans la disponibilité du calcium cytosolique, la croissance cellulaire et l'inhibition de l'apoptose, elle est présente à concentration de 1 à 2 µg/L dans le LCR et de 0.02 à 0,10 µg/L dans le plasma, lors d'une tumeur cérébrale sa concentration augmente dans le LCR, le sang et dans les urines (**Benabdesselam et al., 2007**).

### III. Les liquides biologiques

#### III.1. Le sang

Le sang est un liquide alcalin d'un PH variant entre 7.25 et 7.45 ; il correspond aux cellules érythrocytaires, leucocytaires et plaquettaires (45% du volume sanguin) qui baignent dans un liquide, le plasma, (55% du volume sanguin), circulant dans les vaisseaux sanguins (**Luthra, 2008**).

La centrifugation du sang, permet la séparation du plasma des éléments figurés (érythrocytes, leucocytes et plaquettes), ces derniers sédimentent et le plasma flotte à la surface ; comme il est montré dans la **figure 17** lors de la séparation selon un gradient de densité la masse rougeâtre accumulée au fond du tube correspond aux érythrocytes, tandis que la mince couche blanche qui sépare le plasma et la masse des érythrocytes correspond aux leucocytes et aux plaquettes qui ne présente que 1% du volume du sang total (**Marieb, 1999**).



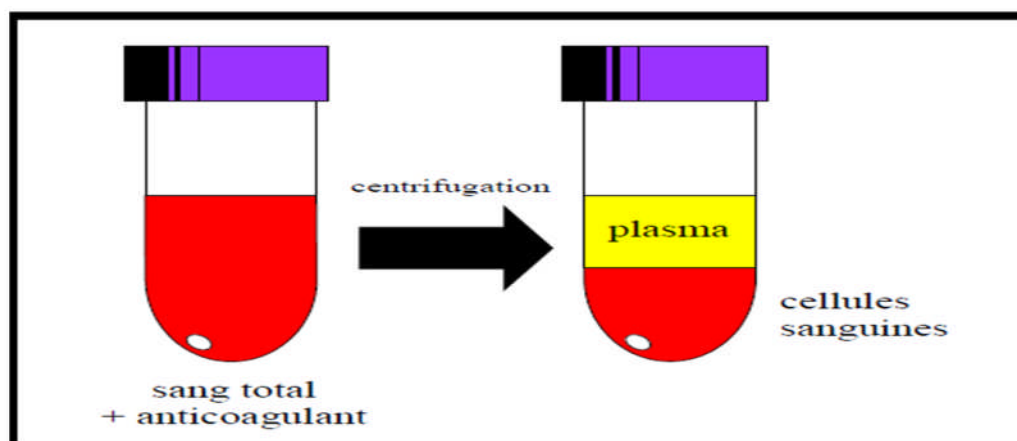
**Figure 17 :** Les principaux constituants du sang séparés par un gradient de densité (Marieb, 1999).

*Le transfert du sang prélevé dans un tube contenant un anticoagulant et la séparation de ces constituants selon un gradient de densité montre qu'il comporte 55% du plasma, 45% des érythrocytes et moins de 1% des leucocytes et des plaquettes.*

Le plasma constitue la phase aqueuse du sang, c'est un liquide visqueux transparent et jaunâtre (Silbernagl, 2000).

Pour préparer le plasma, le sang prélevé doit être transféré dans un tube contenant un anti coagulant, la **figure 18** montre la technique de la récupération du plasma (Preynat-Seauve et Kessler, 2010).

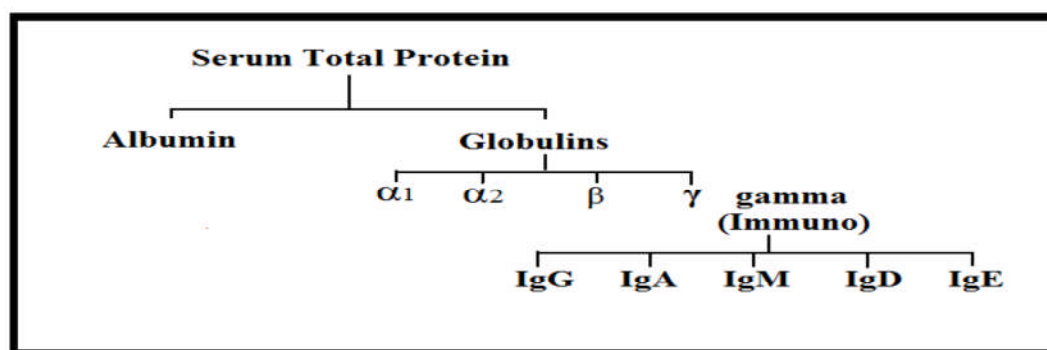
Le plasma contient de l'eau, des électrolytes, des facteurs de coagulation et des protéines (Kekwich, 1940); les protéines sériques ont une importance clinique (Verimli et al., 2000), leur dosage est nécessaire pour le diagnostic de plusieurs maladies (Azim et al., 2004).



**Figure 18 :** Technique de récupération du plasma (Preynat-Seauve et Kessler, 2010).

Après la centrifugation sans frein de sang dans un tube contenant un anticoagulant, le plasma flotte et les éléments figurés sédimentent au fond du tube.

La concentration des protéines totales dans le sang est 60 à 80 mg/ml, l'albumine représente plus de 60% des protéines sériques (Abu Amin et al., 2008) sa concentration varie entre 35 à 50 mg/ml et celle des globulines est entre 25 à 35 mg/ml (Goran, 2009), l'augmentation et la diminution de ces concentration sont à l'origine des problèmes pathologiques (Verimli et al., 2000) où le sexe n'a aucun effet sur la variation de la concentration de ces protéine (Louis, 1951). La figure 19 montre les différentes classes de ces protéines sériques (Goran, 2009).



**Figure 19 :** Les principales protéines sériques (Goran, 2009).

Les principales protéines sériques sont l'albumine et les globulines qui sont divisées en alpha 1 et 2, bêta et gamma, ces dernières regroupent les immunoglobulines : IgG, IgA, IgM, IgD et IgE.

On trouve aussi dans le plasma des protéines conjuguées tel que la seromucoïde et les fibrinogènes (qui sont présentes dans le plasma mais pas dans le sérum) et en plus de ces



protéines classiques, la présence de différents marqueurs est signalée selon l'état physiologique ou pathologique du patient (Anderson et Anderson, 2002).

### III.2. Les urines :

L'urine est une solution aqueuse composée de plus de 95% d'eau (Richert et al., 2011), les 5% restants représentent les composés organiques : l'urée, la créatinine, l'acide urique, l'acide hippurique et l'urobilirubine (Aubron et al., 2012) ; et les composés minéraux qui correspondent aux huit principales espèces ioniques  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^-$ ,  $\text{PO}_4^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ . L'urine humaine a un PH de 8,9 (Kirchmann et Pettersson, 1995) et le volume urinaire dépend de la sensation de soif, la sécrétion de l'hormone antidiurétique (ADH) et la réabsorption rénale (Hazard et Perlemuter, 2002).

### III.3. La filtration du sang et la formation des urines

#### III.3.1. L'anatomie des reins

Le rein est un organe pair en forme d'haricot, situé dans la cavité abdominale en arrière du péritoine (Marieb, 1999) ; une coupe frontale du rein montre qu'il est constitué de trois parties différentes : le cortex, la médulla et le pelvis

- ❖ **Le cortex rénal** : Est la partie la plus externe qui recouvre la médulla rénale ;
- ❖ **La médulla rénale** : d'une couleur rouge brun, elle contient les pyramides rénales (pyramides de malpighi) séparées par des colonnes rénales. La base de chaque pyramide est orientée vers le cortex rénal et sa pointe (papille rénale) est entourée vers l'intérieur du rein ;
- ❖ **Le pelvis rénal** : est un tube plat en forme d'entonnoir, localisé dans le sinus rénal, il communique avec l'uretère. Le pelvis rénal se prolonge en calices rénaux majeurs qui à leur tour forment les calices rénaux mineurs où les papilles des pyramides débouchent (Lang, 2000b).

### III.3.2. Le rôle des reins

Ils ont plusieurs fonctions :

- ❖ Régulation de l'équilibre en eau et en sels minéraux dans l'organisme ;
- ❖ Production des hormones qui ont plusieurs fonctions telles que la rénine et l'érythropoïétine (EPO) ;
- ❖ Filtration du sang par l'élimination dans les urines des déchets produits par l'organisme et des toxines.

La filtration du sang est faite grâce à la barrière néphrétique qui correspond à un assemblage de plus de un million de minuscules unités de filtration du sang et de sécrétion des urines, les néphrons (**Marieb, 1999**). Le néphron est constitué d'une vésicule nommée le corpuscule rénal et d'un tubule rénal :

- Le corpuscule rénal est formé à partir d'un glomérule du rein correspondant à un ensemble de capillaires artériels entouré par une capsule glomérulaire rénale (capsule de bowman) composée de deux feuillets séparés par une cavité (la chambre glomérulaire) (**Marieb, 1999**) ;
- Le feuillet pariétal externe : c'est une unité structurale qui ne participe pas à la formation du filtrat ;
- Le feuillet viscéral interne composé de cellules épithéliales (podocytes) ;
- ❖ Le tubule rénal se prolonge à partir de la chambre glomérulaire, composé d'un tubule contourné proximal (TCP), un tubule contourné distal (TCD) et un tube collecteur rénal (TCR) (**Marieb, 1999**).

### III.3.3. La formation des urines

#### ❖ L'urine primaire

L'urine primaire est un filtrat riche en solutés et pauvre en protéines retrouvée dans la chambre glomérulaire passant par la barrière de filtration glomérulaire (BFG).

La BFG a comme fonction d'assurer une haute perméabilité à l'eau et aux solutés de faible poids moléculaire et restriction sélective au passage des molécules à poids moléculaire supérieur à 60 KDa et les éléments figurés du sang. Sur le plan anatomique et fonctionnel la BFG est composée de trois couches :

- L'endothélium des capillaires glomérulaires contenant des pores de 75 nm de diamètre qui n'assure aucune restriction au passage des protéines ;
- La membrane basale glomérulaire (MBG) constituée suite à l'assemblage de glycoprotéines anioniques en formant des pores de 40 nm de diamètre, elle assure une grande partie de la restriction au passage de charge et 30% de la restriction au passage de taille ;
- feuillet viscéral interne composé de podocytes en forme de pieuvre émettant des prolongements cytoplasmiques et recouvrant la MBG ; ces prolongements se terminent par des pédicelles qui constituent des interdigitations fines et entrecroisées entre elles et forment des pores rectangulaires de 40 sur 60 nm. Cette couche a un rôle dans la restriction au passage de taille par l'empêchement du passage des protéines à poids moléculaire supérieur à 60 KDa et dans la restriction au passage de charge grâce aux glycoprotéines polyanioniques qui recouvrent les pédicelles (**Godin-Ribuot, 2011**).

#### ❖ L'urine définitive

L'urine primaire passe de la chambre glomérulaire vers le tubule rénal : en plus de la perméabilité de l'épithélium du TCP, ce dernier est formé par des cellules pourvues de grosses mitochondries et de microvillosités denses ; la réabsorption des substances dissoutes est couplée au passage, vers le milieu intracellulaire, des ions  $\text{Na}^+$  par transport actif ; ce phénomène engendre un gradient de concentration entre le milieu urinaire apical et le milieu intracellulaire, permettant le passage de l'eau vers le milieu intracellulaire (**Zerbst-Boroffka et al., 1997**).

Dans le TCD, l'osmolarité du fluide tubulaire atteint sa valeur minimale en raison de sa caractérisation par l'imperméabilité à l'eau et la réabsorption de  $\text{NaCl}$  et  $\text{Ca}^{2+}$  par transport actif. Au niveau de TCR, la sécrétion de  $\text{K}^+$  est couplée à la réabsorption de  $\text{Na}^+$  qui est assurée par canal sodique stimulé par l'aldostérone, l'ADH provoque l'insertion des aquaporines dans les cellules de ce tube assurant la réabsorption de l'eau. Les tubules collecteurs rénaux s'anastomosent entre eux en formant le conduit papillaire qui déverse l'urine définitive dans le calice mineur et dans la vessie passant par le calice majeur, pelvis et l'uretère (**Zerbst-Boroffka et al., 1997**).

**METHODES  
D'ANALYSE  
PROTEIQUE**

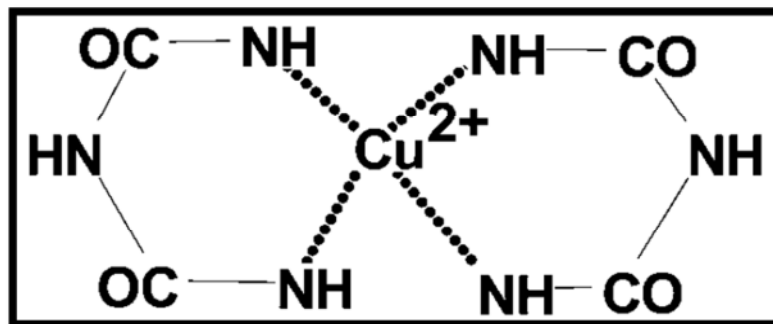
Les méthodes de dosage des protéines se basent sur les propriétés des acides aminés, ces méthodes sont généralement spectroscopiques. Les méthodes spectroscopiques sont utilisées pour analyser qualitativement et quantitativement des composés organiques et inorganiques. La spectroscopie est basée sur l'interaction rayonnement- matière (**Forbes, 2010**).

## I. Les méthodes colorimétriques

La spectrophotocolorimétrie est une méthode d'analyse quantitative, elle consiste à mesurer l'absorbance de la lumière visible par un soluté coloré.

### I.1. La méthode de Biuret

La méthode de Biuret est développée en 1949, elle est basée sur l'utilisation d'un réactif, le biuret ( $\text{NH}_2\text{-CO-NH-CO-NH}_2$ ), qui réagit avec des liaisons peptidiques en présence de cuivre ( $\text{Cu}^{2+}$ ) dans un milieu très alcalin en développant une couleur pourpre dont l'intensité est proportionnelle à la quantité des protéines ; La **figure 20** montre le mode de liaison d'un ion  $\text{Cu}^{2+}$  avec deux molécules de biuret. Cette méthode est simple, moyennement rapide, peu sensible (100  $\mu\text{g}$ ) et peut être interférée par certaines substances comme le saccharose (**Owusu-Apenten, 2002**).



**Figure 20** : Liaison de biuret à  $\text{Cu}^{2+}$  dans un milieu très alcalin (**Owusu-Apenten, 2002**). Chaque ion  $\text{Cu}^{2+}$  réagit avec deux molécules de biuret, ce complexe se lie aux liaisons peptidiques dont l'absorbance est mesurée à 545 nm

### I.2. La méthode de lowry

Cette méthode est développée en 1951, elle correspond à une combinaison d'une réaction au biuret et une réaction au Folin-Ciocalteu qui réagit avec la tyrosine et le tryptophane en développant une couleur bleu qui s'ajoute à la couleur pourpre de biuret. L'absorbance est mesurée à 745 nm ; cette méthode est sensible (1  $\mu\text{g}$ ), moyennement simple, moyennement rapide et peut être interférée par plusieurs substances comme le saccharose et l'acide éthylène diamine tetra-acétique (EDTA) (**Owusu-Apenten, 2002**).

### I.3. La méthode de Bradford

La méthode de Bradford développée en 1976 est un dosage colorimétrique basé sur le changement de l'absorbance, se manifestant par le changement de la couleur du bleu de coomassie après liaison avec les protéines. C'est une méthode quantitative qui permet de doser des protéines même à l'état de trace (faible concentration), elle est relative et nécessite de tracer une courbe d'étalonnage (**Bradford, 1976**).

#### I.3.1. Le principe :

Préparation des solutions : le dosage des protéines par la méthode de Bradford nécessite l'utilisation de trois solutions différentes :

- La solution 1 : correspond à la solution dont on veut déterminer la concentration des protéines ;
- La solution 2 : est une solution d'une concentration connue d'une protéine considérée comme une référence, elle est utilisée pour préparer la gamme étalon : série de tubes contenant le même volume de cette solution avec des concentrations différentes et successives ;

La solution 3 : est une solution d'un réactif qui développe une coloration en réagissant avec les protéines. Le même volume de cette solution est rajouté en même moment et dans les mêmes conditions dans tous les tubes de la gamme étalon et aussi dans les tubes contenant l'échantillon à doser (**Pandey et Budhathoki, 2007**).

La mesure de l'absorbance de la gamme étalon, puis traçage une droite : absorbance en fonction de la concentration et on obtient l'équation :  $y = \alpha x + \beta$  y : absorbance x : concentration (**Pandey et Budhathoki, 2007**).

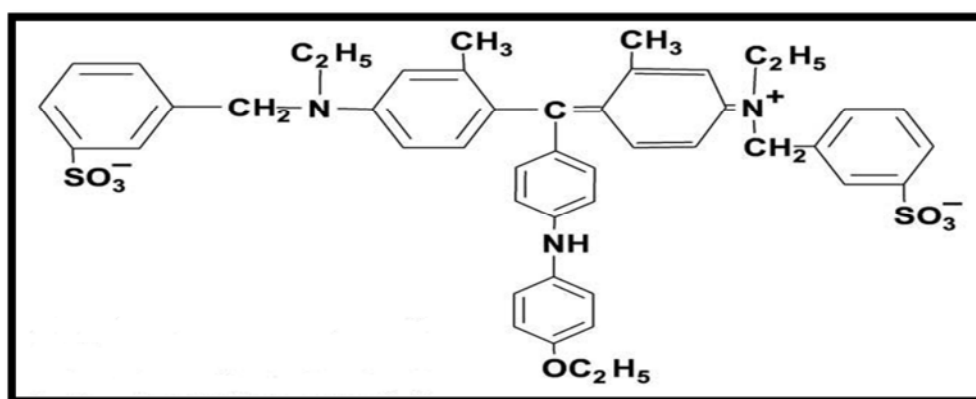
La détermination de la concentration de l'échantillon consiste à mesurer son absorbance et à calculer ensuite sa concentration en utilisant l'équation obtenue lors de l'étalonnage (**Pandey et Budhathoki, 2007**).

La méthode de Bradford est une méthode simple, rapide qui donne des résultats avec une grande sensibilité, en plus, elle nécessite un seul réactif et elle n'est pas coûteuse (**Lott et al., 1983**).

### I.3.2. Les solutions utilisées

#### ❖ La solution du bleu de coomassie :

Le bleu de coomassie G 250 est le réactif de la méthode de Bradford, c'est un colorant non spécifique, il se lie avec toutes les protéines ayant un poids moléculaire supérieur à 3 KDa (Spitz, 2006) ; à l'état libre il se caractérise par une forme cationique, une couleur entre le rouge et le marron et le spectre d'absorbance maximal est entre 465 et 470 nm ; le colorant une fois lié aux protéines, change sa forme cationique en une forme anionique, sa couleur devient bleu et son absorbance est mesurée à 595 nm. La **figure 21** ci-dessous représente la structure d'une molécule de bleu de coomassie G 250 (Owusu-Apenten, 2002).



**Figure 21** : Structure d'une molécule du bleu de coomassie (Owusu-Apenten, 2002).

Les molécules de ce réactif se lient fortement avec les résidus chargés positivement (Arginine, Lysine et Histidine) de sérum albumine bovine (BSA), par des liaisons ioniques entre les groupements chargés positivement des acides aminés basiques et les groupements sulfonate chargés négativement de bleu de coomassie.

Le bleu de coomassie se lie aussi avec les acides aminés aromatiques (Phénylalanine, Tyrosine et Tryptophane) de la BSA par des liaisons hydrophobes ou par les forces de Van Der Waals (Van Hold et al., 2006).

#### ❖ La solution phosphate bisodique (PBS) :

La solution PBS est une solution tampon saline (Marshall et Williams, 2000), la première formule de la solution PBS a été développée par DULBECCO Renato, elle contient : NaCl, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, NH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> et KCl.

La solution PBS est une solution isotonique : les sels constitutifs ont les mêmes concentrations dans une solution PBS et dans le plasma sanguin (**Marshall et Williams, 2000**), son PH est équivalent au PH physiologique, elle n'est pas toxique et elle est utilisée comme un diluant des substances biologiques et dans la chimie des protéines en se combinant avec la BSA (**Dulbecco et Marguerite, 1953**).

❖ **La solution BSA :**

L'albumine est une protéine du sang synthétisée par le foie (**Camus, 1983**), son poids moléculaire est de 66 kDa (**Ewing et al., 1997**), est une protéine de transport de nombreuses substances endogènes et exogènes dans le sang tel que les hormones et les médicaments (**Naik et al., 2010**).

La BSA est une molécule en forme de cœur (**Jachimska et Pajor, 2012**) composée de trois domaines et chacun est divisé en deux sous-domaines (**Agarwal et Salahuddin, 1987**).

En fonction du PH de la solution, la BSA peut adopter différentes conformations, les fonctions de ces transitions et leurs significations physiologiques sont au stade d'étude (**Jachimska et Pajor, 2012**).

## II. Les méthodes non colorimétriques

### II.1. La chromatographie

La chromatographie est une méthode d'analyse qui sépare les constituants d'un mélange. Elle est composée de deux phases : une phase mobile (liquide ou gaz) et une phase stationnaire (solide ou liquide). Chaque soluté est soumis à une force de rétention (exercée par la phase stationnaire) et une force de mobilité (exercée par la phase mobile) (**Erlangung, 2007**). Selon la nature de la phase mobile, la chromatographie est divisée en deux types :

- ❖ Chromatographie en phase liquide : la phase mobile correspond à un liquide ;
- ❖ Chromatographie en phase gazeuse : la phase mobile correspond à un gaz.

Trois principaux types de chromatographie existent :

- ❖ Chromatographie en phase gazeuse (CPG) ;
- ❖ Chromatographie en couche mince (CCM) ;
- ❖ Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) (**Erlangung, 2007**).



## Le principe de l'HPLC :

Le mélange à analyser injecté se dilue dans la phase mobile (un ou plusieurs solvants) qui l'entraîne à travers une colonne remplie et poreuse (phase stationnaire) ; au niveau de cette dernière, les constituants du mélange à analyser sont retenus. Un détecteur couplé à un enregistreur permet d'obtenir un chromatogramme correspondant à un ensemble des pics donc chacun est enregistré suite au passage de chaque soluté par la colonne (Zhou et al., 2010). La figure 22 montre le principe de HPLC.

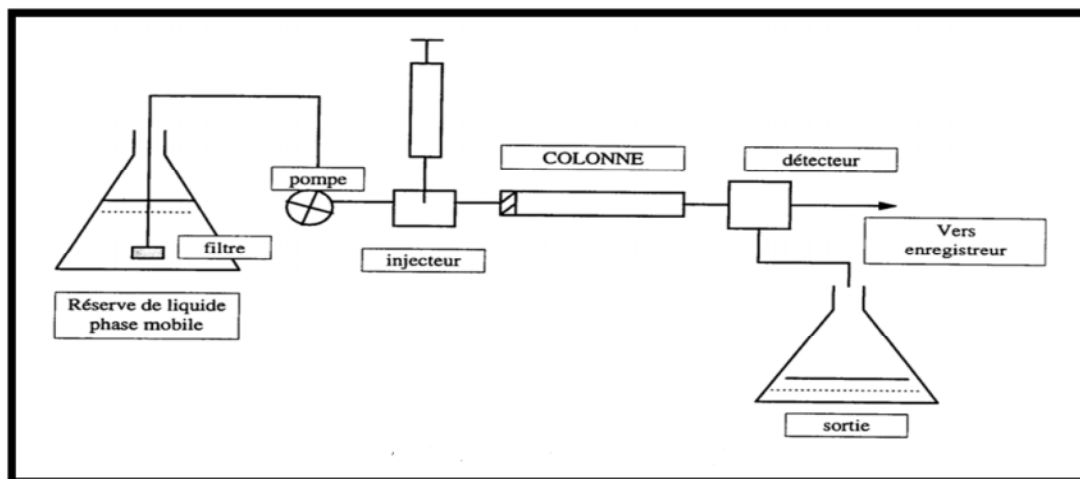


Figure 22 : Principe de HPLC (Zhou et al., 2010).

La phase mobile dilue l'échantillon à analyser qui passe par la phase stationnaire, le détecteur couplé à un enregistreur représente les résultats obtenus sous forme d'un chromatogramme.

## II.2. L'électrophorèse

L'électrophorèse est une méthode de séparation des molécules chargées en solution sous l'action d'un champ électrique (Agnèse, 1994). La protéine migre selon sa charge vers une électrode d'une charge opposée dont la vitesse de migration est inversement proportionnelle à la dimension de la molécule (Platenik, 2009)

## II.3. La spectrométrie de masse

Le spectromètre de masse, initialement conçu par la britannique Joseph John Thomson, permet de détecter et d'identifier des molécules d'intérêt par mesure de leur masse monoisotonique. De plus, la spectrométrie de masse permet de caractériser la structure chimique des molécules en les fragmentant. Son principe réside dans la séparation en phase gazeuse des molécules chargées (ions) en fonction de leur rapport masse/charge ( $m/z$ ). Cette

technique d'analyse chimique a pris un essor considérable, car elle se trouve utiliser dans de nombreux domaines de recherche (Ifa et al., 2008).

## II.4. La spectroscopie d'absorption infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF)

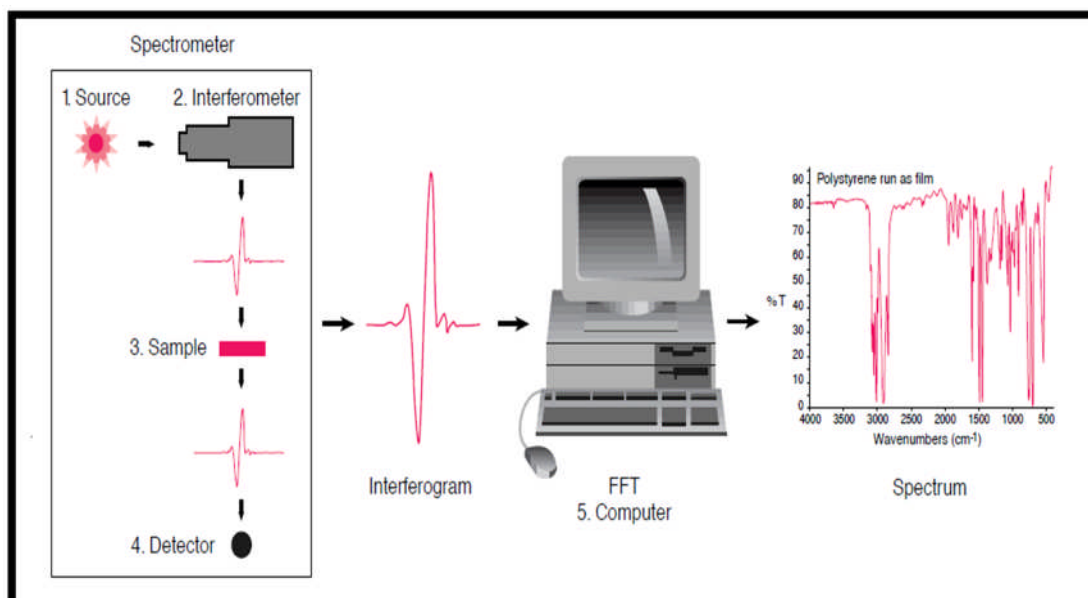
Le rayonnement infrarouge (IR) fut découvert en 1800 par Frédéric Wilhelm Hershel, ces radiations sont situées entre la région du spectre visible et des ondes hertziennes. Le domaine IR s'étend de 0.7  $\mu\text{m}$  à 50  $\mu\text{m}$ . Il est arbitrairement divisé en trois catégories, le proche IR (0.7 à 2.5  $\mu\text{m}$ ), le moyen IR (2.5 à 25  $\mu\text{m}$ ) et le lointain IR (25 à 50  $\mu\text{m}$ ) (Essendoubi, 2007).

### II.4.1. Principe :

Le spectre IR-TF d'une molécule donnée, est composé d'un ensemble des bandes d'absorption de ces liaisons atomiques ; le spectre d'un échantillon biologique complexe est la superposition des spectres de toutes ces molécules (aspect qualitatif) et en fonction de leurs concentration (aspect quantitatif) (Petibois et al., 2000).

Lors de la vibration de la molécule, l'espacement entre les charges et leurs répartitions changent et elles interagissent avec le champ électrique du rayonnement infrarouge (Essendoubi, 2007).

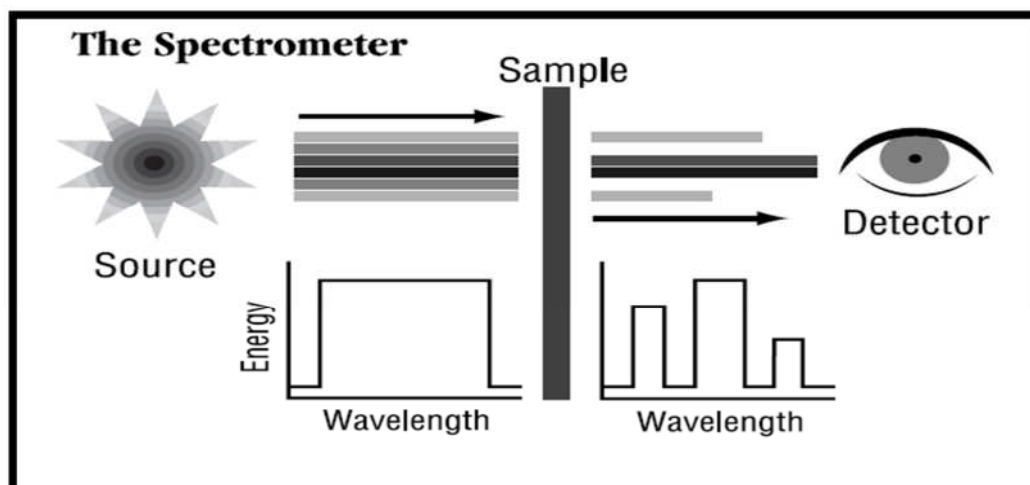
Comme il est montré dans la **figure 23 (Road, 2001)** les spectres sont enregistrés à l'aide d'un spectromètre IR-TF, il est constitué d'une source lumineuse, un interféromètre, un porte échantillon, un détecteur et un convertisseur analogique numérique correspondant à la transformée de Fourier; l'interféromètre est constitué d'un miroir fixe M1, un miroir mobile M2 et une lame séparatrice S (Manca, 1999).



**Figure 23** : Principe de la spectroscopie IR-TF (Road, 2001).

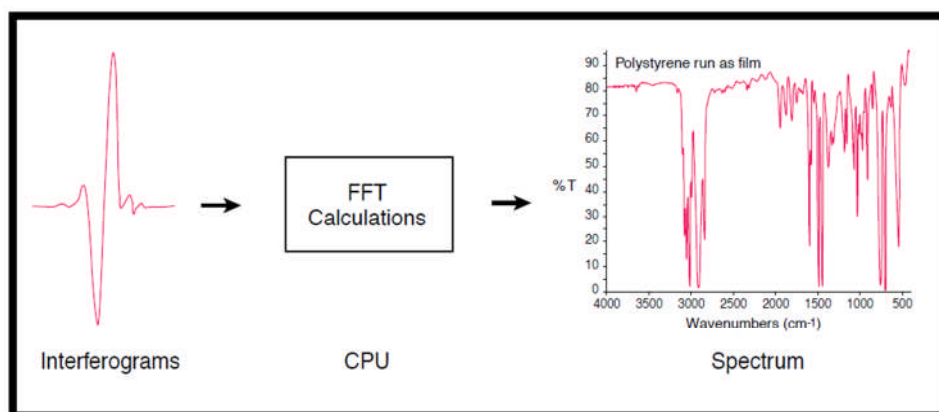
*Les rayons IR passent par l'interféromètre et traverse l'échantillon, le détecteur recueille et amplifie l'interférogramme, l'interprétation de ce dernier nécessite son passage par un convertisseur correspondant à une méthode mathématique appelée la transformée de Fourier ensuite l'information spectrale est représentée sur ordinateur.*

La moitié du faisceau lumineux est transmise vers le miroir M1 et l'autre moitié vers le miroir M2, après réflexion sur les deux miroirs, les deux parties du faisceau lumineux se recombinent au niveau de la séparatrice et passe par l'échantillon, certaines radiations sont absorbées par ce dernier et les autres le traverse (**figure 24**); l'interférogramme qui correspond au signal obtenu de la distribution spectrale de la source lumineuse et l'absorbance de l'échantillon est recueilli et amplifié par le détecteur, le convertisseur (transformée de Fourier) transforme le signal analogique (l'interférogramme) en un signal numérique manipulable par le système informatique (**figure 25**) (Road, 2001)



**Figure 24 :** Le devenir des radiations IR émises (Road, 2001)

Une partie des radiations IR émises est absorbée par l'échantillon et l'autre le traverse ; le détecteur recueille le signal d'absorption et d'émission sous forme d'un interférogramme.



**Figure 25:** Conversion d'interférogramme en spectre (Road, 2001)

Le signal obtenu ne peut pas être interprété sous forme d'interférogramme, il est converti par la transformée de Fourier en un spectre.

#### II.4.2. Les avantages :

- **La vitesse :** la plupart des mesures par spectroscopie IR-TF sont faites en quelques secondes ;
- **La sensibilité :** les détecteurs utilisés sont beaucoup plus sensibles, la sortie optique est beaucoup plus haute qui a comme conséquence des niveaux plus bas de bruit, cette sensibilité permet de détecter les plus petites molécules ;
- **La simplicité mécanique :** le miroir mobile est la seule pièce sans interruption mobile dans l'instrument c'est pour cela que la panne mécanique a une possibilité très petite ;
- L'instrument est intérieurement calibré (Road, 2001).

# **PARTIE PRATIQUE ET RESULTATS**

## I. Préparation des échantillons et des solutions

### I.1. Préparation des solutions

- ❖ **La solution PBS** : nous avons préparé 1000 ml de la solution PBS selon les instructions du fabricant pour l'utilisation des réactifs de cette solution (**Sigma-Aldrich, 1996**).
- ❖ **La solution BSA** : préparation de 5 ml de la solution BSA à concentration de 200 mg/ml (**Sigma-Aldrich, 1996**).
- ❖ **La solution de bleu de coomassie** : préparation de 75 ml de cette solution par l'utilisation de bleu de coomassie G250, l'éthanol et l'acide phosphorique (**Sigma-Aldrich, 1996**).

### I.2. Préparation des échantillons

- ❖ **Récupération des échantillons de sang et des urines**

Nous avons utilisé le sang et les urines de dix patients atteints de tumeurs cérébrales, les prélèvements des échantillons de sang et la récupération des échantillons des urines ont été faits dans les mêmes conditions.

Les patients sont différents selon le sexe et l'âge (**tableau IV**) et répartis par tranche d'âge (**tableau V**)

**Tableau IV** : Numéro, âge et sexe de chaque patient atteint de tumeurs cérébrales.

N° Echantillon	Age (ans)	Sexe
41-2013	33	♀
43-2013	5	♂
45-2013	63	♀
97-2013	73	♀
106-2013	36	♀
149-2013	45	♂
151-2013	30	♀
168-2013	78	♀
173-2013	26	♀
187-2013	44	♀

**Tableau V** : Répartition des patients par tranche d'âge.

Age (ans)	Nombre	Pourcentage
0 à 20	1	10 %
21 à 45	6	60 %
46 à 65	1	10 %
≥65	2	20 %
<b>Total</b>	10	100 %

### ❖ Purification des échantillons des urines par centrifugation

Après la centrifugation des échantillons des urines à une vitesse de 400 g pendant 10 minutes et à 4°C, nous avons récupéré le surnageant de chaque échantillon.

### ❖ Centrifugation des échantillons de sang

- Centrifugation sans frein des échantillons de sang à une vitesse de 3000 g pendant 30 minutes et à 4 °C.
- Récupération du plasma (surnageant) de chaque échantillon.

## II. La méthode de Bradford

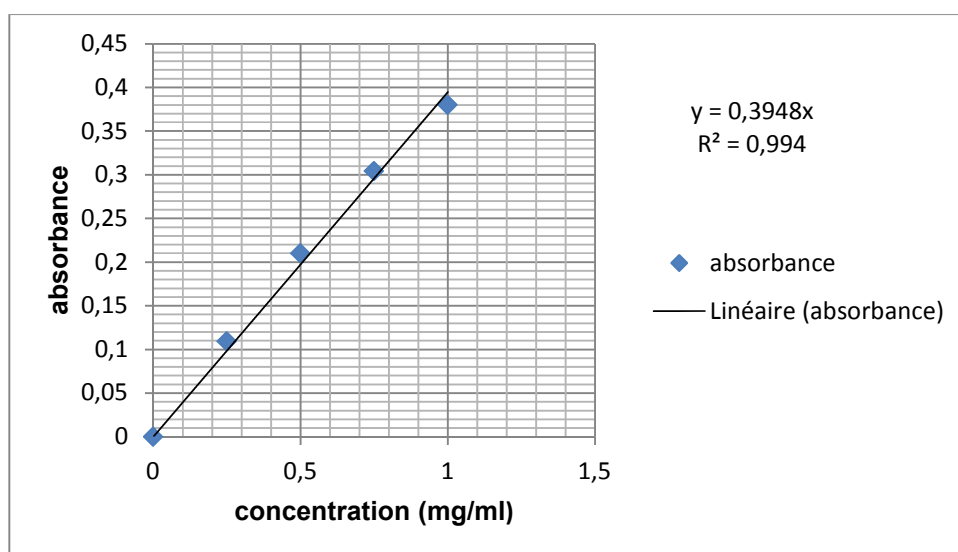
### II.1. La courbe d'étalonnage

- La gamme étalon est composée de plusieurs tubes contenant une solution de PBS-BSA à concentrations différentes.
- La mesure de l'absorbance a été réalisée après addition de la solution du bleu de coomassie aux solutions de PBS-BSA précédemment préparées.
- La mesure de l'absorbance de la gamme étalon est réalisée par spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm et cela après incubation pendant 25 minutes à l'obscurité ; les résultats obtenus sont représentés dans le **tableau VI** ci -dessous :

**Tableau VI** : les absorbances de la gamme étalon mesurées à 595 nm

Concentrations (mg/ml)	0	0,25	0,50	0,75	01
<b>Absorbance A 595 nm</b>	0,414	0,523	0,624	0,718	0,794
<b>Δ Absorbance</b>	0	0,109	0,210	0,304	0,380

Suite à ces résultats nous avons tracé la courbe d'étalonnage représentée dans la **figure 26**



**Figure 26** : Résultats de la courbe d'étalonnage.

*L'absorbance de la gamme étalon est mesurée à 595 nm après l'ajout de bleu de coomassie aux solutions PBS-BSA et incubation pendant 25 minutes à l'obscurité.*

## II.2. Le dosage des protéines dans les échantillons de sang et des urines

### ❖ Le sang

- Dilution au  $\frac{1}{2}$  des solutions mères.
- Ajout de la solution du bleu de coomassie aux solutions diluées.

### ❖ Les urines

Ajout de la solution du bleu de coomassie aux solutions mères.

La mesure de l'absorbance de nos échantillons est fait par spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm et cela après incubation pendant 25 minutes à l'obscurité, les résultats obtenus sont représentés dans les **tableaux VII** et **VIII** suivants :



**Tableau VII** : L'absorbance et la concentration de chaque échantillon de sang.

N° Echantillons	Absorbance	$\Delta$ absorbance	Concentration (mg/ml)	Concentration de la solution mère (mg/ml)
41-2013	2,917	2,503	6,341	12,682
43-2013	2,968	2,554	6,47	12,94
45-2013	2,942	2,528	6,404	12,808
97-2013	2,775	2,361	5,981	11,962
106-2013	2,997	2,583	6,543	13,086
149-2013	1,657	1,243	3,149	6,298
151-2013	2,334	1,920	4,864	9,728
168-2013	2,281	1,867	4,729	9,458
173-2013	2,411	1,997	5,059	10,118
187-2013	2,704	2,290	5,801	11,602

**Tableau VIII** : L'absorbance et la concentration de chaque échantillon des urines

N° Echantillon	Absorbance	$\Delta$ Absorbance	Concentration de la solution mère (mg/ml)
41-2013	1,126	0,712	1,804
43-2013	1,009	0,595	1,508
45-2013	1,499	1,085	2,749
97-2013	1,385	0,971	2,460
106-2013	1,345	0,931	2,359
149-2013	0,450	0,036	0,092
151-2013	0,549	0,135	0,342
168-2013	0,697	0,283	0,717
173-2013	0,443	0,029	0,074
187-2013	0,647	0,233	0,591

❖ **La concentration protéique plasmatique et urinaire des patients selon les tranches d'âge**

D'après ces résultats nous remarquons que, les concentrations protéiques plasmatiques de nos patients varient entre [6.298 -13.086] (g/L), ces concentrations sont inférieures à la concentration protéique plasmatique observée chez les sujets sains et qui est de 60 à 80 g/L. Contrairement aux concentrations protéiques urinaires variant entre [0.074 – 2.749] (g/L) qui sont supérieures à la concentration plasmatique urinaire observée chez les sujets sains et qui est de 0.06g/L. Trois niveaux d'augmentation de la concentration protéique urinaire peuvent être définis :

- Le niveau 1 : la concentration protéique urinaire varie entre]0.06 – 0.1[(g/L) : l'augmentation de la concentration est légère ; ce niveau inclut la patiente 173-2013 : une femme de 26 ans (0.074 g/L) et le patient 149-2013 : homme de 45 ans (0.092 g/L).
- Le niveau 2 : la concentration protéique urinaire varie entre [0.1-0.6 [(g/L) : l'augmentation de la concentration est moyenne, ce niveau inclut la patiente 151-2013 : femme de 30 ans (0.342 g/L) et 187-2013 : une femme de 44 ans (0.591 g/L)
- Le niveau 3 : la concentration protéique urinaire est  $\geq 0.6$  g/L, l'augmentation de la concentration est forte, ce niveau inclut la patiente 168-2013 : femme de 78 ans (0.717 g/L) ; le patient 43-2013 : un enfant de 5 ans (1.508 g/L), la patiente 41-2013 : femme de 33 ans (1.804 g/L), la patiente 106-2013 : une femme de 36 ans (2.359 g/L), la patiente 97-2013 : femme de 73 ans (2.460 g/L) et la patiente 45-2013 : femme de 63 ans (2.749 g/L).

**Selon les tranches d'âge nous remarquons que :**

0 à 20 ans :

- Chez un enfant de 5 ans, nous remarquons une diminution de la concentration des protéines dans le plasma et une forte augmentation de cette concentration dans les urines (sang : 12.682 g/L et urines : 1.804 g/L).

21 à 45 ans :

- Chez une femme de 26 ans et un homme de 45 ans, les concentrations protéiques plasmatiques sont diminuées : (10.118 g/L - 6.298 g/L) respectivement, tandis ces

concentrations sont légèrement augmentées dans les urines : (0.074 g/L - 0.092 g/L) respectivement.

- Nous remarquons une augmentation moyenne de la concentration des protéines dans les urines de deux femmes de 30 ans et 44 ans (0.342 g/L - 0.591 g/L) respectivement, avec diminution des concentrations protéiques plasmatiques chez ces deux femmes (30 ans : 9.728 g/L - 44 ans : 11.602 g/L).
- Chez deux femmes de 33 ans et de 36 ans, nous remarquons une diminution des concentrations protéiques plasmatiques : (33 ans : 12.682 g/L - 36 ans : 13.086 g/L) et une forte augmentation de ces concentrations dans les urines : (1.804 g/L et 2.359 g/L) respectivement.

46 à 65 ans :

- Chez une femme de 63 ans, nous constatons une forte augmentation de la concentration des protéines dans les urines (2.749 g/L) et diminution de cette concentration dans le plasma (12.808 g/L).

≥65 ans :

- Les concentrations protéiques sont fortement élevée dans les urines de deux femmes de 78 ans et de 73 ans : (0.717 g/L – 2.460g/L) respectivement et elles sont faibles dans le sang : (73 ans : 11.962 g/L - 78 ans : 9.458 g/L).

## **I.La spectroscopie IR-TF**

- Nous avons préparé à partir des solutions mères des solutions à concentration de 1µg/ml.
- Par une seringue, nous avons déposé une à deux gouttes de chaque solution (1µg/ml) entre deux plaques KBr (Bromure de potassium).
- Chaque échantillon est ensuite soumis à un rayon IR.

Les résultats obtenus sont représentés dans les **figures 27, 28, 29 et 30** suivantes

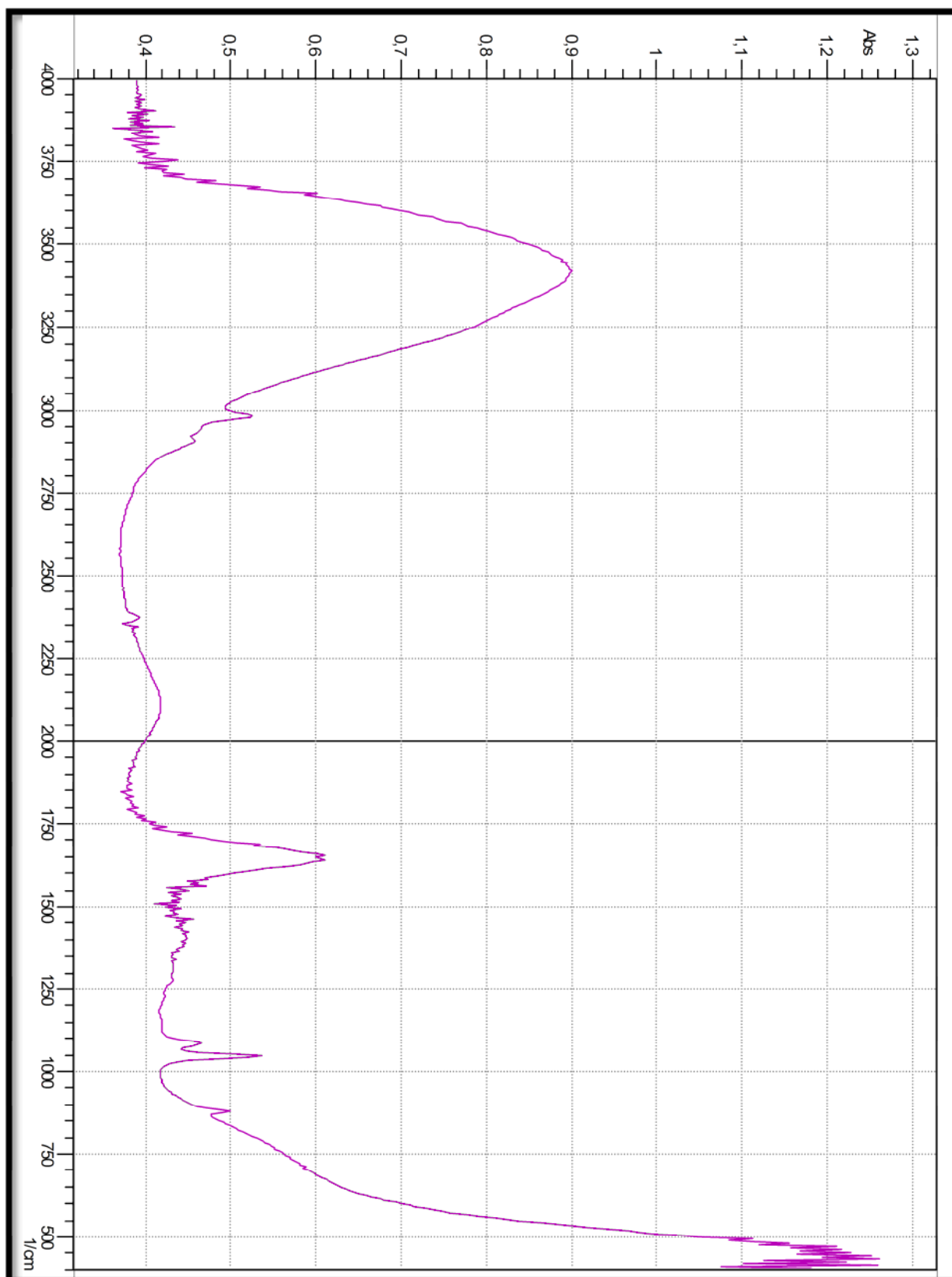


Figure 27 : Le profil de l'échantillon des urines (106-2013).

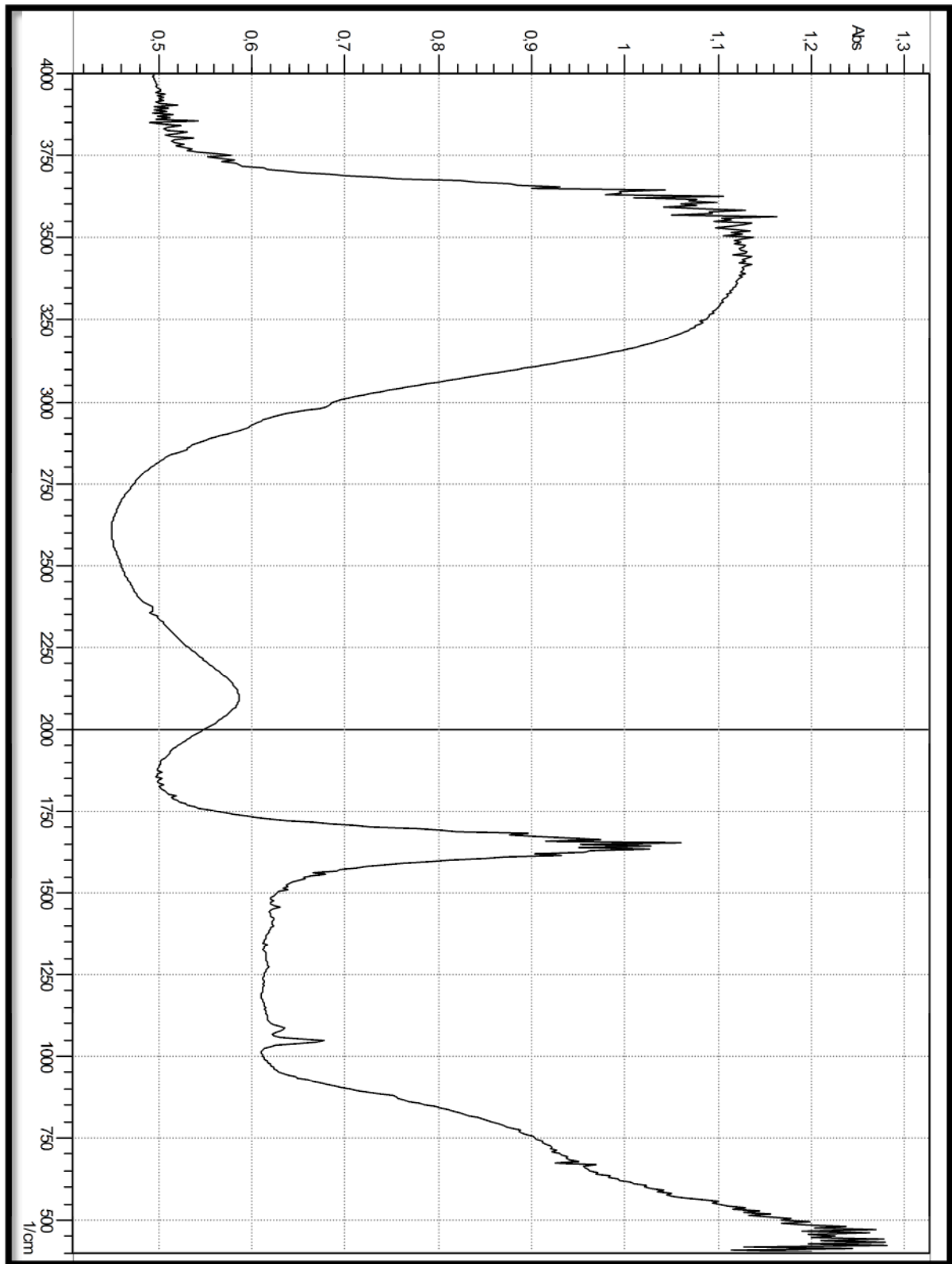


Figure 28 : Le profil de l'échantillon de sang (41-2013).

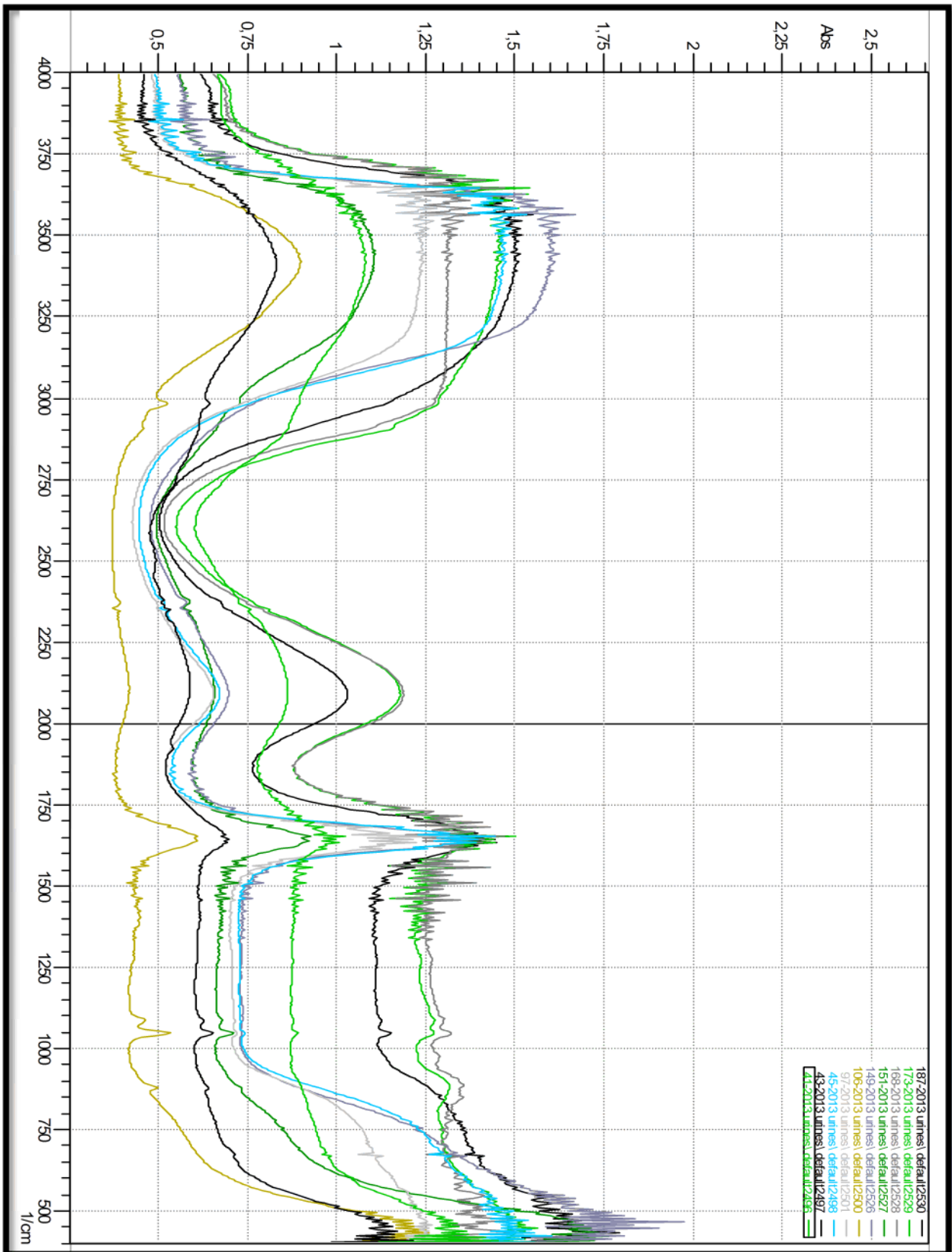


Figure 29 : Les profils de tous les échantillons des urines.

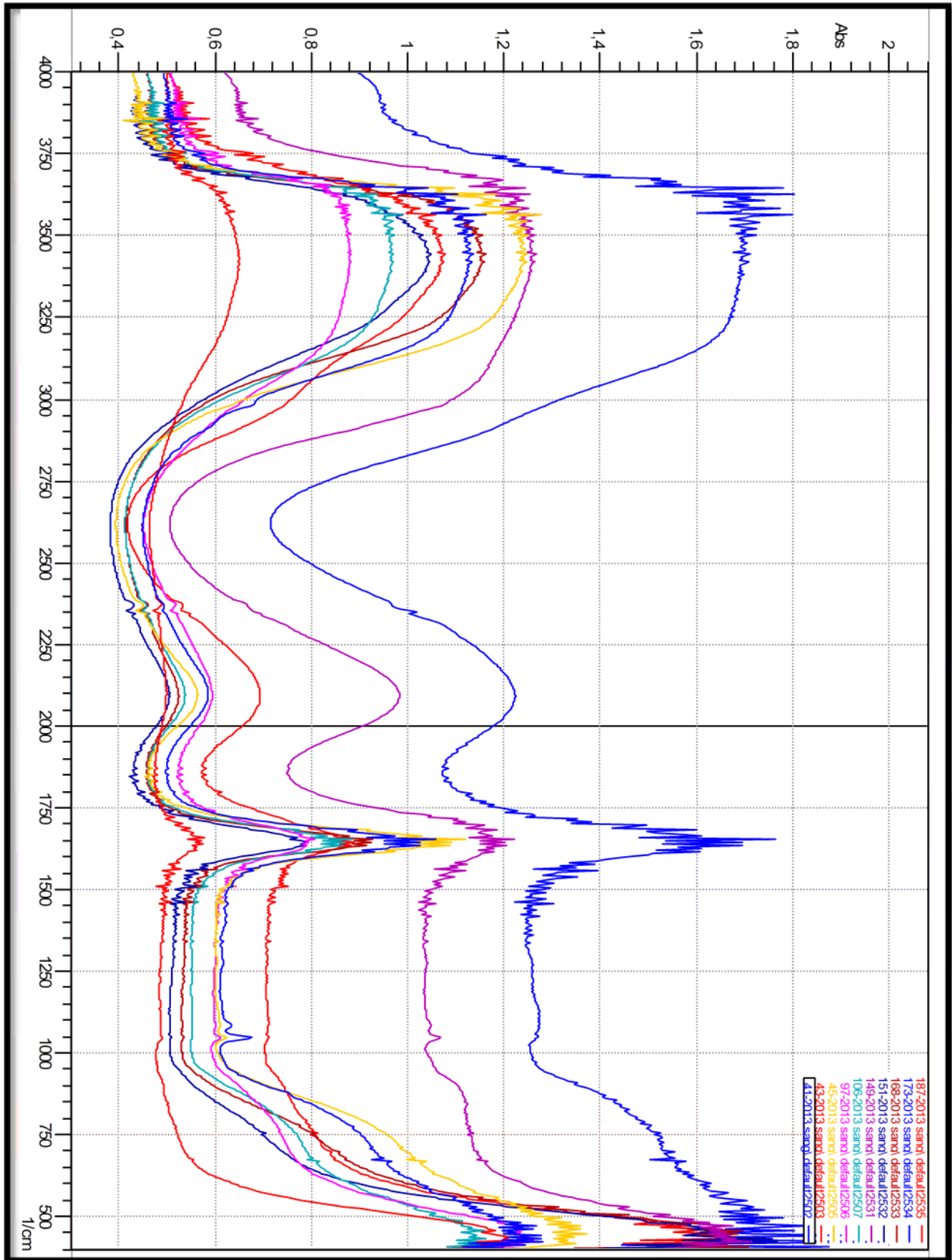


Figure 30 : Les profils de tous les échantillons de sang.

Les spectres représentant les résultats de la spectroscopie infrarouge. Les **figures 27, 28** montrent des graphiques où dans les domaines d'absorbance allant de 4000 à 2000  $\text{cm}^{-1}$  nous remarquons la présence de familles chimiques correspondant notamment aux amines, aux composés aromatiques, à des acides libres ou liés. Dans les domaines d'absorbance allant de 2000 à 1500  $\text{cm}^{-1}$  nous remarquons la présence de pics correspondant à des composés de conformation secondaire ou tertiaire. Toute fois nous observons des variations dans l'intensité de la transmittance entre les différents échantillons. De plus nous remarquons l'existence d'un pic dans le domaine d'absorbance allant de 1100 à 1000  $\text{cm}^{-1}$  (**figures 29, 30**). Le **tableau IX** montre la présence ou l'absence de ce pic qui permet de classer nos échantillons en quatre groupes :

**Tableau IX** : présence ou absence du pic (1100-1000 $\text{cm}^{-1}$ ) dans les profils de sang et des urines de chaque patient

N° Echantillon	41	43	45	97	106	149	151	168	173	187
<b>Profil du Sang</b>	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-
<b>Profil des Urines</b>	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+

- ❖ Le groupe (1) : le pic (1100 -1000  $\text{cm}^{-1}$ ) est présent dans le profil du sang et dans celui des urines, y compris les patients 41 ; 45 et 97.
- ❖ Le groupe (2) : le pic (1100 -1000  $\text{cm}^{-1}$ ) est absent dans les profils (sang et urines) de patient 173.
- ❖ Le groupe (3) : correspond au groupe des patient 43 ; 106 ; 151 ; 168 et 187, où le pic (1100-1000  $\text{cm}^{-1}$ ) est présent dans les profils des urines et absent dans ceux du sang.
- ❖ Le groupe (4) : le pic (1100-1000  $\text{cm}^{-1}$ ) est présent dans le profil du sang et absent dans celui des urines de patient 149.

L'ensemble des résultats obtenus par la méthode de Bradford et la spectroscopie IR-TF sont récapitulés dans le **tableau X**.



**Tableau X:** Tableau récapitulatif des résultats de la méthode de Bradford et la spectroscopie IR-TF.

N° Echantillon	Sexe	Age (ans)	Concentration des protéines (g/L)		Le pic (1000 - 1100 cm <sup>-1</sup> ) dans le profil	
			Sang	Urines	Sang	Urines
41-2013	♀	33	12,682	1,804	+	+
43-2013	♂	5	12,94	1,508	-	+
45-2013	♀	63	12,808	2,749	+	+
97-2013	♀	73	11,962	2,460	+	+
106-2013	♀	36	13,086	2,359	-	+
149-2013	♂	45	6,298	0,092	+	-
151-2013	♀	30	9,728	0,342	-	+
168-2013	♀	78	9,458	0,717	-	+
173-2013	♀	26	10,118	0,074	-	-
187-2013	♀	44	11,602	0,591	-	+

# **DISCUSSION ET CONCLUSION**

D'après les statistiques de l'OMS, le cancer est la cause d'environ 7,6 millions de décès annuellement, représentant ainsi 13% de la mortalité mondiale, ce qui place les pathologies cancéreuses comme étant la 2<sup>ème</sup> cause de mortalité après les maladies cardiovasculaire. En Europe les tumeurs cérébrales représentent respectivement la 12<sup>ème</sup> et 9<sup>ème</sup> place en terme de nouveaux cas et de mortalité par cancer. Cela équivaut à 100000 décès annuel de patients avec des tumeurs cérébrales dont la moyenne d'âge est d'environ 52 ans (**Halboub et al., 2012**), (**Ferlay et al., 2013**).

L'OMS souligne que plus de 70% des cas surviennent dans des pays à faible revenu ou à revenu intermédiaire et les projections tendent à démontrer que le nombre de nouveaux cas et de mortalité dans ces pays va continuer à augmenter (**Halboub et al., 2012**). Ces observations suggèrent que les cancers de façon général et les tumeurs cérébrales en particulier (au vue de l'âge précoce de l'apparition de la maladie) est un problème de santé publique majeur dans des pays en développement tel que le notre et qu'il est impératif de le prendre en charge (**Halboub et al., 2012**).

Le sang et les urines sont les liquides biologiques les plus importants et les plus abondants présents dans l'organisme où les marqueurs tumoraux sont retrouvés soit dans le sang soit dans les urines ou bien dans les deux fluides biologiques (**Puyraimond, 2007**).

Les patients enrôlés dans notre étude ont été admis à l'hôpital pour exérèse tumorale, le sang et les urines ont été collectés à l'admission. La moyenne d'âge de ces patients est de 43,3 ans avec une prédominance de personnes dont l'âge varie entre 21 et 45 ans comme le montre le **tableau XI**, la moyenne d'âge des patients est inférieur à celle observée au niveau européen et américain suggérant ainsi une prédisposition d'apparition précoce de tumeurs cérébrales dans notre région ou bien la présence de pollutions environnementales tel que les pesticides qui sont connus pour avoir une influence sur l'apparition des cancer notamment les tumeurs cérébrales (**Institut national du cancer, 2010**).

Le sex ratio (♀/♂) dans notre étude est de 4. Ce résultat est contraire à ce qui est connu dans la littérature où le sexe ratio est légèrement en faveur des hommes (**Sun et al., 2012**). Ce résultat est probablement au fait que l'effectif de notre échantillon est petit (n=10).

L'analyse de la concentration protéique plasmatique et urinaire par la méthode colorimétrique de Bradford, nous avons observé une diminution de la concentration protéique plasmatique et une augmentation de la concentration protéique urinaire pour l'ensemble des patients. Toute fois, cette augmentation est de différents niveaux, mais elle n'est liée ni au sexe ni à l'âge des patients. Cela démontre que le dysfonctionnement de la filtration glomérulaire induisant une protéinurie est indépendant des deux paramètres sus cités

(l'âge et sexe). Cela suggère qu'éventuellement ce dysfonctionnement peut être lié aux types de la tumeur cérébrale et/ou de son grade de malignité.

En raison des vomissements, le patient atteint d'une tumeur cérébral est déshydraté (**Mai Ba, 2010**), cette déshydratation augmente la pression osmotique qui stimulent la synthèse par l'hypothalamus de l'ADH (hormone anti-diurétique). Cette hormone en se liant un récepteur spécifique trouvé à la surface des vaisseaux sanguins, provoque la vasoconstriction de ces vaisseaux et l'augmentation de la pression artérielle (**Hazard et Perlemuter, 2002**) ;

Les hémorragies produites chez un patient atteint de tumeurs cérébrales diminuent la pression artérielle, cette dernière est déterminée grâce aux barorécepteurs qui activent le système rénine-angiotensine II impliqué dans l'augmentation de la pression artérielle (**Petitclerc, 2013**) ;

Les douleurs, le stress et les médicaments utilisés par les patients atteints de tumeurs cérébrales tels que les barbituriques et les benzodiazépines ; stimulent la synthèse de l'ADH (**Devulder, 2004**).

L'ensemble de ces paramètres cités, peut éventuellement influencer le bon fonctionnement de la filtration glomérulaire, ce qui peut expliquer les résultats que nous avons obtenus. Toutes fois des études complémentaires doivent être menées pour mieux comprendre ce phénomène.

Tableau XI: Type, localisation et volume de la tumeur de chaque patient

N° Echantillon	Sexe	Age (ans)	Concentration des protéines (g/L)		Le pic (1100-1000 cm <sup>-1</sup> ) dans le profil		Localisation	Type	Volume (cm <sup>3</sup> )
			Sang	Urines	Sang	Urines			
41-2013	♀	33	12.682	1.804	+	+	Tronc occipital	/	/
43-2013	♂	05	12.940	1.508	-	+	Fosse cérébrale postérieure	médulloblastome	87
45-2013	♀	63	12.808	2.749	+	+	Fosse cérébrale	méningiome	147
97-2013	♀	73	11.962	2.460	+	+	/	/	/
106-2013	♀	36	13.086	2.359	-	+	Frontal gauche Frontal para sagittal droit	Glioblastome II	24 7
149-2013	♂	45	6.298	0.092	+	-	Tempo pariétal droit	Glioblastome VI	82 (rechute avec une tumeur de 204)
151-2013	♀	30	9.728	0.342	-	+	Fronto pariétal gauche	méningiome	290
168-2013	♀	78	9.458	0.717	-	+	Processus intracrânien fronto pariétal	hémangioblastome	98
173-2013	♀	26	10.118	0.074	-	-	Partie supérieure de la fosse gauche	méningiome	95
187-2013	♀	44	11.602	0.591	-	+	Parenchymateux pariétal droit	Glioblastome	54 (observation de rechute)

Le spectre d'un échantillon biologique complexe est la superposition des spectres de toutes ces molécules (aspect qualitatif) et en fonction de leur concentration (aspect quantitatif) (**Petibois et al., 2000**).

Les résultats obtenus par l'utilisation de la spectroscopie IR-TF pour l'analyse du sang et des urines des patients nous ont permis d'observer :

Malgré l'utilisation de la même concentration protéique (1µg/ml) l'intensité de transmittance observée pour l'ensemble des échantillons (sang et urines) présente des différences importantes (**figures 29 et 30**). En effet, les spectres correspondant aux échantillons des patients 151 et 149 montrent le plus haut niveau de transmittance, ces deux patients présentent le plus grand volume tumoral et le stade le plus agressif (glioblastome VI et méningiome).

Cela nous laisse supposer qu'en fonction de la taille ou de grade histologique de la tumeur qui représente les deux plus importants paramètres renseignant sur l'activité tumorale, des variations dans la composition du sang ou des urines peuvent être relevées et cela indépendamment de la concentration protéique. Ainsi, il semblerait que le volume tumoral et le grade histologique ont une influence sur la composition et la concentration des éléments chimiques (alcaloïdes, aldéhydes, acides,...etc.) présents dans le sang et les urines des patients. De ce fait, il est important d'analyser non seulement le profil protéique mais aussi le profil organique complet du sang et des urines à fin de pouvoir identifier des profils différentiels pouvant servir de marqueurs de pronostic et /ou de diagnostic.

Nous avons remarqué l'existence différentielle d'un pic dans la région (1100-1000  $\text{cm}^{-1}$ ) en fonction de sa présence ou de son absence, il nous a été possible de classer les patients en quatre groupes différents. Le domaine d'absorbance (1100-1000  $\text{cm}^{-1}$ ) correspond soit à la présence d'un alkyle de type propargyle ( $\text{C}_3\text{H}_6$ ) ou bien une chaîne polypeptidique primaire (**Centre Français de technologie, 2000**)

Sous l'effet des phospholipases A2 C ou D (PLA2 C ou d), l'acide arachidonique se libère de la bicouche phospholipide membranaire. Cet acide polyinsaturé joue un rôle important dans la neurotransmission, activation de plusieurs voies de signalisation, comme il est considéré comme un précurseur des eicosanoïdes. Des études ont montré que les PLA2 sont hyperactives dans le tissu cérébral au cours des différentes atteintes telles que les tumeurs cérébrales (**Pecker et al., 1998**). C'est ce qui favorise la libération de grande quantité d'acide arachidonique qui suite à la peroxydation lipidique et sa fragmentation sous forme des alkyles de type propargyle se lie avec : le site cystéine (Cys) de la protéine ubiquitine

empêchant l'ubiquitination de la protéine cible ; avec le site actif Cys des caspases en bloquant ces dernières et en inhibant le processus de l'apoptose, comme il peut se lier avec les albumines sériques (**Ekkebus et al., 2013**).

Dans le cas où le pic correspond à une chaîne polypeptidique primaire, cette dernière peut être le résultat de la sécrétion d'une protéine mal repliée ou bien issue du clivage de la totalité ou d'un fragment de la partie extracellulaire d'une protéine exprimée à la surface des cellules tumorales, c'est le cas par exemple de Her-2 ou de la Nectine-4 (**DeRycke et Ghidouche, 2010**) (**Hoffmann, 2013**).

Les Aquaporines (AQP4) sont des récepteurs intégrés dans la membrane plasmique des prolongements des astrocytes jouant un rôle important dans le passage de l'eau et la régulation de la composition en potassium ( $K^+$ ). Des études ont montrées qu'au cours de développement des tumeurs cérébrales de haut grade, l'altération de l'expression des AQP4 est signalée. Engendrant ainsi des modifications quantitatives (sous ou surexpression) et/ou modification qualitatives (AQP4 tronqué) (**Isoardo et al., 2012**).

Comme nous l'avons cité précédemment, la pollution aux pesticides peut être un élément favorisant l'apparition de tumeurs cérébrales. Ainsi, il est possible que pour les échantillons présentant un faible taux du pic ( $1100-1000\text{ cm}^{-1}$ ), une pollution aux pesticides n'est pas à écarter, car les alkyles sont des constituants de nombreux pesticides.

Même si nous avons pu apporter des résultats ouvrant la perspective prometteuse de mettre en évidence un marqueur ou des profils pouvant améliorer le pronostic ou le diagnostic des tumeurs cérébrales ; il est impératif de :

- ❖ Augmenter le nombre de patients incorporés dans l'étude.
- ❖ Incorporer les sujets sains dans l'étude à fin de comparer leurs profils correspondant avec ceux des patients.
- ❖ Collecter et analyser le liquide céphalorachidien (LCR).
- ❖ Analyser les profils protéines des différents liquides biologiques par électrophorèse sur gel ou par HPLC.
- ❖ Identifier les composés non protéiques présents de façon différentielle dans les liquides biologique et entre les patients et les donneurs sains.

**REFERENCES**

**BIBLIOGRAPHIQUES**



## ***REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES***

1. **Abu Amin N., Bhasin R., Boukef K., Cruz J., Harris G., Lloyd S., Madan N. et Del Pozo A.**, 2008. Manuel de gestion, maintenance et utilisation du matériel de la chaîne du froid pour le sang. *OMS, Suisse. 114p.*
2. **Agarwal S.K. et Salahuddin A.**, 1987. Domain II + III of bovine serum albumin: Isolation and its characterization. *J. Biosci.12(3) :191-202.*
3. **Andaloussi S.**, 2010. Les tumeurs du système nerveux central : anatomie pathologique et difficultés diagnostiques (A propos de 306 cas). *Univ. Sidi Mohamed Ben Abdellah. FES, Maroc. 159p.*
4. **Anderson N.L. et Anderson N.G.**, 2002. The Human Plasma Proteome. *Reviews/Perspectives. Molecular & Cellular Proteomics 1(11): 845-867.*
5. **Andre J.M., Catala M., Morere J.J., Escudier E., Katsanis G. et Poirier J.**, 2008. Histologie : Les tissus. PCEM1. *Univ. Paris VI, 119p.*
6. **Aubron C., Huet O., Ricome S., Borderie D., Pussard E., Leblanc P.E., Bouvet O., Vicaut E., Denamur E. et al.**, 2012. Changes in urine composition after trauma facilitate bacterial growth. *BMC Infect. Dis.12:330.*
7. **Azim W., Azim S., Ahmed K., Shafi H., Rafi T. et Luqman M.**, 2004. Diagnostic Significance of serum protein electrophoresis. *Biomedica, 20: 40-44.*
8. **Baldi I., Bard D., Barouki R., Benhamou S., Benichou J., Bernier M.O., Bouchot O., Carayon P., Ceraline J. et al.**, 2008. Cancer et environnement. *Expertise collective. Ed. Inserm. Paris. 914p.*
9. **Bauman G. et Macdonald D.**, 2007. CNS. *Central Brain Tumor Registry.*  
<http://www.cbtrus.org>
10. **Benabdesselam O., Ziani S. et Beaudoux J. L.**, 2007. La protéine S-100B : Biomarqueur de diagnostic et de suivi de lésions cérébrales aiguës. *Spectra Biologie. 158 : 40-44.*
11. **Bernard I., Campone M., Douadi-Gaci Z., Jadaud E., Loussouarn D., Menegalli D., Menei P. et Michalak-Provost S.**, 2006. Neuro- oncologie partie : partie métastases cérébrales. Stratégie du diagnostic, de traitement et de surveillance. *ONCO, Pays de la Loire. 16p.*

12. **Boiteux G.**, 2008. Effet de ligands PPAR (Peroxisome Proliferator Activated Receptors) sur l'expression de deux marqueurs potentiel De progression des cancers de la vessie : Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), Adipocyte Fatty Acid Binding Protein (AFABP). *Thèse. Univ. Franche-Comte. France. 247p.*
12. **Bonita R., Beaglehole R. et Kjellström T.**, 2010. Éléments d'épidémiologie. *OMS. éd. 2. 246p.*
13. **Bouvier C., Fernandez C., Meyronet D. et Figarella-Branger D.**, 2005. Examens cytologique, histologique, immunohistochimique et génétique des tumeurs du système nerveux central. *EMC-Neurologie 2: 557–585.*
14. **Bradford M.M.**, 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Anal. biochem. 72, 248 254.*
15. **Callet N.**, 2004. Les marqueurs tumoraux sériques dans les cancers de l'ovaire et du col utérin. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée 19 : 366–369.*
16. **Campos-Fernandes J.-L., Descotes F., Andre J., Perrin P. et Devonec M., Ruffion M.**, 2007. Intérêt des marqueurs urinaires dans le diagnostic et le suivi des tumeurs urothéliales de vessie. *Centre Hospitalier Lyon France. Prog Urol, 17(1) 23-34.*
17. **Camus E.**, 1983. Diagnostic de la trypanosomose bovine sur le terrain par la méthode de centrifugation hématocrite. *Rev. sei. tech. Off. int. Epiz., 2 (3), 751-769.*
18. **Centre Français de technologie**, 2000. Spectroscopie dans l'infrarouge. *Technique de l'ingénieur, traité, analyse et caractérisation.*
19. **Chabannes E., Bernardini S., Wallerand H et Bittard H.**, 2001. L'angiogenèse dans les tumeurs vésicales : indicateur pronostique et cible thérapeutique. *Service d'Urologie, Hôpital Saint-Jacques, Besançon, France. Progrès en Urologie 11 : 417-427.*
20. **Clatz O., Bondiau P.Y., Delingette H., Sermesant S., Warfield S.K., Malandain G. et Ayache N.**, 2004. Brain Tumor Growth Simulation. *Rapport de recherche N° 5187. INRIA. 48p.*
21. **Colle M.A.**, 2011. Le diagnostic histologique des gliomes canins. Que peut-nous Apprendre la médecine humaine? *Neurologie des carnivores domestiques. Académie Vétérinaire de France. INRA. 14p.*
22. **Cortese T. et Zemmar A.**, 2007. Etudes de p53 et Blocage du cycle cellulaire en G1/S. *Univ. Paul Sabatier Toulouse III. France. 24p.*

23. **De Pontual L., Lyonnet S. et Amiel J.,** 2010. Anomalies de développement et prédisposition aux tumeurs de l'enfant. *Archives de Pédiatrie*, 17 :1220 :1227.
24. **De Rycke M.S., Pambuccian S.E., Gilks B., Kalloger S.E., Ghidouche A., Lopez M., Bliss R.L., Geller M., Argenta P.A. et al.,** 2010. Nectin 4 Overexpression in Ovarian Cancer Tissues and Serum. Potential Role as a Serum Biomarker. *Am J Clin Pathol* 2010;134:835-845
25. **Desmetz C.,** 2004. Effets de composés oestrogéniques (apigénine, kaempférol et Bisphénol A) sur la cancérogénèse mammaire chimiquement induite chez le rat. *Mém. Univ. Bourgogne, B DIJON*. 40p.
26. **De Villartay J.P.,** 1999. Physiopathologie de la recombinaison V(D) J du SCID TB- à la leucémie. *Hématologie* 5(1), 31-42.
27. **Devulder B.,** 2004. Médecine vasculaire. *Ed. Masson. Paris*. 498p.
28. **Di Marino V., Etienne Y et Niddam M.,** 2011. Atlas photographique en couleur du système nerveux central. *Springer-Verlag. Paris, France*. 271p.
29. **Douc-Rasy S., Goldschneider D., Million K. et Benard J.,** 2004. Interactivité entre p73 et p53 dans les cancers : un modèle, le neuroblastome. *Médecine sciences* 20(3) : 317-324.
30. **Drake R.L., Vogl W. et Mitchell A.W.M.,** 2006. Anatomie pour les étudiants. *Ed. Elsevier, Masson, S.A.S*. 809p.
31. **Drane P., Alvarez S., Meiller A. et May E.,** 2002. L'activation de la protéine p53, un événement déterminant de la réponse cellulaire aux radiations ionisantes. *Médecine Nucléaire - Imagerie fonctionnelle et métabolique* 26(3) :139-147.
32. **Dubois M.,** 2008. Développement de techniques analytiques pour l'évaluation des Protéines thérapeutiques et des biomarqueurs par spectrométrie de masse. *Thèse. Doc. Univ. Pierre et Marie Curie. Paris VI. France*. 275p.
33. **Ducray F. et Chinot O.,** 2009. Glioblastomes : aspects moléculaires et prise en charge actuelle. *Oncologie* 11: 67-71
34. **Dulbecco R. et Marguerite V.,** 1953. Plaque formation and isolation of pure lines with poliomyelitis viruses. *The National Foundation for Infantile Paralysis, Inc.* 157-182
35. **Durando X., Lemaire J.J., Cure H. et Mazeron J.J.,** 2006. Les tumeurs intracrâniennes. Polycopié national de cancérologie. *Univ. Médicale Virtuelle Francophone*. 8p.

36. **Ekkebus R., Kasteren S.I.V., Kulathu A., Scholten A., Berlin I., Geurink P.P., De Jon A., Goerdalay S., Neefjes J. et al., 2013.** On terminal alkynes that can react with active-site Cysteine nucleophiles in proteases. *pubs.acs.org/JACS. Chem. Soc. 135, 28672870.*
37. **Emily M., 2006.** Modèles statistiques du développement de tumeurs cancéreuses. *Thèse Doc. Inst. Nat. Polytec. Grenoble. France : 220p.*
38. **Enger O., Lund-Johansen M. et Bjerkvig R., 2003.** Mechanisms of tumor cell invasion and angiogenesis in the central nervous system. *Frontiers in Bioscience 8: 289-304.*
39. **Erlangung Z., 2007.** Arsenic speciation in biological samples using high performance liquid chromatography (HPLC) coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) and investigation of cellular uptake capabilities of arsenicals in different cell lines. *Thèse. Univ. Duisburg-Essen. Iran. 121p.*
40. **Essendoubi M., 2007.** Identification et typage par (micro)spectroscopie IRTF des levures du genre *Candida* d'origine clinique. *Thèse Doc. Univ. Reims Champagne-Ardenne. France : 218p.*
41. **Everhard S., Kaloshi G., Criniere E., Benouaich-Amiel A., Lejeune J., Marie Y., Sanson M., Kujas M., Mokhtari K. et al., 2006.** MGMT Methylation: A Marker of Response to Temozolomide in Low-Grade Gliomas. *Ann. Neurol. 60: 740–743.*
42. **Ewing J.-F., Young D.-V., Janero D.-R., Garvey D.-S. et Grinnell T.-A., 1997.** Nitrosylated bovine serum albumin derivatives as pharmacologically active nitric oxide congeners. *J. Pharmaco. Expe. Therap. 283 (2): 947-954.*
43. **Ferlay J., Steliarova-Foucher E., Lortet-Tieulent E., Rosso S., Coebergh J.W.W., Comber H., Forman D. et Bray F., 2013.** Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries in 2012. *European Journal of Cancer 49 1374–1403.*
44. **Fondation contre le cancer, 2012.** Les leucémies chroniques. *Chaussée de Louvain 479, B-1030 Bruxelles. 36p. [www.cancer.be](http://www.cancer.be)*
45. **Forbes M.W., 2010.** Optical spectroscopy of mass-selected ions in the gas phase. *These. Doc. Uni.Toronto. 298p.*
46. **Frenel J-S., Botti M., Loussouarn D. et Campone M., 2009.** Facteurs pronostiques et prédictifs de réponse des gliomes cérébraux de l'adulte. *Bul. Cancer 96 (4):357-367.*
47. **Fueyo J., Gomez-Manzano C. et McDonnell T.J., 2005.** Regulation of Cell-Cycle and Apoptosis in Human Brain Tumors. *Humana Press, New Jersey: 249-264p.*
48. **Garcia Figueiras R., Padhani A.-R., Vilanova J.-C., Goh V. et Villalba Martin C., 2010.** Functional imaging of tumors. *Radiología 52(3): 208-220.*

49. **Godin-Ribuot D.**, 2011. Chapitre 4. La filtration glomérulaire et sa régulation. *Univ. Joseph Fourier de Grenoble. France. 24p.*
50. **Goran H.M.**, 2009. Serum Total Protein. *Clin. Biochem.* [www.pdfactory.com](http://www.pdfactory.com).
51. **Guepratte S., Pallud C. et Pichon M.-F.**, 2002. Dosage des marqueurs tumoraux ACE, CA 15.3, CA 125 et CA 19.9 dans les liquides d'épanchement et le LCR par immuno-analyse en phase homogène. Corrélation avec les résultats cytologiques et les concentrations sériques. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée 1: 18-25.*
52. **Guillevin R., Menuel C., Martin-Duverneuil N. et Chiras J.**, 2009. Apport des nouvelles modalités d'imagerie par résonance magnétique dans le diagnostic et la prise en charge des gliomes. *Neurologie. Com 1 (7) : 174-80.*
53. **Guillevin R., Menuel C., Sanson M., Hoang-Xuan K. et Chiras J.**, 2008. Intérêt de la spectroscopie par résonance magnétique du proton en pathologie tumorale cérébrale. *Revue Neurologique FMC. Elsevier Masson SAS. 191-201.*
54. **Haberer S., Assouline A. et Mazron J.-J.**, 2010. Dose de tolérance à l'irradiation des tissus sains: encéphale et hypophyse. *Cancer/Radiothérapie 14 (4-5) : 263-268.*
55. **Hadoux J. et Besse B.**, 2011. Anti-angiogéniques et métastases cérébrales. *VEGF Actu 22 : 19-20.*
56. **Halboub E.S., Abdulhuq M. et Al-Mandili A.**, 2012. Oral and pharyngeal cancers in Yemen: a retrospective study. *EMHJ. Vol. 18 No. 9.995-991.*
57. **Hanahan D. et Weinberg R.**, 2000. The Hallmarks of Cancer. *Review. Cell. 100: 57-70.*
58. **Hanahan D. et Weinberg R.**, 2011. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell. 144: 646-674.*
59. **Hanahan D. et Weinberg R.**, 2012. Accessories to the Crime: Functions of Cells Recruited to the Tumor Microenvironment. *Cancer Cell. 21 : 309-322.*
60. **Hazard T. et Perlemuter.**, 2002. Endocrinologie. *Ed. Masson. Paris. 484p.*
61. **Healthcare S. D.**, 2009. Frequently asked questions about brain tumors. *Neurotexas Institute. Form 03-301 Rev 2. 3p.*
62. **Helias P.**, 2005. La différenciation des monocytes en macrophages et ses altérations au cours de la leucémie myelo-monocytaire chronique. *Thèse. Doct. Univ. Franche-comte. 133p.*
63. **Hoffmann F.**, 2013. HER2-positive breast cancer an aggressive type of breast cancer. *Roche Group Media Relations. Roche Group Media Relations. Switzerland. 2p.* [www.roche.com](http://www.roche.com)

64. **Ifa D.R., Manicke N.E., Dill A.L. et Cooks R.G.**, 2008. Latent fingerprint chemical imaging by mass spectrometry. *Science*. Vol.321.USA. 804-805pp.
65. **Institut national du cancer**, 2010. Les tumeurs du cerveau. *Cancer info. INCa*. 88p. [www.e-cancer.fr](http://www.e-cancer.fr)
66. **Institut national du cancer**, 2011. Le traitement du cancer du foie. *Cancer info*. 84p. [www.e-cancer.fr](http://www.e-cancer.fr)
67. **Jachimska B. et Pajor A.**, 2012. Physico-chemical characterization of bovine serum albumin in solution and as deposited on surfaces. *Bioelectrochemistry* 87: 138-146.
68. **Jacinthe P.**, 2008. Etude des interactions protéiques impliquant NPM-MLF1 dans la leucémie myéloïde aigue. *Maitrise, Univ. Montreal. Canada*. 163p.
69. **James C.D.**, 2005. Molecular Genetics of Tumors of the Central Nervous System. Brain tumors. *Contemporary Cancer Research*: 19-32.
70. **Jeanteur Ph., Theillet C. et Pujol H.**, 1990. Oncogenes, anti-oncogenes et leurs altérations dans les tumeurs humaines. *La Revue de Médecine Interne* 3 : 216-220.
71. **Kekwick R.A.**, 1940. The serum proteins in multiple myelomatosis. *Biochem J.* 34(8-9): 1248-1257.
72. **Kirchmann H. et Pettersson S.**, 1995. Human urine - Chemical composition and fertilizer use efficiency. *Fertilizer research* 40 (2): 149-154.
73. **Krutovskikh V. et Partensky C.**, 2011. Nouvelles perspectives en oncologie : épi génétique et cellules souches cancéreuses. *Cancer/Radiothérapie* 15 : 716-722.
74. **Ladam F.**, 2010. Etude du rôle du facteur de transcription Pea3 pendant la morphogenèse et la tumorigenèse mammaires. *Thèse Doc. Univ. LILLE 2. France*. 188p.
75. **Laget P.**, 1973. Eléments de Neuro-Anatomie fonctionnelle. Cervelet, mésencéphale et diencéphale. 4 Structure et fonction du système nerveux. *Ed. Masson, Paris*, 242p.
76. **Lang F.**, 2000a. Le système nerveux, muscles et organes des sens. 298-361 in Silbernagl S. Et Lang F. Atlas de poche physiopathologie. *Flammarion Médecine Sciences, Casimir-Delavigne. PARIS*. 415p.
77. **Lang F.**, 2000b. Reins, équilibres hydrominéral in Silbernagl S. Et Lang F. Atlas de poche physiopathologie. *Flammarion Médecine-Sciences, Casimir-Delavigne. PARIS*. 415p.
78. **Lavner M., Imbert M. et Jouault.**, 2000. Première réunion du club des laboratoires : Le GBEA 2 au cœur du débat. *Revue Française des Laboratoires* 324 :12-13.

79. **Leban M., Thuillier F., Basuyau J.-P., Billion P., Boehrer J.-L., Calestreme P., Coquelin H., Coulhon M.-P., Daunizeau A. et al.**, 2008. L'avenir des marqueurs tumoraux : l'exploitation de leur cinétique. Étude CNBH 2004-2006, de la rédaction d'un cahier des charges aux essais des logiciels existants. *Immuno-analyse et biologie spécialisée* 23, 119-129.
80. **Lefrere F. et Hermine O.**, 1998. Anémie Hémolytique. Le manuel du généraliste hémathologie. *Ed. Tsunami. Encyclopédie Pratique de Médecine. Paris. 125p.*
81. **Legrand A., Del Corso A. et Garnotel R.**, 2008. Le guide des examens biologiques. *Le Quotidien du Pharmacien. Guidebio 150. 16p.*
82. **Leininger-Muller B.**, 2012. Les marqueurs tumoraux. *D.U. Pharmacie Oncologique.* [www.pharmclin.uhp-nancy.fr/cours%20DU%20oncologie%202013/Pro](http://www.pharmclin.uhp-nancy.fr/cours%20DU%20oncologie%202013/Pro)
83. **Lemaire F.**, 2004. Caractérisation de l'expression génique des tumeurs des voies aérodigestives supérieures: perspectives diagnostiques et Thérapeutiques. *Thèse Doc. Inst. Nat. Agr. Paris-grignon. France. 259p.*
84. **Lentzsch S., Reichardt P., Weber, F., Budach V. et Dorken B.**, 1999. Brain Metastases in Breast Cancer: Prognostic Factors and Management. *European Journal of Cancer* 35 (4): 580-585.
85. **Ligue nationale contre le cancer**, 2009. Les leucémies. *Paris. 24p.* [www.ligue-cancer.net](http://www.ligue-cancer.net)
86. **Liu C., Sage J.C., Miller M.R., Verhaak R.G.W., Hippenmeyer S., Vogel H., Foreman O., Bronson R.T., Nishiyama A. et al.**, 2011. Mosaic Analysis with Double Markers Reveals Tumor Cell of Origin in Glioma. *Cell* 146: 209-221.
87. **Lott J-A., Stephan V-A. et Pritchard K-A.**, 1983. Evaluation of coomassie Brilliant blue G 250 method for urinaryprotein. *Clin-Chem.* 29(11): 1946-1950.
88. **Louis L-A.**, 1951. Dosage des protéines dans le sérum sanguin. 457-470.
89. **Luthra K.**, 2008. Basic Concept of Clinical Biochemistry. *All India Institute of Medical Sciences New Delhi. 31p.* [nsdl.niscair.res.in/.../1/ClinicalBiochem\\_Concepts.pdf](http://nsdl.niscair.res.in/.../1/ClinicalBiochem_Concepts.pdf)
90. **Mai Ba C.U.**, 2010. Adaptation de la posologie des anti-cancéreux à la fonction rénale. *Thèse Doc. Univ. PARIS XI. France. 106p.*
91. **Manca C.**, 1999. Reactivité du nitrométhane induite par irradiations sélectives : détermination des formes ACI et ACI-ION. *Thèse Doc. Univ. Aix-Marseille I. France. 42p.*
92. **Marieb E.N.**, 1999. Anatomie et physiologie humaine. *Ed. Du Renouveau pédagogique Inc. De Boeck Universié. Bruxelles. Paris. 1204p.*

93. **Marshall T. et Williams K.-M.**, 2000. Total protein determination in urine: elimination of a differential response between the Coomassie blue and pyrogallol red protein dye-binding assays. *Clinical Chemistry* 46(3): 392-398.
94. **Martin-Duverueil N., Guillevin R. et Chiras J.**, 2008. Imagerie des gliomes. *Cancer/Radiothérapie* (6) : 669-675.
95. **Mejean A. et Lebret T.**, 2008. Genèse de la métastase la cascade métastatique : angiogenèse et nouveaux concepts. *Progrès en Urologie Suppl.* 7 : S156-S166.
96. **Mejean A. et Lebret T.**, 2010. Diffusion métastatique, angiogenèse et métastasogenèse. *Progrès en Urologie* 20 Suppl. 1 : S5-S10.
97. **Metellus P., Dutertre G., Mekkaoui C., Nanni I., Fuentes S., Ait-Ameur A., Chinot O., Dufour H., Figarella-Branger D. et al.**, 2008. Intérêt de la mesure du volume sanguin régional cérébral relatif par IRM de perfusion dans la prise en charge des gliomes. *Neurochirurgie* 54 : 503-511.
98. **Mohamed F.**, 2010. Etude multicentrique de nouveaux marqueurs tumoraux moléculaires dans les épanchements péritonéaux et le sang : analyse par PCR quantitative en temps. *Thèse. Doc. Univ JEAN MONNET DE SAINT ETIENNE. France. 135p.*
99. **Moskal J., Kroes R.A. et Dawson G.**, 2009. The glycobiochemistry of brain tumors: disease relevance and therapeutic potential. *Expert Rev. Neurother.* 9 (10), 1529-1545.
100. **Naik P.N., Chimatadar S.A. et Nandibewoor S.T.**, 2010. Interaction between a potent corticosteroid drug – Dexamethasone with bovine serum albumin and human serum albumin: A fluorescence quenching and fourier transformation infrared spectroscopy study. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 100: 147-159.
101. **Owusu-Apenten R.K.**, 2002. Food protein analysis. Quantitative effects on processing. *Marcel Dekker, Inc. New York.* 482p.
102. **Pandey N. et Budhathoki U.**, 2007. Protein determination through Bradford's method of Nepalese mushroom. *Scientific World* 5(5) : 85-88.
103. **Park J.H., Choi H., Kim Y.B., Kim Y.S., Sheen S.S., Choi J.H., Lee H.L., Lee K.S., Chung W.Y. et al.**, 2009. Serum angiopoietin-1 as a prognostic marker in resected early stage lung cancer. *Lung Cancer* 66: 359-364.
104. **Pecker F., Amadou A., Magne S. et Pavoine C.**, 1998. Le rôle messager de l'acide arachidonique dans le cardiomyocyte. *médecine/sciences. France.* 14 : 1009-1016.



105. **Petibois C., Deleris G. et Cazorla G.**, 2000. Nouvelle perspective pour la survie biologique des sportifs : analyse métabolique par spectrométrie IR-TF. *Science & Sports 15* : 95-97.
106. **Petitclerc T.**, 2013. Anomalies de l'équilibre hydro sodé. *Expertise médicale en néphrologie. Néphrologie & Thérapeutique 9* : 38-49.
107. **Preynat-Seauve O. et Kessler G.**, 2010. Fiche technique 29 : Sérum ou Plasma. *SWISS Inspection. SIS 051* : 2p.
108. **Puyraimond S.**, 2007. Examen biologiques complémentaire en biologie. *Lab. Hématologie. EFS de Besançon.38p.*
109. **Ravaud A.**, 2007. Le mécanisme de l'angiogénèse tumorale. *Progrès en Urologie 17* : 144-147.
110. **Richard Lu Q., Park J-K., Noll E., Chan J-A., Alberta J., Yuk D., Alzamora M-G., Louis D-N., Stiles C-D. et al.**, 2001. Oligodendrocyte lineage genes (OLIG) as molecular markers for human glial brain tumors. *PNAS, 98 (19)* : 10851-10856.
111. **Richert A., Gensch R., Jonsson H., Stenstrom T-A. et Dagerskog L.**, 2011. Conseils Pratiques pour une Utilisation de l'Urine en Production Agricole. *EcoSanRes Programme. Stockholm Environnement Institute (SEI)* : 73p.
112. **Riedinger J.-M.**, 2009. Intérêt des marqueurs tumoraux : quelle place pour l'ACE et le CA 15.3 ? *Médecine Nucléaire 34* : 44-51.
113. **Riedinger J.M. et Eche N.**, 2006. Cinétique des marqueurs tumoraux au quotidien : mises en situation. *Spectra biologie 152*. 42-47.
114. **Rigaud J., Tiguert R. et Fradet Y.**, 2002. Marqueurs moléculaires du cancer infiltrant de la vessie. *Progrès en Urologie 12 (5)* : 1057-1083.
115. **Road V.**, 2001. Introduction to Fourier Transform Infrared Spectrometry. *Thermo Nicolet Corporation. Madison. USA. 8p.*
116. **Romeo P.H.**, 1998. Caractérisation et fonction des protéines de fusion exprimées dans Les leucémies. *Médecine thérapeutique 4 (4)* : 91-298.
117. **Rouleau C.**, 2009. Histologie du système nerveux central. *PCEM2-Histologie. Montpellier Nîmes. France. 25p.*
118. **Rubaj J., Korol W. et Bielecka G.**, 2012. Using high performance liquid chromatography (hplc) for analyzing feed additives. *National Research Institute of Animal Production, National Feed Laboratory, Poland. 165-186pp.*
119. **Sanson M. et Taillibert.**, 2004. Données générales de neuro-oncogénèse. *EMC Neurologie 1* : 75-89.

120. **Sauvageot C.M., Kesari S. et Stiles C.D.**, 2007. Molecular Pathogenesis of Adult Brain. *Neurol Clin* 25 : 891-924.
121. **Schalken J.A.**, 1992. Les bases moléculaires de la progression tumorale dans le cancer de la prostate. *Progrès en Urologie* 2 : 551-555.
122. **Schnider A.**, 2008. Neurologie du comportement: la dimension neurologique de la neurophysiologie. *Elsevier Masson S.A.S.* 251p.
123. **Seigneurin D.**, 2007. Histologie. Etude des tissus : chapitre 8 : Le tissu nerveux. *Faculté de médecine. Université Joseph Fourier. Grenoble.* 55p.
124. **Sigma Aldrich**, 1996. Fiche technique.USA. 2p.
125. **Silbernagl S.**, 2000. Sang. 28-65 in Silbernagl S. et Lang F. Atlas de poche physiopathologie. *Flammarion Médecine-Sciences, Casimir-Delavigne. PARIS.* 415p.
126. **Spitz J.-A.**, 2006. Etude et imagerie de la polymérisation de l'actine. *Thèse Doc. Ecole Normale Supérieure de Cachan.* 214p.
127. **Stoppa-Lyonnet D., Stern M.H., Soufir N. et Lenoir G.**, 2010. Prédispositions génétiques aux cancers : actualités et perspectives en 2010. *Pathologie Biologie* 58 : 324-330.
128. **Sun T., Warrington M.N. et Rubin J.B.**, 2012. Why does Jack, and not Jill, break his crown? Sex disparity in brain tumors. *Jbsd. USA.*3:3.10p.
129. **Tchakline.A.**, 1980. Le cancer problème du siècle. *EMIR MOSCO,* 195p.
130. **Vallat J.-M. et Magy L.**, 2005. Neuropathies périphériques : généralités. *EMC Neurologie* 2 : 175-181.
131. **Van Holde Kensal E., Johnson W. Curtis et Ho P. Shing**, 2006. The Binding of Coomassie Blue to Albumin. *CHEM 331L. Principles of Physical Chemistry Biochemistry,* 2<sup>nd</sup> Ed. 10p.
132. **Verimli R., Colak E., Yigit N., Sozen M. et Ozkurt S.**, 2000. Electrophoretic Aspects of Blood-Serum Proteins of Apodemus mystacinus and Apodemus agrarius (Mammalia: Rodentia) in Turkey. *Turk J. Zool.* 24: 225-229p.
133. **Vialettes B.**, 2006. Besoins nutritionnels et apports alimentaires de l'adulte. Evaluation de l'état nutritionnel. Dénutrition (110). *DCEM 4- Module Optionnel 16. Fac. Médecine. Marseille, France.* 37p.
134. **Vredenburg J.J., Desjardins A., Herndon J.E., Dowell J.M., Reardon D.A., Quinn J.A., Rich J.N., Sathornsumetee S., Gururangan S. et al.**, 2007. Cancer Therapy: Clinical. Phase II Trial of Bevacizumab and Irinotecan in Recurrent Malignant Glioma. *Clin. Cancer Res.* 13(4): 1253-1259.

135. **Wager M., Fontaine D. et Karayan-Tapon L.,** 2008. Biologie moléculaire des gliomes de l'adulte : Quelques repères pour le neurochirurgien. *Neurochirurgie* 54: 529-544.
136. **Weinberg R.A,** 1996. How Cancer Arises. An explosion of research is uncovering the long-hidden molecular underpinnings of cancer-and suggesting new therapies. *Scientific American Inc.* 62-70.
137. **Wiebrands K.,** 2010. From leaving the Old World to colonizing the New World: A role of epithelial-mesenchymal transitions in carcinogenic progression. *Department of Cancer Biophysics. Hubrecht Institute. Utrecht, the Netherlands.* 26p.
138. **Zerbst-Boroffka I., Bazin B. et Wenning A.,** 1997. Chloride secretion drives urine formation in leech nephridia. *The Journal of Experimental Biology* 200: 2217-2227.
139. **Zhou X., Zhao Y., Lei P., Cai., Z. et Liu H.,** 2010. Chromatographic fingerprint study on *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth by HPLC/DAD/ESI-MS<sup>n</sup> technique. *J. Sep. Sci., China.* 33, 2258–2265.

## **Résumé**

D'après les dernières statistiques de l'OMS, au niveau mondial, le cancer est la deuxième cause de mortalité après les maladies cardiovasculaire, où les tumeurs cérébrales en Europe occupent la 12<sup>ème</sup> place de mortalité par cancer. La moyenne d'âge de développement des tumeurs cérébrales est 52 ans et plus de 70% de nouveau cas surviennent dans les pays en développement. Le dosage des marqueurs tumoraux dans les liquides biologiques (sang et urines) des patients cancéreux est un élément important pour l'identification du cancer, le suivi thérapeutique et le diagnostique d'une récurrence. Le dosage des protéines dans ces deux fluides biologiques des patients atteints de tumeurs cérébrales par la méthode colorimétrique de Bradford nous offre des résultats quantitatifs sur le contenu de chaque fluide biologique en protéine, tandis que l'utilisation de la spectroscopie IR-TF correspondant à la fois à une analyse qualitative et quantitative nous permet de remarquer que l'activité tumorale est relative au type histopathologique et au grade de la tumeur cérébrale et de supposer que les marqueurs tumoraux peuvent être loin des protéines mais des molécules organiques différentes.

**Mots clés :** tumeurs cérébrales, fluides biologiques, marqueurs tumoraux, méthode colorimétriques, spectroscopie IR-TF.

## **Abstract**

According to WHO statistics, the cancer diseases are the second leading cause of death after cardiovascular diseases. In Europe, brain tumors cause over 100,000 deaths per year and a median age of patients is about 52 years. These observations demonstrate the importance to finding ways to increase the efficiency of cancers diagnosis and prognosis. The biological fluids (blood and urine) of cancer patients are an important element for the identification of tumor markers that can be lead in the diagnosis, prognosis and therapeutic monitoring. The analysis of biological fluids of brain tumour's patients with Bradford's colorimetric method offers quantitative data for proteins content in each fluids. While, when we use FT-IR spectroscopy for the same fluids, the data obtained correspond to qualitative & quantitative parameters and demonstrate that tumor activity is related to histopathological type and grade. Suggesting that, tumor markers can be non-protein compounds. In conclusion, we suggest that organic profiles of biological fluids may serve as a marker in oncology, especially in brain tumors.

**Key words:** cerebral tumors, biological fluids, tumoral markers, method colorimetric, spectroscopy FITR.