



HAL
open science

Étude de l'expression de pAKT et de pmTOR au cours du développement rénal normal et pathologique

Alexia Apostolou

► **To cite this version:**

Alexia Apostolou. Étude de l'expression de pAKT et de pmTOR au cours du développement rénal normal et pathologique. Médecine humaine et pathologie. 2017. dumas-01598310

HAL Id: dumas-01598310

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01598310>

Submitted on 29 Sep 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SID de Grenoble :
bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

Année : 2017
N°

ETUDE DE L'EXPRESSION DE pAKT ET DE pmTOR
AU COURS DU DEVELOPPEMENT RENAL
NORMAL ET PATHOLOGIQUE

THESE
PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE

DIPLÔME D'ETAT

D.E.S ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES

APOSTOLOU ALEXIA

[Données à caractère personnel]

THESE SOUTENUE PUBLIQUEMENT A LA FACULTE DE MEDECINE DE GRENOBLE*

Le : 25 Septembre 2017

DEVANT LE JURY COMPOSE DE

Président du jury : M. le Professeur Pierre-Simon JOUK

Membres

M. le Dr Hervé SARTELET (Directeur de Thèse)

Mme le Professeur Nathalie STURM

Mme le Professeur Sophie COLLARDEAU

M. le Docteur Fabien GUIMIOT

M. le Professeur Dominique PLANTAZ

**La Faculté de Médecine de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.*

ENSEIGNANTS A L'UFR MEDECINE

Doyen de la Faculté : **M. le Pr. Jean Paul ROMANET**

Année 2016-2017

ENSEIGNANTS A L'UFR DE MEDECINE

CORPS	NOM-PRENOM	Discipline universitaire
PU-PH	ALBALADEJO Pierre	Anesthésiologie réanimation
PU-PH	APTEL Florent	Ophtalmologie
PU-PH	ARVIEUX-BARTHELEMY Catherine	Chirurgie générale
PU-PH	BALOSSO Jacques	Radiothérapie
PU-PH	BARONE-ROCHETTE Gilles	Cardiologie
PU-PH	BARRET Luc	Médecine légale et droit de la santé
PU-PH	BAYAT Sam	Physiologie
PU-PH	BENHAMOU Pierre Yves	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
PU-PH	BERGER François	Biologie cellulaire
MCU-PH	BIDART-COUTTON Marie	Biologie cellulaire
MCU-PH	BOISSET Sandrine	Agents infectieux
PU-PH	BONAZ Bruno	Gastro-entérologie, hépatologie, addictologie
PU-PH	BONNETERRE Vincent	Médecine et santé au travail
PU-PH	BOREL Anne-Laure	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
PU-PH	BOSSON Jean-Luc	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
MCU-PH	BOTTARI Serge	Biologie cellulaire
PU-PH	BOUGEROL Thierry	Psychiatrie d'adultes
PU-PH	BOUILLET Laurence	Médecine interne
PU-PH	BOUZAT Pierre	Réanimation
PU-PH	BRAMBILLA Christian	Pneumologie
MCU-PH	BRENIER-PINCHART Marie Pierre	Parasitologie et mycologie
PU-PH	BRICAULT Ivan	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	BRICHON Pierre-Yves	Chirurgie thoracique et cardio- vasculaire
MCU-PH	BRIOT Raphaël	Thérapeutique, médecine d'urgence
MCU-PH	BROUILLET Sophie	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
PU-PH	CAHN Jean-Yves	Hématologie
MCU-PH	CALLANAN-WILSON Mary	Hématologie, transfusion
PU-PH	CARPENTIER Françoise	Thérapeutique, médecine d'urgence
PU-PH	CARPENTIER Patrick	Chirurgie vasculaire, médecine vasculaire
PU-PH	CESBRON Jean-Yves	Immunologie
PU-PH	CHABARDES Stephan	Neurochirurgie
PU-PH	CHABRE Olivier	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
PU-PH	CHAFFANJON Philippe	Anatomie

PU-PH	CHARLES Julie	Dermatologie
PU-PH	CHAVANON Olivier	Chirurgie thoracique et cardio- vasculaire
PU-PH	CHIQUET Christophe	Ophtalmologie
PU-PH	CINQUIN Philippe	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
PU-PH	COHEN Olivier	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
PU-PH	COUTURIER Pascal	Gériatrie et biologie du vieillissement
PU-PH	CRACOWSKI Jean-Luc	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
PU-PH	CURE Hervé	Oncologie
PU-PH	DEBILLON Thierry	Pédiatrie
PU-PH	DECAENS Thomas	Gastro-entérologie, Hépatologie
PU-PH	DEMATTEIS Maurice	Addictologie
MCU-PH	DERANSART Colin	Physiologie
PU-PH	DESCOTES Jean-Luc	Urologie
MCU-PH	DETANTE Olivier	Neurologie
MCU-PH	DIETERICH Klaus	Génétique et procréation
MCU-PH	DOUTRELEAU Stéphane	Physiologie
MCU-PH	DUMESTRE-PERARD Chantal	Immunologie
PU-PH	EPAULARD Olivier	Maladies Infectieuses et Tropicales
PU-PH	ESTEVE François	Biophysique et médecine nucléaire
MCU-PH	EYSSERIC Hélène	Médecine légale et droit de la santé
PU-PH	FAGRET Daniel	Biophysique et médecine nucléaire
PU-PH	FAUCHERON Jean-Luc	Chirurgie générale
MCU-PH	FAURE Julien	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	FERRETTI Gilbert	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	FEUERSTEIN Claude	Physiologie
PU-PH	FONTAINE Éric	Nutrition
PU-PH	FRANCOIS Patrice	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
MCU-MG	GABOREAU Yoann	Médecine Générale
PU-PH	GARBAN Frédéric	Hématologie, transfusion
PU-PH	GAUDIN Philippe	Rhumatologie
PU-PH	GAVAZZI Gaétan	Gériatrie et biologie du vieillissement
PU-PH	GAY Emmanuel	Neurochirurgie
MCU-PH	GILLOIS Pierre	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
MCU-PH	GRAND Sylvie	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	GRIFFET Jacques	Chirurgie infantile
PU-PH	GUEBRE-EGZIABHER Fitsum	Néphrologie
MCU-PH	GUZUN Rita	Endocrinologie, diabétologie, nutrition, éducation thérapeutique
PU-PH	HAINAUT Pierre	Biochimie, biologie moléculaire
PU-PH	HENNEBICQ Sylviane	Génétique et procréation
PU-PH	HOFFMANN Pascale	Gynécologie obstétrique
PU-PH	HOMMEL Marc	Neurologie
PU-MG	IMBERT Patrick	Médecine Générale
PU-PH	JOUK Pierre-Simon	Génétique
PU-PH	JUVIN Robert	Rhumatologie

PU-PH	KAHANE Philippe	Physiologie
PU-PH	KRACK Paul	Neurologie
PU-PH	KRAINIK Alexandre	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	LABARERE José	Epidémiologie ; Eco. de la Santé
MCU-PH	LANDELLE Caroline	Bactériologie - virologie
MCU-PH	LAPORTE François	Biochimie et biologie moléculaire
MCU-PH	LARDY Bernard	Biochimie et biologie moléculaire
MCU-PH	LARRAT Sylvie	Bactériologie, virologie
MCU - PH	LE GOUËLLEC Audrey	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	LECCIA Marie-Thérèse	Dermato-vénérologie
PU-PH	LEROUX Dominique	Génétique
PU-PH	LEROY Vincent	Gastro-entérologie, hépatologie, addictologie
PU-PH	LEVY Patrick	Physiologie
MCU-PH	LONG Jean-Alexandre	Urologie
PU-PH	MAGNE Jean-Luc	Chirurgie vasculaire
MCU-PH	MAIGNAN Maxime	Thérapeutique, médecine d'urgence
PU-PH	MAITRE Anne	Médecine et santé au travail
MCU-PH	MALLARET Marie-Reine	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
MCU-PH	MARLU Raphaël	Hématologie, transfusion
MCU-PH	MAUBON Danièle	Parasitologie et mycologie
PU-PH	MAURIN Max	Bactériologie - virologie
MCU-PH	MC LEER Anne	Cytologie et histologie
PU-PH	MERLOZ Philippe	Chirurgie orthopédique et traumatologie
PU-PH	MORAND Patrice	Bactériologie - virologie
PU-PH	MOREAU-GAUDRY Alexandre	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
PU-PH	MORO Elena	Neurologie
PU-PH	MORO-SIBILOT Denis	Pneumologie
PU-PH	MOUSSEAU Mireille	Cancérologie
PU-PH	MOUTET François	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie
MCU-PH	PACLET Marie-Hélène	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	PALOMBI Olivier	Anatomie
PU-PH	PARK Sophie	Hémato - transfusion
PU-PH	PASSAGGIA Jean-Guy	Anatomie
PU-PH	PAYEN DE LA GARANDERIE Jean-François	Anesthésiologie réanimation
MCU-PH	PAYSANT François	Médecine légale et droit de la santé
MCU-PH	PELLETIER Laurent	Biologie cellulaire
PU-PH	PELLOUX Hervé	Parasitologie et mycologie
PU-PH	PEPIN Jean-Louis	Physiologie
PU-PH	PERENNOU Dominique	Médecine physique et de réadaptation
PU-PH	PERNOD Gilles	Médecine vasculaire
PU-PH	PIOLAT Christian	Chirurgie infantile
PU-PH	PISON Christophe	Pneumologie
PU-PH	PLANTAZ Dominique	Pédiatrie
PU-PH	POIGNARD Pascal	Virologie

PU-PH	POLACK Benoît	Hématologie
PU-PH	POLOSAN Mircea	Psychiatrie d'adultes
PU-PH	PONS Jean-Claude	Gynécologie obstétrique
PU-PH	RAMBEAUD Jacques	Urologie
PU-PH	RAY Pierre	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
PU-PH	REYT Émile	Oto-rhino-laryngologie
PU-PH	RIGHINI Christian	Oto-rhino-laryngologie
PU-PH	ROMANET Jean Paul	Ophtalmologie
PU-PH	ROSTAING Lionel	Néphrologie
MCU-PH	ROUSTIT Matthieu	Pharmacologie fondamentale, pharmaco clinique, addictologie
MCU-PH	ROUX-BUISSON Nathalie	Biochimie, toxicologie et pharmacologie
MCU-PH	RUBIO Amandine	Pédiatrie
PU-PH	SARAGAGLIA Dominique	Chirurgie orthopédique et traumatologie
MCU-PH	SATRE Véronique	Génétique
PU-PH	SAUDOU Frédéric	Biologie Cellulaire
PU-PH	SCHMERBER Sébastien	Oto-rhino-laryngologie
PU-PH	SCHWEBEL-CANALI Carole	Réanimation médicale
PU-PH	SCOLAN Virginie	Médecine légale et droit de la santé
MCU-PH	SEIGNEURIN Arnaud	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
PU-PH	STAHL Jean-Paul	Maladies infectieuses, maladies tropicales
PU-PH	STANKE Françoise	Pharmacologie fondamentale
MCU-PH	STASIA Marie-José	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	STURM Nathalie	Anatomie et cytologie pathologiques
PU-PH	TAMISIER Renaud	Physiologie
PU-PH	TERZI Nicolas	Réanimation
MCU-PH	TOFFART Anne-Claire	Pneumologie
PU-PH	TONETTI Jérôme	Chirurgie orthopédique et traumatologie
PU-PH	TOUSSAINT Bertrand	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	VANZETTO Gérald	Cardiologie
PU-PH	VUILLEZ Jean-Philippe	Biophysique et médecine nucléaire
PU-PH	WEIL Georges	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
PU-PH	ZAOUI Philippe	Néphrologie
PU-PH	ZARSKI Jean-Pierre	Gastro-entérologie, hépatologie, addictologie

PU-PH : Professeur des Universités et Praticiens Hospitaliers

MCU-PH : Maître de Conférences des Universités et Praticiens Hospitaliers

PU-MG : Professeur des Universités de Médecine Générale

MCU-MG : Maître de Conférences des Universités de Médecine Générale

REMERCIEMENTS

Un grand merci à tous les membres du jury :

- Au président du jury, le Professeur Pierre-Simon Jouk, sans qui je ne prétendrais pas à la profession de pathologiste aujourd'hui. La formation dont j'ai eue la chance de bénéficier à vos côtés lors de mes premières années de médecine m'a, sans aucun doute, influencée dans mon choix de carrière. Vous m'avez fait découvrir l'embryologie, les cellules du corps humain, avec une bienveillance et une générosité hors du commun, ce qui m'a conduit, après six années d'études, à choisir ce métier sans aucune hésitation. Merci pour votre incroyable gentillesse, votre humanité, votre passion pour le travail. Vous faites incontestablement partie de mes modèles pour l'avenir.
- A mon directeur de thèse, le Professeur Docteur Hervé Sartelet. Merci pour votre aide, votre disponibilité tout au long de la préparation du travail présenté ce jour, votre soutien précieux, vos qualités professionnelles, personnelles, votre passion communicative pour ce métier et surtout, votre encadrement des plus jeunes, encadrement dont j'ai également pu bénéficier depuis maintenant plus de deux ans. Merci de m'avoir appris à respirer.
- À ma chef de service et reine de l'hépatocyte, le Professeur Nathalie Sturm. Merci pour votre pédagogie, votre passion pour le foie, dont vous réussissez à transmettre aux personnes qui vous côtoient. Merci pour votre gentillesse et votre bienveillance à mon égard.
- A Madame le Professeur Sophie Collardeau de vous être déplacée, d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse et merci de m'avoir transmis cet amour pour la fœtopathologie.
- A Monsieur le Docteur Guimiot Fabien de sa considération, d'avoir accepté de faire partie de mon jury, de m'avoir très gentiment prêté des cas provenant de Paris et de vous être rendu disponible dans le cadre de ce travail.
- A Monsieur le Professeur Dominique Plantaz d'avoir également accepté de siéger dans ce jury. Merci pour votre temps et votre considération.

Je vous présente à tous mes plus sincères remerciements et mon plus profond respect.

Un immense merci à ma famille :

- A toi, mon mari. Tu es mon ange... au sens figuré et propre du terme. Tu me soutiens et me protèges depuis le premier jour de notre rencontre. Tu m'as appris à m'accepter telle que je suis. Merci infiniment pour ta patience, ton soutien, ton amour qui me rend plus forte chaque jour. Merci pour tes relectures, nos nuits passées à répéter. Σε αγαπώ.
- À mon père, qui m'a soutenue pendant toutes ces années, et qui m'a transmis sa passion pour le travail et sa rigueur.
- A ma mère, sans qui rien de tout cela n'aurait été possible. Ton soutien depuis le premier jour de mes études de médecine jusqu'aujourd'hui ne m'a jamais quittée. Ta patience et ta générosité sans fin m'a portée, jour après jour, même dans les moments les plus durs.

Pour vous, mes parents, je n'aurai jamais assez de place, pour écrire à quel point je suis reconnaissante pour tout ce que vous avez fait pour moi. Je vous aime comme vous m'avez appris à aimer : sans limites.

- À mon plus grand frère, Michel. Merci pour ta patience, ta générosité, et d'avoir toujours su nous protéger.
- À toi, mon deuxième grand frère, Niko. Merci d'avoir voulu m'empêcher de faire médecine. A présent, je comprends les raisons ;) Merci de m'avoir fait découvrir qu'en médecine, on pouvait aussi rire et s'amuser.
- A ma grande sœur, ma protectrice, Flora. Merci de m'avoir soutenue pendant toutes ces années, merci de m'avoir aidée avec ton inconsiderable patience et ta gentillesse. Je sais que je pourrai toujours compter sur toi et je ne te remercierai jamais assez pour cela.

Merci à tous les trois d'avoir toujours veillé sur moi, votre petite sœur.

Je remercie aussi vos conjoints et compagnons respectifs pour tous ces bons moments conviviaux, de jeux et de fous rires : Anne-Julie, Anna, Romain et mes deux petits neveux, Constantin et Louise.

- A ma belle-famille qui m'aide à déconnecter de médecine à chacune de nos rencontres. Merci Christophe, Béa et Marjorie.
- A toi Julien. Une spéciale dédicace à mon témoin de mariage et conseiller ! Merci pour tes relectures et les bons conseils ;)
- A nos deux chiens, Nala et Vador, qui m'ont tenue au chaud sous mon bureau ces longs hivers de révisions, et qui m'ont forcée à prendre l'air lors des moments difficiles de ces études. Vous m'avez réchauffé le cœur en me témoignant au quotidien votre amour inconditionnel, sans rien demander en retour (à part quelques croquettes). Merci d'avoir adouci toutes ces années.

-
Un énorme merci à mes amis et mes supers co-internes:

- A toi Guillaume, l'élite du technicien en foetopathologie !! MERCI !!!! MERCI !!! (même si je devais écrire l'inverse ;)) MERCI infiniment pour ta gentillesse, ton accueil, ton dévouement, ta passion pour ton métier. Merci pour tous ces bons moments, en espérant qu'ils dureront encore longtemps. Merci pour ta bienveillance, ton aide pour ma thèse, des heures passés à chercher les cas ! Sincèrement.... Merci !!!!
- A ma meilleure amie d'enfance Hayet, enfin on va pouvoir se voir plus souvent !;) Merci d'avoir toujours été là !! De m'avoir permis de faire des pauses nécessaires dans ces longues études : Los Angeles, Cannes, Genève et surtout NYC !!!!! On se connaît depuis toutes petites, j'ai toujours compté sur toi et je sais que ça sera toujours le cas. Je t'aime
- A toi Vérane... premier jour de notre rencontre en médecine nucléaire et toujours ensemble depuis. Merci pour tous nos *coffee moments*, nos *road trip* et merci pour ton écoute. Tu me comprends. Merci d'être là et je sais que la vie a encore de belles aventures à nous proposer. Je t'aime V.
- A toi Julie « la blonde » (spéciale dédicace à Hervé). Les plus beaux amours commencent avec une collision ;) Le début fut difficile (choix de stages), maintenant tu es mon témoin de mariage. La magie de la vie ! Merci pour toutes ses nuits de confidences et de rêves. Merci pour tous nos fous rires ! Merci d'être là. Je t'aime.
- A toi Johanna. Après toutes ces années, même si on ne se voit pas souvent, tu es toujours là. Merci pour ta bonne humeur et ton soutien. Je vous aime fort, Nico, Lilas, Roxanne et toi.
- A toi Olive. Merci pour tout. Merci pour tous ces moments passés à refaire le monde dans le train entre Chambéry et Grenoble. Merci pour ton objectivité, tes analyses cinématographiques et littéraires. On est une équipe de choc, imbattable à tous les jeux quand nos forces sont unies ;) Maintenant, assistant, merci du temps que tu prends pour nous, merci de nous transmettre tes connaissances toujours avec énormément de patience. C'est un plaisir de travailler et apprendre à tes côtés. Merci pour tous ces bons moments passés et futurs j'espère !!
- A toi Bruno. Merci d'avoir fait un droit au remord et de nous avoir rejoint ! Merci pour tous ces fous rires, merci pour ta patience, ta gentillesse et merci pour tes conseils au babyfoot ! L'élève dépassera bientôt le maître ;) Je te souhaite tout le meilleur pour la suite.
- A toi Ségolène. Merci pour ces bons moments depuis le début de l'internat. Merci de m'avoir aidée à relativiser sur les grossesses, sur le fait de devenir mère un jour. Ta *cool attitude* est *bluffante* devant les obstacles de la vie. Merci pour ta force. Je te souhaite tout le meilleur pour la suite.
- A toi Julie G. Merci pour tous nos moments passés. Tu me manques.

- A toi Marion. Merci d'avoir été là et merci pour tous nos moments passés !
- A toi Mélanie. Merci pour ta gentillesse, ta sincérité, et tes blagues rigolotes et spontanées.
- A toi Adeline. Merci pour ta gentillesse, ta discrétion, et ton sens du dévouement.
- A toi Antonin. Cela fait à peine quelques mois que l'on se connaît et j'ai l'impression d'avoir vécu mille vies avec toi. Merci pour ta bonne humeur, ta générosité, ta disponibilité, tes blagues (pas toujours drôles) et ton dévouement pour les autres.
- A toi mon petit Ivan venu de Russie !! Mille mercis pour ta gentillesse, ta bonne humeur permanente et ton infinie tendresse !! J'espère que tu resteras chez nous pour prolonger ces moments de bons temps.
- A toi Jessica. Merci d'avoir choisi la meilleure des spécialités et de nous avoir rejoint ;) *Welcome* dans la team anapat Grenoble !
- A toi Hugo, mon assistant, pour ta bonne humeur, ta disponibilité, ta patience et surtout pour le partage de tes connaissances aux jeunes médecins que tu fais toujours avec le sourire. C'est un plaisir de travailler avec toi !

Un très grand merci également,

- Au Professeur Elisabeth Brambilla et au Professeur Sylvie Lantuejoul pour leur accueil bienveillant dans la spécialité, pour l'exemple de pragmatisme, de passion, dans la pathologie thoracique. Merci de m'avoir transmis votre passion pour ce métier.
- Au Docteur Diane Giovannini, au Docteur Geraldine Saada-Sebag, au Docteur Marie-Hélène Laverrière, au Docteur Nicole Pinel, au Docteur Eleni Nika, au Docteur Christina Dikoglou, au Docteur Jean Boutonnat, au Docteur Anne Mc Leer et au Docteur Michèle Fior-Gozlan, pour leur encadrement, leur instruction, leur compétence, leur amour pour ce métier et surtout la transmission de connaissances pour les futures générations avec beaucoup de gentillesse et de bienveillance.
- A nos supers techniciennes, et à nos supers secrétaires ! Je n'oublierai jamais votre accueil, votre bienveillance, votre aide, votre générosité et le fait de m'avoir fait me sentir chez moi dès le premier jour de mon internat. Du plus profond de mon cœur : Merci pour tout.
- Et merci à toi Laurence pour ton aide dans cette thèse ! Ton incroyable gentillesse et ton efficacité m'ont enlevé tout stress par rapport aux techniques de ma thèse. MILLE MERCI !!!

Je voudrais également remercier :

- Le service d'anapath de Chambéry, le chef de service Docteur Jean-Jacques Roux et tous les autres chefs : Docteur Dieny, Docteur Pocachard et leur super équipe de techniciens et de secrétaires. Merci pour tout ce que vous avez fait pour moi, je n'oublierai jamais.
- Le service du Professeur Jouk en foetopathologie où j'ai réalisé dix mois de mon internat. Merci à toute l'équipe : Valérie, Julien, Jérôme et à tous les médecins de Génétique : Docteur Florence Amblard, Docteur Françoise Devillard, Docteur Véronique Satre, Docteur Coutton Charles, Docteur Klaus Dieterich. Merci pour votre gentillesse et pour votre accueil.

Et enfin à ceux que j'ai oublié : MERCI !

ABREVIATIONS

DMK : Dysplasie multikystique

PKAR : Polykystose autosomique récessive

PKAD : Polykystose autosomique dominante

SA : Semaine d'aménorrhée

CAKUT : Anomalie congénitale du rein et des voies urinaires
(Congenital anomalies of the kidney and urinary tract)

EPO : Erythropoïétine

ADH : Hormone anti-diurétique

CPDPN : Centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal

RESUME

Introduction :

La voie PI3K/AKT/mTOR est impliquée dans l'organogénèse fœtale mais aussi dans le développement de processus pathologique notamment néoplasique. Depuis les années 2000, des inhibiteurs de cette voie de signalisation, avec en chef de file la Rapamycine, sont utilisés dans le traitement de certaines pathologies, en particulier en cancérologie.

L'objectif principal de cette étude est d'analyser l'expression topographique de Phospho-AKT et de Phospho-mTOR dans le développement rénal normal et dans des pathologies kystiques principalement la dysplasie multikystique et la polykystose autosomique récessive.

Matériel et méthodes :

17 cas de reins fœtaux normaux d'âges différents utilisés comme contrôle et 13 cas de reins pathologiques atteints de DMK (dysplasie multikystique) et 5 cas de PKAR (polykystose autosomique récessive) ont été principalement analysés par immunohistochimie afin d'évaluer l'expression de Phospho-AKT et de Phospho-mTOR.

Résultats :

Précocement dans le développement rénal normal, Phospho-AKT et Phospho-mTOR sont exprimés de manière identique, au niveau des structures dérivant du bourgeon urétéral. Par la suite, leurs expressions divergent en fonction des besoins de prolifération et de différenciation cellulaires dans le temps en devenant plus sélectives.

Concernant la dysplasie multikystique, Phospho-AKT et Phospho-mTOR ont les mêmes aspects en s'exprimant au niveau de l'épithélium kystique, de son mésenchyme lâche et au niveau des tubes primitifs.

Pour la PKAR, il n'existe pas de marquage de Phospho-AKT, contrairement à Phospho-mTOR qui est retrouvé au niveau du revêtement kystique.

Conclusion :

Cette étude a montré l'implication de Phospho-AKT et Phospho-mTOR dans le développement rénal normal et pathologique. Pour les pathologies kystiques, des inhibiteurs spécifiques de ces protéines pourraient être proposés en post natal dans les formes les moins graves.

ABSTRACT

Introduction:

The pathway PI3K / AKT / mTOR is involved in fetal organogenesis but also in the development of pathological processes including neoplasia. Since 2000, inhibitors of this signaling pathway, such as Rapamycin, are used, especially in the field of oncology.

The main objective of this study is to analyse the topographic expression of Phospho-AKT and Phospho-mTOR in normal renal development and in cystic pathologies, mainly multicystic dysplastic kidney and autosomal recessive polycystic kidney disease.

Material and Methods:

17 cases of normal fetal kidneys of different ages used for control and 13 cases of pathological kidneys with MCDK (Multicystic dysplastic kidney) and 5 cases of autosomal recessive polycystic kidney disease (ARPKD) were mainly analyzed by immunohistochemistry in order to evaluate the expression of Phospho-AKT and Phospho-mTOR.

Results:

Phospho-AKT and Phospho-mTOR are early expressed in normal renal development and in identical manner for every structures derived from the ureteric bud. Later, their expressions differ according to the needs of cell proliferation and differentiation over time by becoming more selective.

In MCDK, Phospho-AKT and Phospho-mTOR has the same profile, by expressing in cystic epithelium, loose mesenchyme and primitive tubes.

In ARPKD, Phospho-AKT is not expressed, whereas Phospho-mTOR is found in the cystic lining.

Conclusion:

This study enhances the involvement of Phospho-AKT and Phospho-mTOR pathway in normal and pathological renal development.

Specific inhibitors of these proteins could be a good way to treat some less severe forms of renal cystic diseases in postnatal.

TABLE DES MATIERES

ENSEIGNANTS A L'UFR MEDECINE	3
REMERCIEMENTS	7
ABREVIATIONS	12
RESUME	13
ABSTRACT.....	14
A) INTRODUCTION	19
1) Généralités.....	19
1.1 Fonction exocrine	19
1.2 Fonction endocrine	20
2) Morphologie rénale	22
2.1 Macroscopie	22
2.1.1 La Corticale	24
2.1.2 La Médullaire	24
2.2 Microscopie	26
2.2.1 L'unité fonctionnelle du rein : le néphron.....	26
2.2.2 Le glomérule.....	28
2.2.2.1 <i>Le pôle vasculaire</i>	29
2.2.2.2 <i>Le pôle urinaire</i>	29
2.2.2.3 <i>La barrière de filtration</i>	30
2.2.3 Le tube proximal.....	32
2.2.4 L'anse de Henlé.....	33
2.2.5 Le tube distal	35
2.2.6 Le tube collecteur ou tube de Bellini.....	36
2.2.7 L'appareil juxta-glomérulaire (de Goormatigh).....	39
2.2.8 Voies excrétrices	40
2.2.9 La vascularisation rénale.....	41
3) Embryologie rénale	44
3.1 Introduction générale.....	44
3.2 Les différentes structures	46
3.2.1 Le pronéphros	46
3.2.2 Le mésonéphros.....	47
3.2.3 Le métanéphros.....	47
3.2.4 Gènes intervenant dans le développement rénal.....	48
3.3 Schéma général du développement rénal (morphologie).....	50
3.4 Fonction du rein au cours de la grossesse.....	53
4) Pathologies rénales dans le développement foetal.....	54
4.1 La dysplasie multikystique du rein (DMK)	56
4.2 La polykystose autosomique récessive rénale	62
4.3 Autres pathologies étudiées	67
4.3.1 Le syndrome de Bardet-Biedl.....	67
4.3.2 La délétion 17q12 du gène HNF1 β	68

5) Voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR:	69
5.1 Cascade de signalisation	69
5.1.1 La PI3K	69
5.1.2 AKT	70
5.1.2.1 Signalisation AKT/mTOR	70
5.1.2.2 Activation en Phospho-AKT	71
5.1.2.3 Inhibiteurs d'AKT	72
5.1.3 mTOR	73
5.1.3.1 Signalisation de mTOR	73
5.1.3.2 Phospho-mTOR	75
5.1.3.3 Inhibiteurs de mTOR	76
5.2 PI3K/AKT/mTOR dans l'organogénèse	77
5.2.1 L'exemple pulmonaire	78
5.2.2 L'exemple du tube digestif	80
5.2.3 Implication dans les malformations : la PKAD	81
5.3 PI3K/AKT/mTOR dans le développement tumoral	82
5.3.1 Analogues de la Rapamycine dans le cancer du rein	83
5.3.2 Le cancer du sein : nouvelles alternatives thérapeutiques	83
6) Objectif de l'étude	85
B) MATERIEL ET METHODES	86
1) Matériel	86
1.1 Inclusion	87
1.1.1 Prélèvements rénaux normaux	88
1.1.2 Prélèvements rénaux pathologiques	89
2) Méthode	90
2.1 Recueil et analyse des données	90
2.2 Technique Immunohistochimique	91
2.2.1 Phospho-AKT	91
2.2.2 Phospho-mTOR	93
C) RESULTATS	94
1) Morphologie rénale au cours du développement normal	94
1.1 Description de la population contrôle	94
1.2 Coloration HES (Hématoxyline, Eosine, Safran)	95
1.2.1 Fin du premier trimestre et début du deuxième trimestre	95
1.2.2 Fin du deuxième trimestre et début du troisième trimestre	97
1.2.3 Troisième trimestre	99
1.3 Expression de Phospho-AKT au cours du développement rénal	101
1.3.1 Fin du premier trimestre et début du deuxième trimestre	101
1.3.2 Fin du deuxième trimestre et début du troisième trimestre	103
1.3.3 Troisième trimestre	105
1.4 Expression de Phospho-mTOR au cours du développement rénal	106
1.4.1 Fin du premier trimestre et début du deuxième trimestre	106
1.4.2 Fin du deuxième trimestre et début du troisième trimestre	108
1.4.3 Troisième trimestre	110
1.5 Corrélation entre Phospho-AKT et Phospho-mTOR au cours du développement rénal normal	112

2) Pathologies rénales kystiques.....	114
2.1 La dysplasie multikystique rénale.....	114
2.1.1 Population étudiée.....	114
2.1.2 Coloration HES.....	115
2.1.3 Expression de Phospho-AKT.....	117
2.1.4 Expression de Phospho-mTOR.....	119
2.1.5 Corrélation entre l'expression de Phospho-AKT et de Phospho-mTOR.....	121
2.1.6 Comparaison du parenchyme rénal normal et résiduel dans la DMK.....	121
2.2 La polykystose autosomique récessive rénale.....	122
2.2.1 Population étudiée.....	122
2.2.2 Coloration HES.....	122
2.2.3 Expression de Phospho-AKT.....	124
2.2.4 Expression de Phospho-mTOR.....	125
2.2.5 Corrélation entre l'expression de Phospho-AKT et de Phospho-mTOR.....	127
2.2.6 Comparaison du parenchyme rénal normal au résiduel dans la PKAR.....	127
3) Etude préliminaire : BBS6 et HNF1β.....	128
3.1 Le syndrome de Bardet-Biedl mutation 6.....	128
3.1.1 Présentation du cas.....	128
3.1.2 Coloration HES, immunohistochimie de Phospho-AKT et de Phospho-mTOR.....	128
3.2 La délétion du 17q12 du gène HNF1 β	131
3.2.1 Présentation du cas.....	131
3.2.2 Coloration HES, immunohistochimie de Phospho-AKT et de Phospho-mTOR.....	132
D) DISCUSSION	134
1) Le développement rénal normal	135
1.1 Expression de Phospho-AKT.....	135
1.2 Expression de Phospho-mTOR.....	138
1.3 Etude de la corrélation entre l'expression de Phospho-AKT et de Phospho-mTOR au cours du développement rénal normal.....	140
1.4 Cancer du rein et voie PI3K/AKT/mTOR.....	144
1.4.1 Carcinome à cellules claires.....	145
1.4.2 Carcinome à cellules chromophobes.....	146
1.4.3 Carcinome des tubes collecteurs (Carcinome de Bellini).....	147
2) Le développement rénal pathologique.....	148
2.1 La dysplasie multikystique rénale.....	148
2.2 La polykystose rénale autosomique récessive.....	150
2.2.1 La PKAD.....	150
2.2.2 La PKAR.....	151
2.3 BBS6 et HNF1 β	154
3) Perspectives de l'étude	155

E) CONCLUSION.....	156
ANNEXES	159
<i>Annexe N°1.....</i>	<i>159</i>
<i>Annexe N°2.....</i>	<i>160</i>
<i>Annexe N°3.....</i>	<i>161</i>
<i>Annexe N°4.....</i>	<i>162</i>
<i>Annexe N°5.....</i>	<i>173</i>
BIBLIOGRAPHIE.....	175
SERMENT D’HYPPOCRATE	183

A) INTRODUCTION

1) Généralités

Le rein est un organe majeur de la physiologie humaine.

Il a pour objectif principal de maintenir l'homéostasie du corps humain à travers deux fonctions(1) : la fonction principale exocrine et la fonction endocrine.

1.1 Fonction exocrine

Grâce à sa capacité de filtration du sang par l'intermédiaire des glomérules, il permet d'éliminer des déchets présents dans le sang qui sont d'origine endogène (urée, créatinine, bilirubine...) ou d'origine exogène (médicaments, antibiotiques, toxiques...). Ils sont éliminés via l'urine primitive qui est composée principalement d'eau et de plusieurs électrolytes. Ce système de purification est un des principaux mécanismes de défense et de tamponnement du corps humain.

L'organe rénale assure aussi l'équilibre acido-basique et hydro-électrolytique sanguin par l'intermédiaire de mécanismes d'excrétion et de réabsorption de différents électrolytes comme le sodium, le potassium, le calcium, le chlore mais aussi par l'intermédiaire d'échange d'eau. Le néphron est l'unité fonctionnelle rénale assurant cet équilibre permanent dans le but de maintenir l'homéostasie générale.

1.2 Fonction endocrine

Le rein est aussi un organe possédant une fonction endocrine primordiale.

Il est la clé de voûte du système Rénine-Angiotensine avec sa synthèse de rénine, qui hydrolysera l'angiotensinogène (produit par le foie) en angiotensine I, qui se transformera par la suite, grâce à l'enzyme de conversion de l'angiotensine, en angiotensine II au niveau pulmonaire.

L'angiotensine II participe à l'augmentation de la pression artérielle par son action vasoconstrictrice et en augmentant la sécrétion d'aldostérone. Les modifications de la pression artérielle et le rétrocontrôle négatif de l'angiotensine II sur la rénine vont modifier sa sécrétion. Ainsi, on comprend l'importance du rein dans la régulation de la pression artérielle sanguine.

Le rein est responsable de la production d'érythropoïétine (EPO) qui permet la prolifération et la différenciation des érythrocytes au niveau de la moelle osseuse. Sa sécrétion augmente ainsi la quantité de globules rouges (transporteur d'oxygène) et est adaptée à la concentration sanguine d'oxygène dans le but de garder une concentration stable.

Il permet aussi l'activation hormonale de la vitamine D₃ par la transformation de sa forme inactive hépatique (25-OH cholécalciférol) en forme active rénale (1,25-OH dihydrocholécalciférol), essentielle dans le métabolisme osseux et phospho-calcique.

A travers ces fonctions d'excrétion, de réabsorption et de synthèse endocrine, le rein apparait alors comme un organe vital à l'homme.

Son développement est par conséquent capital lors de la vie intra et extra-utérine. Des anomalies lors de l'organogénèse rénale peuvent entrainer des malformations rénales altérant son fonctionnement et pouvant être à l'origine d'insuffisance rénale chronique terminale.

2) Morphologie rénale

2.1 Macroscopie

Les reins sont situés dans la zone rétropéritonéale et sont au nombre de deux.

Ils possèdent la forme d'un haricot, avec dans sa partie concave le hile qui constitue le point de départ des uretères et le point d'entrée et de sortie du paquet vasculo-nerveux rénal (*Figure 1*)(2).

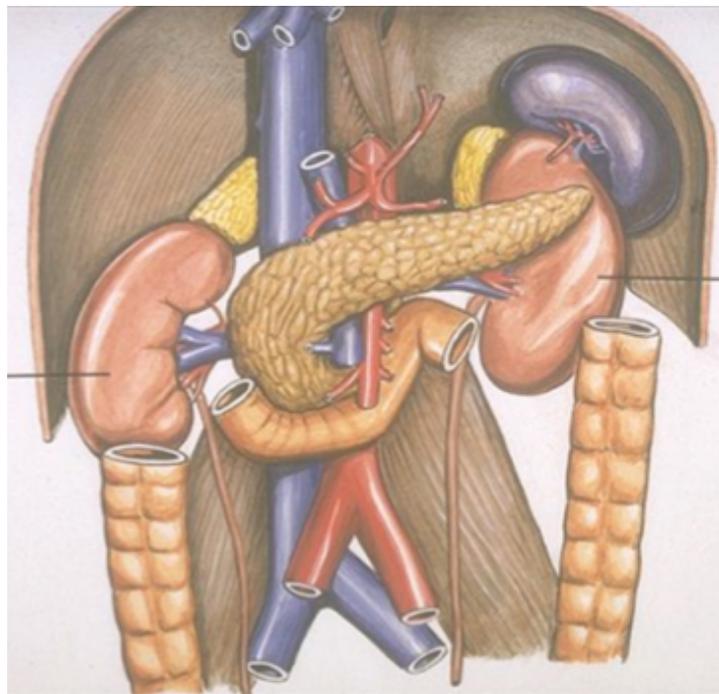


Figure 1 : Position rétropéritonéale des reins et rapport avec les organes adjacents

Macroscopiquement, le parenchyme rénal se divise en deux zones (*Figure 2*) : la corticale (correspondant aux segments courbés des tubes urinaires et aux glomérules) et la médullaire (correspondant aux segments droits des tubes urinaires). Bien que séparées, ces deux parties s'entremêlent avec des tubes droits qui se retrouvent dans la partie corticale et des tubes courbés dans la partie médullaire.

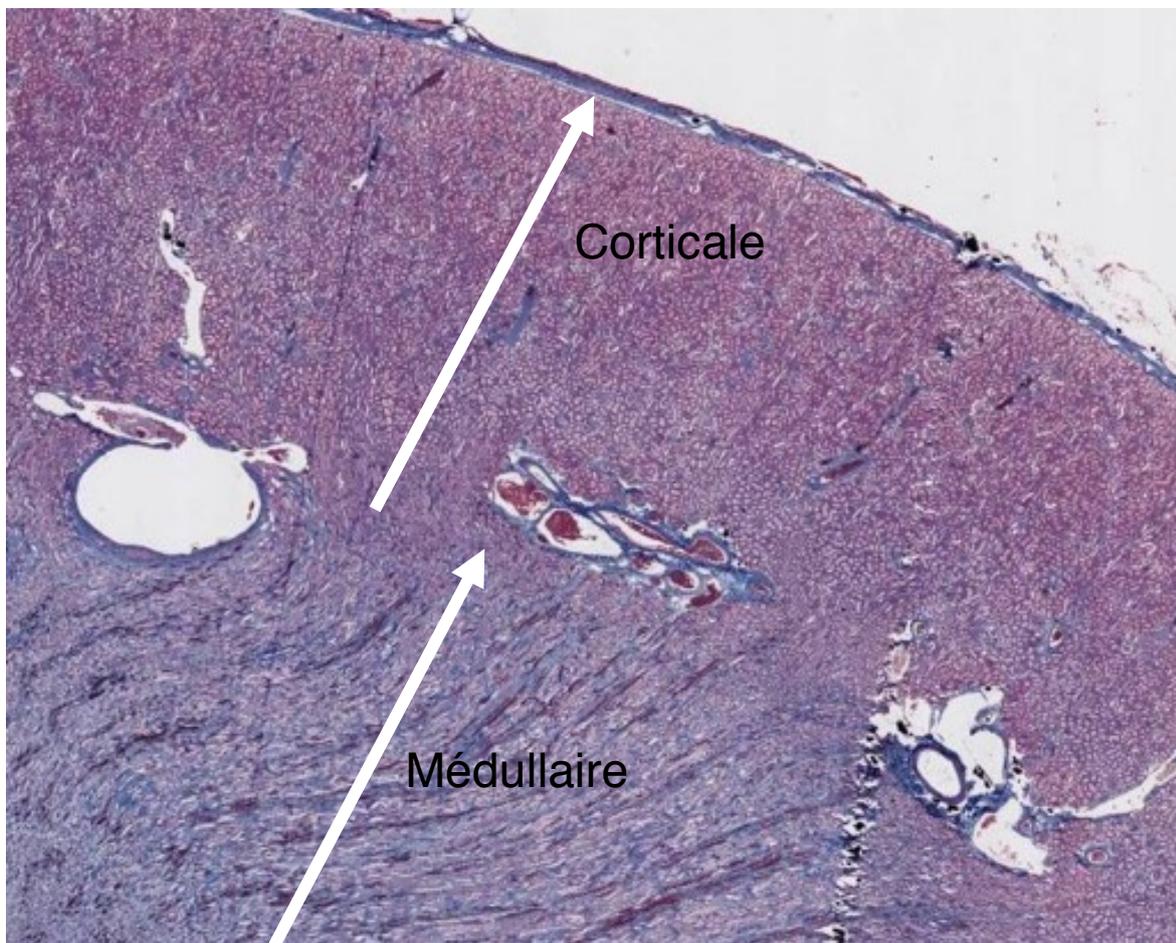


Figure 2 : Coupe histologique longitudinale de la corticale et de la médullaire.

2.1.1 La Corticale

Le cortex rénal est la zone du parenchyme qui comprend les glomérules, les tubes contournés proximaux et distaux ainsi que certaines parties des anses de Henlé.

Le cortex est quant à lui réparti en trois zones. :

- Le cortex corticis, qui correspond à la région sous capsulaire rénale qui ne contient pas de glomérules.
- Le labyrinthe rénal, situé entre les pyramides de Ferrein, en dessous du cortex corticis.
- Les colonnes de Bertin, permettant la séparation des pyramides de Malpighi.

Grâce à cette répartition topographique, on peut être à même de définir les notions de lobe rénal (partie du parenchyme organisé sur la pyramide de Malpighi médullaire) et de lobule rénal (partie du parenchyme centrée sur les pyramides de Ferrein associée au cortex) (*Figure 3*).

2.1.2 La Médullaire

La médullaire est organisée sous la forme de pyramide, à base périphérique (jonction cortico-médullaire) et dont le sommet pointe vers le hile rénal.

Elles sont au nombre de 10 à 18 et appelées pyramides de Malpighi.

Le sommet de chaque pyramide est constitué d'une papille, qui vient s'aboucher vers un petit calice, qui débouche vers un plus grand calice, pour enfin déverser le contenu urinaire vers le bassinet.

Chaque pyramide de Malpighi est associée à d'autres structures pyramidales nommées pyramides de Ferrein, contenues dans la zone corticale.

Elles ont une situation inversée par rapport aux pyramides de Malpighi (sommet pointant vers la périphérie) et sont au nombre de 400 à 500 par pyramide de Malpighi. On parle alors d'irradiations médullaires dans la corticale (*Figure 3*)(3).

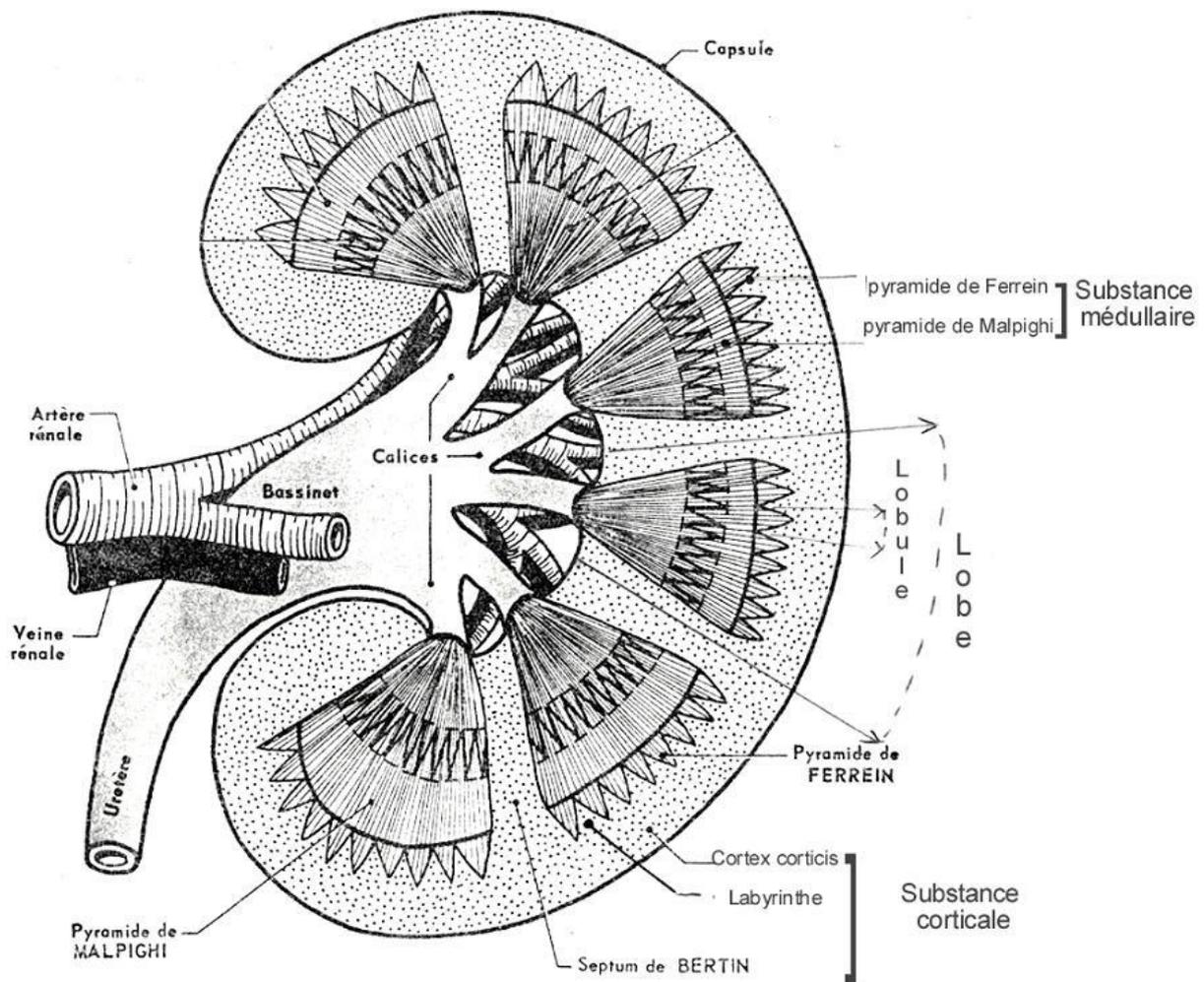


Figure 3 : Coupe longitudinale montrant l'organisation rénale générale

2.2 Microscopie

2.2.1 L'unité fonctionnelle du rein : le néphron

Le néphron(4) est composé de deux structures aux fonctions différentes : le glomérule rénal et le système tubulaire.

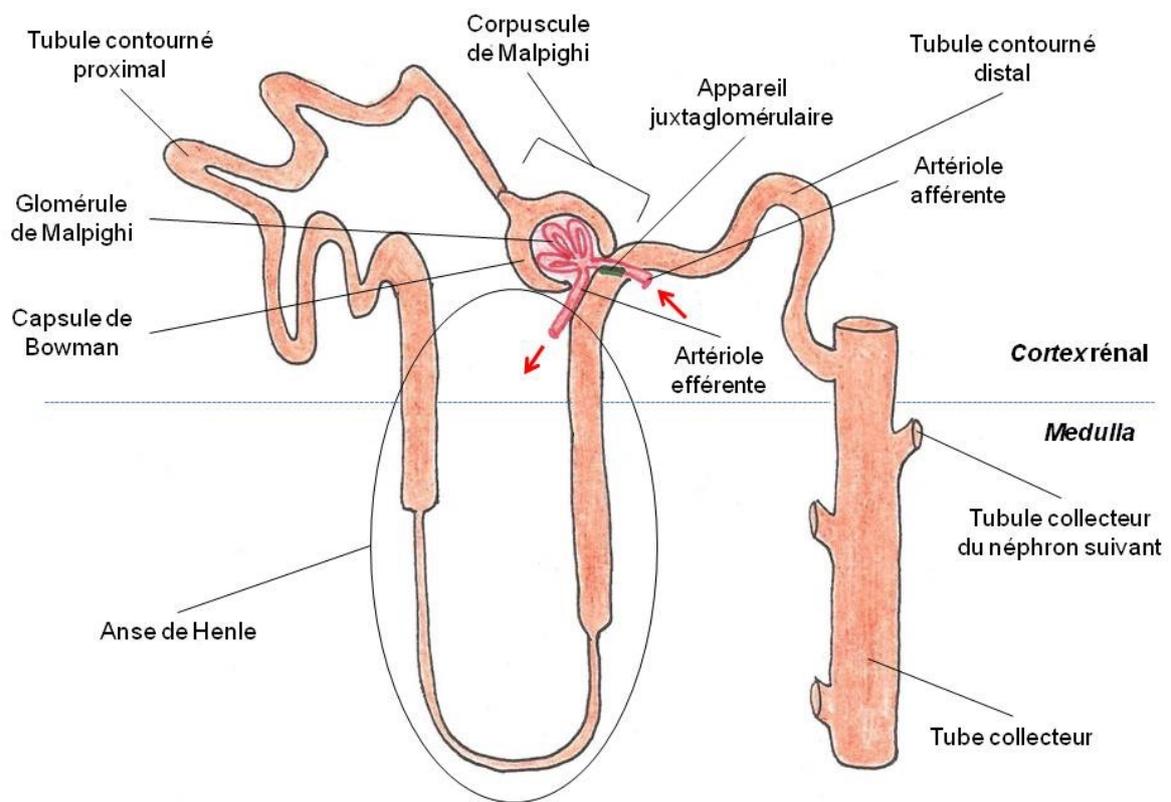
Le glomérule rénal, nommé aussi corpuscule rénal ou de Malpighi, est le lieu de la filtration sanguine permettant la formation de l'urine primitive.

Le système tubulaire, constitué du tube proximal, de l'anse de Henlé, du tube distal, et enfin du tube collecteur (appelé aussi Bellini), va quant à lui modifier la composition de l'urine primitive par un jeu de réabsorption/sécrétion afin de maintenir l'homéostasie (*Figure 4*)(5).

Il existe des néphrons courts, au glomérule de petite taille compris dans la partie superficielle du cortex et à l'anse de Henlé courte se terminant dans la zone externe de la médullaire. Ils ont une capacité de réabsorption faible et sont les plus nombreux.

Par opposition, les néphrons longs, au glomérule volumineux, situés dans la partie profonde du cortex et à l'anse de Henlé se terminant dans la partie profonde de la médullaire, ont une capacité de réabsorption, en sodium notamment, plus importante.

On compte environ un million de néphrons par rein.



Fernandes, A., 2016

Figure 4 : l'unité fonctionnelle rénale : le néphron

2.2.2 Le glomérule

L'élément central permettant la filtration rénale est représenté par le glomérule de Malpighi, appelé aussi corpuscule. Il est composé de 2 pôles : le pôle vasculaire et le pôle urinaire (*Figure 5*).

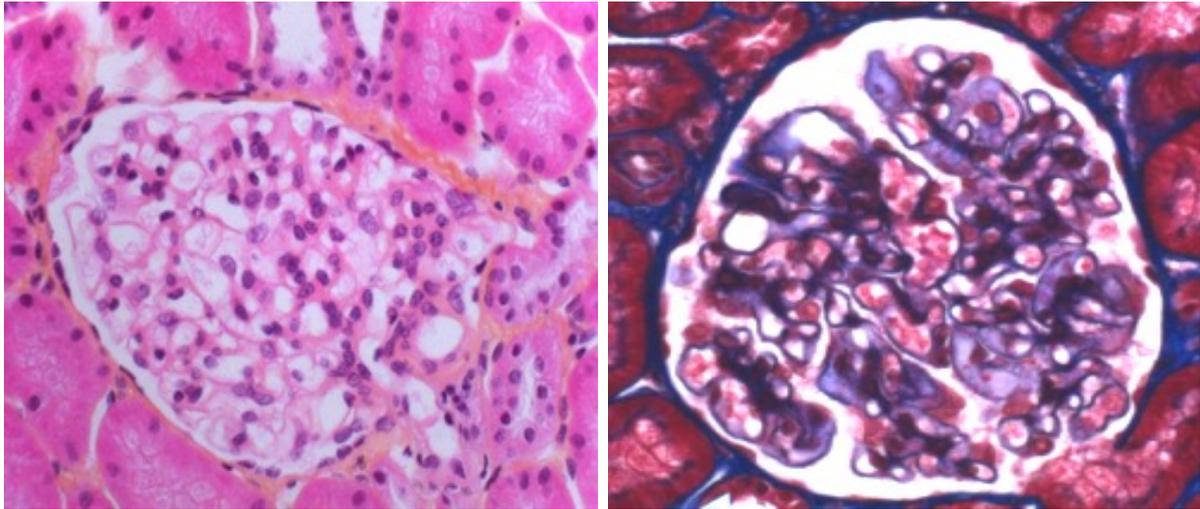


Figure 5 : Coupe histologique d'un glomérule

2.2.2.1 Le pôle vasculaire

En effet, à partir de son entrée dans le hile glomérulaire, l'artériole afférente donnera naissance à 4 à 6 branches, qui vont former pour chacune d'entre elles un réseau anastomotique autonome. Ce dernier est maintenu grâce à un tissu interstitiel appelé le mésangium (*Figure 6*). L'ensemble constitue ainsi le glomérule vasculaire ou peloton vasculaire. On le qualifie de « pôle vasculaire ».

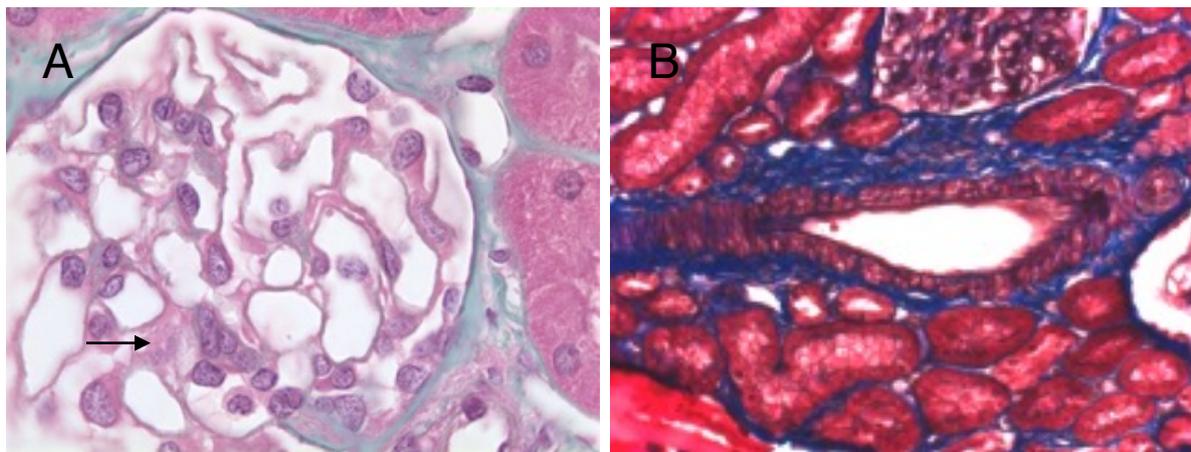


Figure 6 : Coupe histologique du mésangium (Flèche) (A) et d'une artériole rénale (B)

2.2.2.2 Le pôle urinaire

Autour du peloton vasculaire apparaît la capsule de Bowman.

Il s'agit d'une « chambre urinaire » qui déversera l'urine primitive dans le tube contourné proximal. Elle est composée de deux feuillets : viscéral et pariétal.

Le feuillet viscéral, se moulant sur les capillaires, est constitué de podocytes, cellules aplaties comportant de nombreux prolongements cytoplasmiques.

Ces ramifications cytoplasmiques, au contact du réseau capillaire anastomotique, vont former les pieds de premier ordre, qui vont ensuite se scinder pour former des pieds de second ordre ou pédicelles.

Le feuillet pariétal est composé d'un épithélium pavimenteux, se prolongeant avec l'épithélium du tube contourné proximal. Il va ainsi circonscrire l'ensemble du feuillet viscéral avec les capillaires. Le tout formant ce que l'on qualifie de « pôle urinaire » (*Figure 7*).

2.2.2.3 La barrière de filtration

La barrière de filtration glomérulaire est constituée de trois éléments qui permettent la création de l'urine primitive. Elle est, par conséquent, située entre le sang et la chambre urinaire de la capsule de Bowman.

En premier lieu, elle est composée de l'endothélium vasculaire qui possède une partie mince et fenêtrée par de nombreux pores et une partie épaisse au contact du mésangium.

Secondairement, les membranes de filtration des podocytes vont jouer un rôle primordial dans la barrière de filtration. En effet, les pédicelles des podocytes présentent des protéines chargées électronégativement à leurs surfaces, comme notamment la podocalyxine, permettant aux pédicelles de se repousser entre elles afin de maintenir en place des fentes de filtration.

Enfin, une lame basale est située entre l'endothélium vasculaire et les podocytes. Elle est synthétisée par ces deux éléments et possède trois couches. Elle a pour rôle de ne pas laisser passer les protéines de poids supérieur à 70Kd grâce à son architecture en maillage et la présence de glycosaminoglycanes chargés négativement et repoussant de ce fait les molécules électropositives (Figure 7)(6).

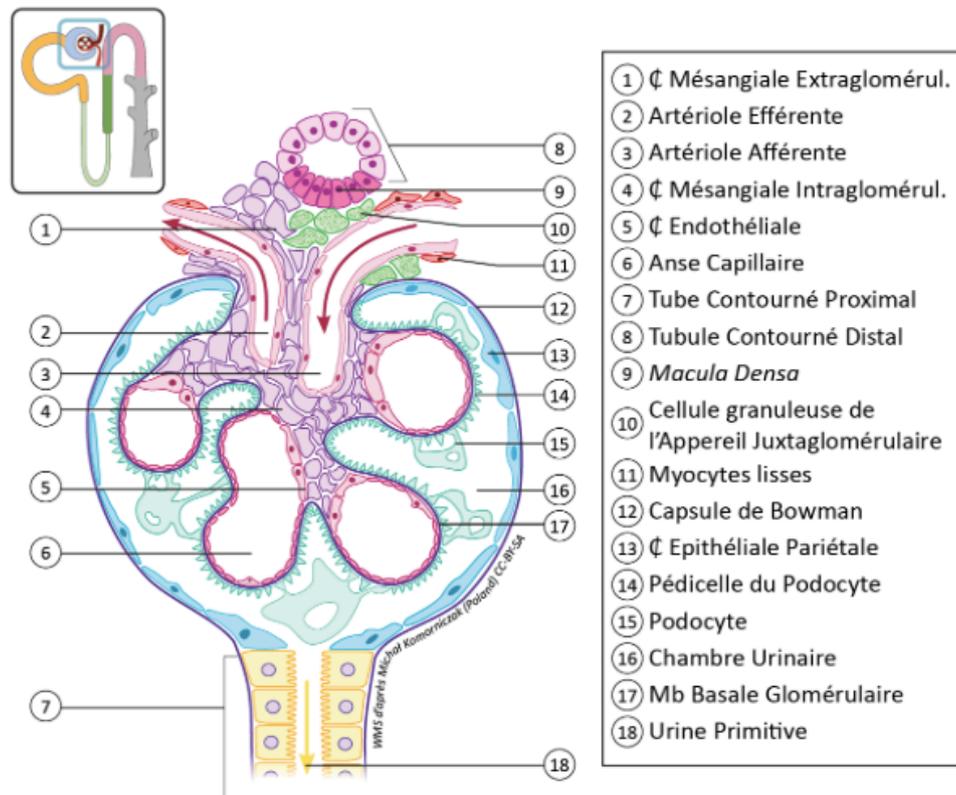


Figure 7 : Schéma microscopique d'un glomérule

2.2.3 Le tube proximal

Le tube proximal comprend une partie contournée (ou tube contourné proximal) et une partie droite (ou tube droit proximal). Ces deux parties possèdent la même architecture, avec des spécificités cytologiques moins prononcées pour la partie droite.

Cing à sept cellules cubiques sont observées en moyenne sur une coupe transversale, possédant un noyau arrondi en position médiane et composant l'épithélium. On les appelle communément les néphrocytes (idem pour les cellules épithéliales des tubes distaux).

Au niveau cytoplasmique, ces cellules apparaissent intensément colorées sur les coupes, témoignant d'une richesse en organites cytoplasmiques (lyzosomes et vésicules d'endocytose au pôle apical, appareil de Golgi supra-nucléaire, mitochondries au pôle basal).

De nombreuses différenciations cytologiques ont été observées.

Le pôle apical avec sa bordure en brosse apparait flou à la lumière du tube contourné proximal. Cette bordure aux longues microvillosités régulières et très serrées, riches en différents enzymes et transporteurs, intervient dans la fonction principale de réabsorption du tube proximal, spécialement dans sa partie contournée.

Le pôle basal s'organise en de profondes invaginations irrégulières de la membrane basale, où logent de nombreuses mitochondries. On appelle ces invaginations bâtonnets de Heidenhain.

Quelques interdigitations et complexes de jonctions assurent le maintien de l'architecture tissulaire aux pôles latéraux des néphrocytes.

La partie droite du tube proximal (ou tube de Schashowa) se retrouve dans les pyramides de Ferrein (néphrons à glomérules périphériques) et dans la zone externe des pyramides de Malpighi (néphrons à glomérule médian ou profond) (*Figure 8*).

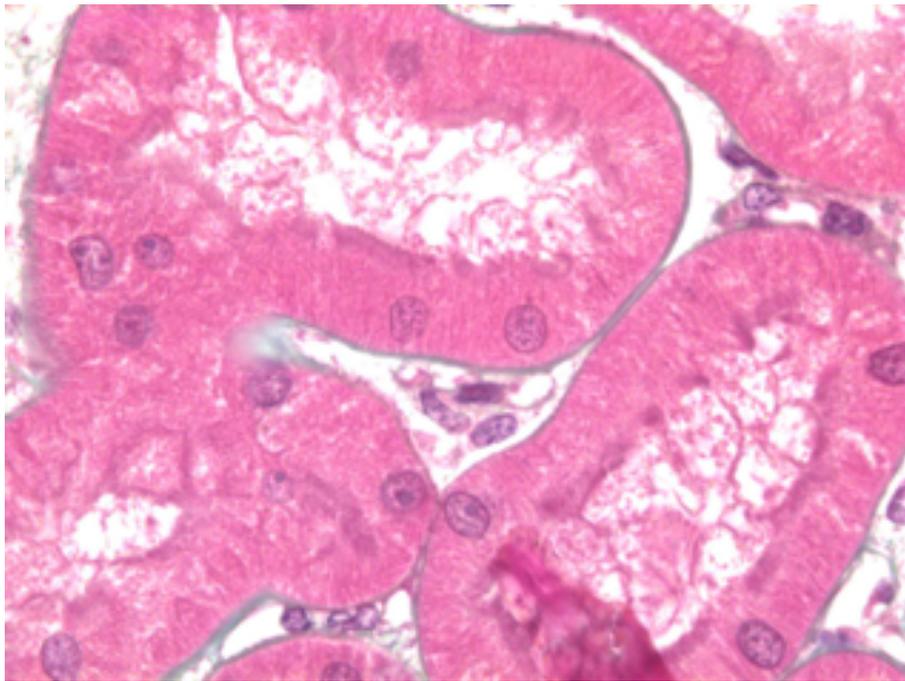


Figure 8 : Coupe histologique transversale de tubes contournés proximaux

2.2.4 L'anse de Henlé

L'anse de Henlé (*Figure 9*), possédant une partie large (épaisse) et une partie basse grêle (fine), s'articule en forme de U.

En effet, la portion large, ascendante ou descendante comprend un épithélium très proche du tube droit qui le précède.

Elle est donc composée de cellules cubiques simples et mesure 30 à 40 μ m de diamètre. La partie grêle forme le virage « en épingle » du U et se situe dans la partie interne des pyramides de Malpighi, avec les tubes collecteurs. Cette partie est un épithélium pavimenteux simple de 2 à 3 cellules aplaties en coupe transversale, à noyau ovalaire faisant saillit dans la lumière.

Contrairement au tube contourné proximal, les cellules de la partie grêle de l'anse de Henlé sont pauvres en organites au niveau de leur cytoplasme, mais ont de nombreux complexes de jonctions intercellulaires et quelques microvillosités au pôle apical, de très petite taille.

Notons que la taille des anses de Henlé va être différente en fonction des néphrons. Elles sont longues et pénètrent profondément jusqu'au sommet des pyramides de Malpighi pour les anses de Henlé des néphrons juxta-médullaires, contrairement à celles des néphrons centro-corticaux qui sont beaucoup plus courtes et qui ne descendent que sur une petite partie de la médullaire.

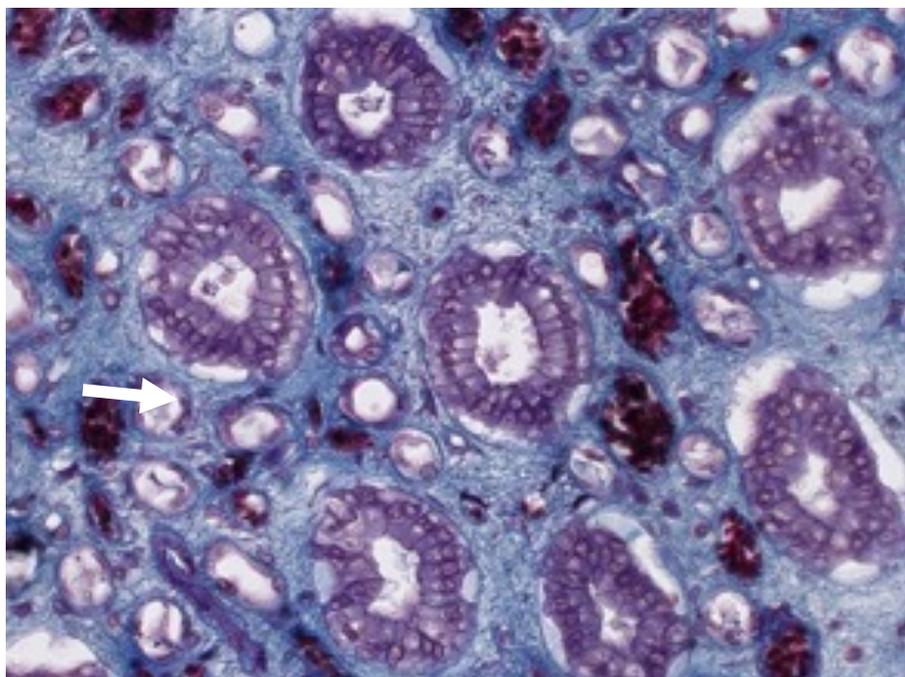


Figure 9 : Coupe histologique transversale des anses de Henlé (flèche blanche)

2.2.5 Le tube distal

Tout comme le tube proximal, le tube distal comprend une partie droite et une partie contournée.

La partie droite (ou segment de Schweigger-Seidel), faisant suite à l'anse de Henlé, possède la même architecture cellulaire que le tube contourné distal suivant, mais aux différenciations cellulaires moins prononcées.

Le tube contourné se trouve au niveau du pôle vasculaire de son glomérule, formé par l'artériole afférente et ses branches. C'est à cet endroit que les cellules du tube contourné distal prendront une différenciation cytologique, la Macula Densa, et participeront à la création de l'appareil juxta-glomérulaire. Il est donc localisé dans la corticale.

Le tube contourné distal comprend un épithélium cubique simple. Il est caractérisé par l'absence de bordure en brosse à son pôle apical, avec des microvillosités existantes mais nettement moins longues et nombreuses. Les interdigitations basales et latérales restent bien présentes, et les mitochondries dans le cytoplasme apparaissent aussi nombreuses (*Figure 10*).

Le tube contourné distal est, à l'opposé du tube contourné proximal, de diamètre inférieur, de taille plus petite et moins contourné, et semble avoir une lumière de plus grande largeur du fait de ses microvillosités moins abondantes.

La fonction primaire du tube distale est de maintenir l'équilibre acido-basique sanguin.

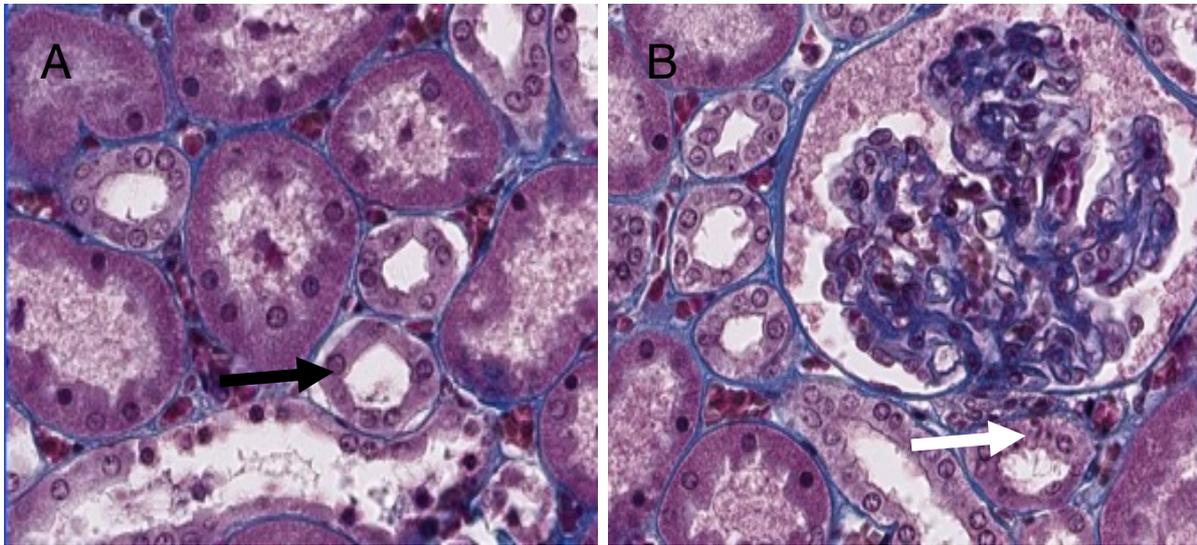


Figure 10 : Coupe histologique transversale du tube contourné distal (A : flèche noire) et coupe histologique transversale d'un glomérule avec tube contourné distal (B) et Macula densa (flèche blanche)

2.2.6 Le tube collecteur ou tube de Bellini

Prenant naissance dans les irradiations médullaires après le tubule collecteur (partie située entre le tube contourné distal et le tube collecteur et possédant un épithélium de transition, c'est à dire intermédiaire entre les deux segments où il s'insère), les tubes collecteurs, en augmentant progressivement de diamètre, pénètrent jusqu'aux sommets des pyramides de Malpighi. C'est à cet endroit qu'ils vont se réunir pour créer des canaux papillaires de grande taille (100 à 150 μ m). Ces derniers vont constituer un tamis nommé Area Cribosa en s'ouvrant dans la papille.

Le tube de Bellini est un épithélium cubique composé de cellules claires (ou principales) et de cellules sombres (ou intercalées).

Les cellules principales sont le type le plus représenté.

Elles sont dérivées du bourgeon urétéral. Ce sont des cellules cubiques basses qui deviennent quasiment prismatiques vers la partie terminale du tube collecteur. Elles sont pauvres en organites cytoplasmiques (notamment en mitochondries) d'où leur aspect clair et ne possèdent que quelques microvillosités de taille très courte. Leurs membranes cytoplasmiques basales forment de nombreux replis, en revanche leurs faces latérales sont dépourvues d'indentations. C'est pour cela que les membranes cellulaires sont facilement visibles en microscopie optique contrairement au segment proximal et distal.

Ces cellules possèdent une grande quantité de pompes à sodium, intervenant dans les échanges d'eau et exprimant en immunohistochimie les cytokératines 7 et 19.

Les cellules sombres (ou intercalaires), situées entre les cellules claires et moins nombreuses, voient leur nombre diminué le long du tube collecteur.

Elles possèdent une différenciation cytologique qui est voisine à celle des cellules du tube contourné distal, avec un cytoplasme aux organites abondants (mitochondries, réticulum endoplasmique granuleux abondants et de nombreuses vésicules) et aux quelques replis apicaux.

Elles sont dotées de pompes à protons et sécrètent des ions bicarbonates, responsable de la modification du pH urinaire. Certaines d'entre elles expriment l'EGF (Epidermal Growth Factor)(4). Cependant, elles n'expriment pas la cytokératine 19(4).

Le tube de Bellini joue son rôle de régulateur de la concentration finale de l'urine, influencé par l'hormone antidiurétique (ADH) (*Figure 11*).

Cette dernière est libérée en réponse à l'hyperosmolalité ou à l'hypovolémie et permet d'augmenter la perméabilité à l'eau du tube collecteur(7).

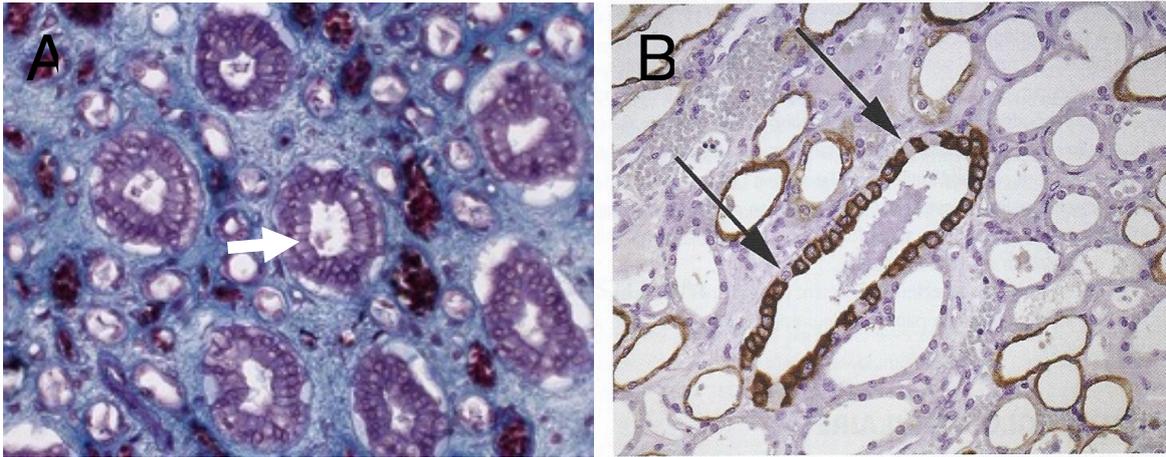


Figure 11 : Coupe histologique transversale du tube collecteur analysée en trichrome de Masson(A) et en immunohistochimie avec l'anticorps anti-cytokératine AE1-AE3

2.2.7 L'appareil juxta-glomérulaire (de Goormatigh)

L'appareil juxta-glomérulaire comprend trois éléments cellulaires au niveau du pôle vasculaire du glomérule.

Tout d'abord, des cellules myoépithéliales de l'artériole afférente, contenant des myofibrilles car issues des cellules musculaires lisses de la média, contiennent des grains de zymogène qui vont permettre la synthèse endocrine de la rénine dans l'artériole afférente (aussi présente, en très faible quantité dans l'artériole efférente). On les qualifie de cellules granuleuses (*Figure 12 : flèche blanche*).

Ensuite, les cellules de la Macula Densa, au début du tube contourné distal et au contact de l'artériole afférente, possèdent pour leur part des cellules plus serrées et plus hautes à polarité inversée (noyau au pôle apical) et très différenciées.

Pour terminer, les cellules de Lacis comblent l'espace entre les artérioles et le tube contourné distal, au niveau du pôle vasculaire.

Elles sont surnommées les cellules mésangiales extraglomérulaires car en contact avec les cellules du mésangium et possèdent aussi des capacités contractiles et macrophagiques, comme les cellules mésangiales (*Figure 12*).

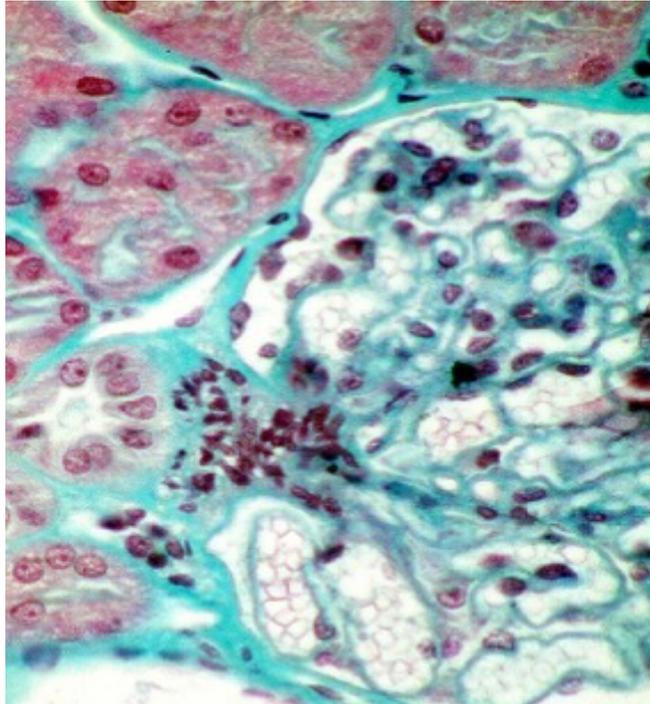


Figure 12 : Coupe histologique transversale de l'appareil juxta-glomérulaire

2.2.8 Voies excrétrices

L'urine produite va ensuite se déverser, via les nombreuses papilles, dans les petits calices, qui eux-mêmes se déverseront dans de grands calices pour ainsi se réunir dans le bassin. L'urine est ensuite acheminée dans la vessie grâce à l'uretère au niveau du hile rénal.

L'urothélium est un épithélium pluristratifié, possédant des cellules basales cubiques reposant sur un chorion fibroélastique relativement épais, des cellules intermédiaires polyédriques et des cellules superficielles de grandes tailles (parapluies).

Elles sont recouvertes d'une cuticule qui protège l'épithélium de l'urine.

2.2.9 La vascularisation rénale

La vascularisation rénale est caractérisée de « centropériphérique »(1).

En effet, l'afflux sanguin arrive à travers l'artère rénale par le hile. Elle donne naissance à des artères interlobaires qui parcourent les colonnes de Bertin jusqu'à la base des pyramides de Malpighi, puis se divisent en artères arquées qui ont une direction parallèle à la base des pyramides.

Les artères arquées vont se scinder en plusieurs artères interlobulaires qui traversent verticalement la corticale entre les pyramides de Ferrein.

Des branches latérales vont naître des artères interlobulaires. Elles sont appelées artérioles afférentes et vont être le point de départ d'un réseau de capillaire glomérulaire. Ce dernier permettra la filtration rénale et donnera par la suite l'artériole efférente. Ce réseau capillaire fait partie d'un système artério-artériel que l'on surnomme « d'admirable ».

Passée l'artériole efférente, la suite de l'organisation de la vascularisation découlera de la localisation des glomérules.

Les artérioles efférentes issues des glomérules superficiels se draineront dans des veinules corticales superficielles, puis elles-mêmes dans les veines étoilées qui créeront le réseau veineux sous capsulaire (drainé par les veines interlobulaires)

Les artérioles des glomérules moyens se jettent dans les veinules corticales profondes. Ces dernières sont drainées par les veines interlobulaires.

Les corpuscules juxtaglomérulaires des néphrons longs ont des artérioles efférentes qui vont s'enfoncer dans la médullaire pour former des vaisseaux droits ou vasa recta le long des anses de Henlé, permettant ainsi l'échange d'ions et la modification du contenu urinaire.

En retour, les veines droites sont drainées par les veines interlobulaires.

Les glomérules ont un retour veineux assuré, plus ou moins tardivement dans la topographie, par les veines interlobulaires.

Par la suite, l'architecture du retour veineux est organisée parallèlement à celle du réseau artériel. Les veines interlobulaires (recevant le sang veineux des veines étoilées et des veines corticales profondes) sont drainées par les veines arquées (recevant aussi les veines droites de la médullaire profonde).

Les veines arquées confluent ensuite pour donner les veines interlobaires, qui donneront naissance à la veine rénale.

Un deuxième réseau de capillaires est constitué entre l'artériole efférente et les veinules. Naissant soit de l'artériole efférente ou du vasa recta, un réseau capillaire péri-tubulaire permet d'irriguer les tubes en sang. Il s'agit d'un système dit « porte-artériel » (Figure 13)(2).

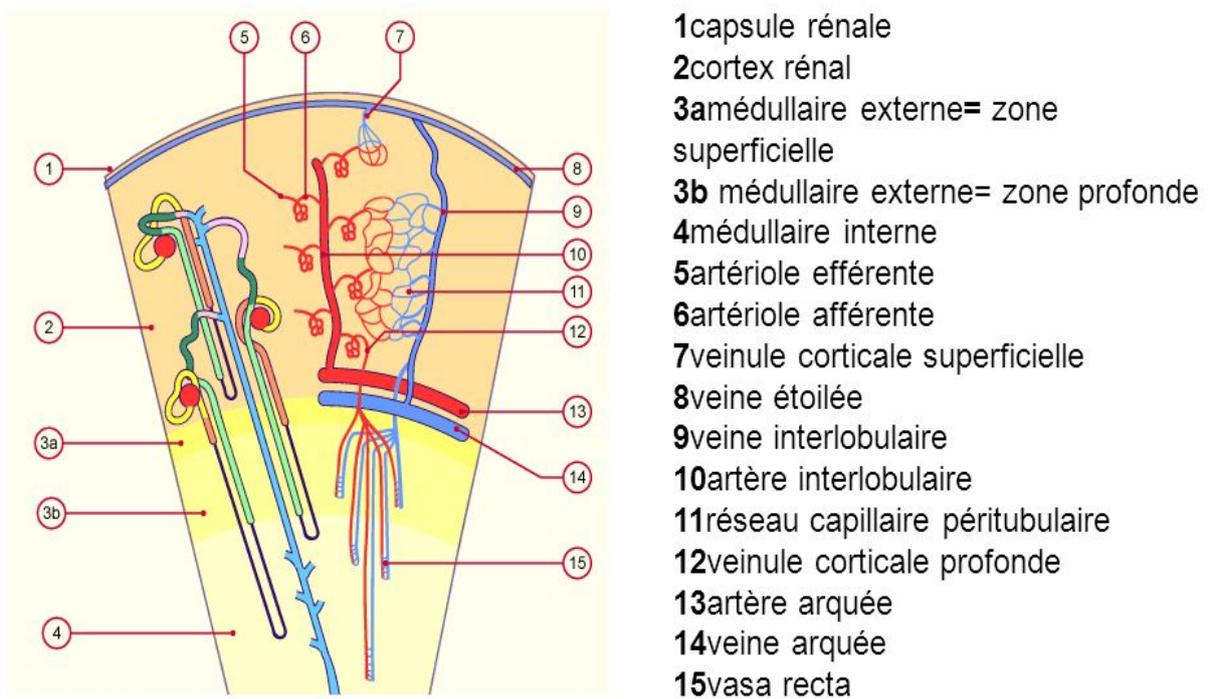


Figure 13 : Schéma de la vascularisation rénale

3) Embryologie rénale

3.1 Introduction générale

Le travail de cette thèse va s'intéresser à l'embryogénèse rénale.

Le développement de l'appareil rénal et urinaire provient de deux origines distinctes : mésoblastique (reins, uretères, trigone vésical) et entoblastique (vessie, urètre)(8)(9).

La formation des différentes structures anatomiques se réalise par l'intermédiaire de multiples processus, longs et complexes, qui peuvent être à l'origine de plusieurs malformations réno-urinaires. Ils se déroulent tout au long de la grossesse, mais aussi de la naissance jusqu'à l'enfance.

Lors de la gestation, la néphrogénèse est marquée par la succession de trois phases de développement aboutissant à trois ébauches rénales : le pronéphros, le mésonéphros et le métanéphros. La dernière constituant la structure rénale définitive.

La création du feuillet mésoblastique, situé de part et d'autre de la ligne médiane, entre les feuillets ecto et endoblastique, se déroule au cours de la 3^{ème} semaine de vie embryonnaire. C'est au sein même du feuillet mésoblastique que le mésoblaste intermédiaire (appelé aussi cordon néphrogène) se développe (Figure 14)(10). Il apparaît entre le mésoblaste para-axial (donnant les somites) et la lame latérale (à l'origine des mésothéliums).

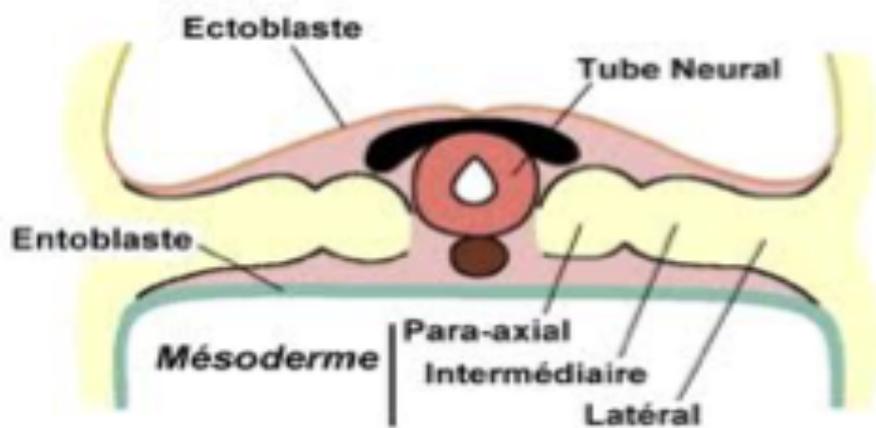


Figure 14 : Schéma de l'embryogénèse illustrant la position du mésoblaste intermédiaire

3.2 Les différentes structures

Sur toute la longueur embryonnaire du mésoblaste intermédiaire, les trois parties que sont le pronéphros, le mésonéphros et le métanéphros se différencient (*Figure 15*)(11).

3.2.1 Le pronéphros

Le pronéphros apparaît à la 3^{ième} semaine de vie embryonnaire. Il s'agit d'une structure non fonctionnelle composée de multiples tubules (disparaissant vers la 4^{ième} semaine de vie) et d'un canal pronéphrotique.

Lors de sa migration vers le cloaque (4^{ième} semaine), le canal pronéphrotique (ou canal longitudinal) devient alors le canal de Wolff (ou canal mésonéphrotique), entraînant au passage l'apparition des premiers mésonéphrons chez l'embryon de 25 jours.

Il s'en suit la formation successive, dans le sens cranio-caudal, de 34 paires de néphrons, répartis longitudinalement au canal de Wolff.

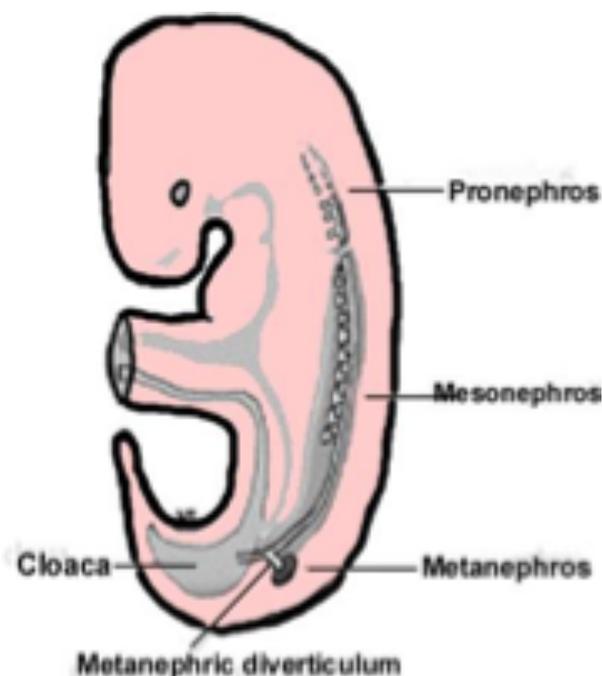


Figure 15 : Schéma représentant une coupe sagittale d'un fœtus, montrant la répartition des trois structures dérivant du mésoblaste intermédiaire (pronéphros, mésonéphros et métanéphros)

3.2.2 Le mésonéphros

Un mésonéphros est constitué d'une partie tubulaire (sans anse de Henlé) connectée au canal de Wolff, ainsi que d'une partie glomérulaire.

L'ensemble étant fonctionnel.

Ce rein éphémère, représenté par le mésonéphros, involue puis disparaît complètement lors du 4^{ième} mois. Seules les parties tubulaires du mésonéphros vont persister pour constituer avec le canal de Wolff, le tractus génital masculin.

3.2.3 Le métanéphros

Lors de la 5^{ième} semaine de vie, le métanéphros va permettre la formation du rein définitif.

Il est composé de trois structures que sont le blastème métanéphrogène (correspondant à la partie sacrée du cordon néphrogène), le bourgeon urétéral (diverticule épithélial dérivant de la partie caudale du canal de Wolf au niveau de la première vertèbre sacrée S1), et le réseau capillaire glomérulaire.

La genèse du rein définitif débute grâce à des mécanismes de dialogue entre le blastème métanéphrogène et le bourgeon urétéral faisant intervenir plusieurs gènes.

3.2.4 Gènes intervenant dans le développement rénal

Les gènes impliqués dans le déterminisme et pour l'induction du blastème métanéphrogène sont appelés gènes homéotiques. Ils sont représentés par le gène Hox et Lim1. A noter que la famille de gène Wnt et le gène BMP7 joue aussi un rôle dans l'induction du blastème métanéphrogène(12).

Enfin, pour la différenciation et la prolifération de l'épithélium rénal, les principaux gènes impliqués sont WT1, PAX2, ainsi que des facteurs de croissance et d'apoptose (*Figure 16*)(13).

En ce qui concerne l'induction du bourgeon urétéral, les gènes responsables sont WT1, c-RET et son ligand GDNF, c-met et son ligand et BMP4 (TGF β)(12).

Cependant, une des voies d'activation les plus importantes est la voie RET/GDNF. GDNF et son récepteur tyrosine kinase RET sont nécessaires pour la croissance normale et la morphogenèse du bourgeon urétéral pendant le développement du rein.

GDNF est l'inducteur le plus important de la croissance du bourgeon urétéral en activant le récepteur RET qui active lui-même toute une série de voies de signalisation intracellulaire, en particulier la voie PI3K/AKT/mTOR.

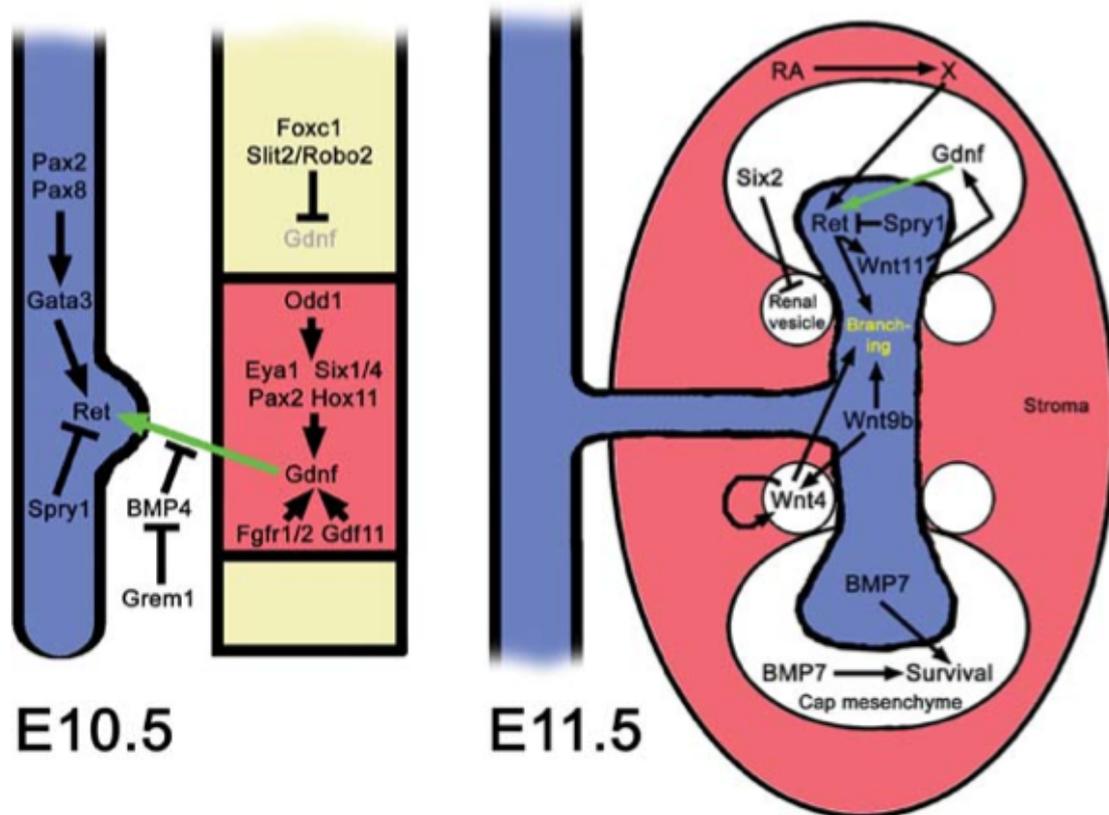


Figure 16 : Schéma résumant les gènes impliqués dans le développement rénal

Les pathologies retrouvées au cours du développement rénal et urinaire, causées par des anomalies génétiques ou environnementales, expliquent la nécessité d'une bonne coordination de l'expression dans le temps et dans l'espace d'un grand nombre de gènes.

3.3 Schéma général du développement rénal (morphologie)

Le bourgeon urétéral (évagination de la partie caudale du canal de Wolff) migre vers le blastème métanéphrogène et à son contact, grandit puis se divise de manière homogène jusqu'à la 15^{ème} semaine.

Ces ramifications prennent l'aspect d'une forme en T (T-Shape).

Ainsi, les 3 à 5 premières subdivisions constituent le bassinot et les grands calices, tandis que les 3 à 5 suivantes forment les petits calices et les tubes collecteurs de Bellini.

Les extrémités des différentes branches du bourgeon urétéral en division prennent un aspect dilaté nommées ampoules urétrales. Par voie de conséquence, on conclut que le système collecteur rénal provient du bourgeon urétéral (*Figure 17*)(14).

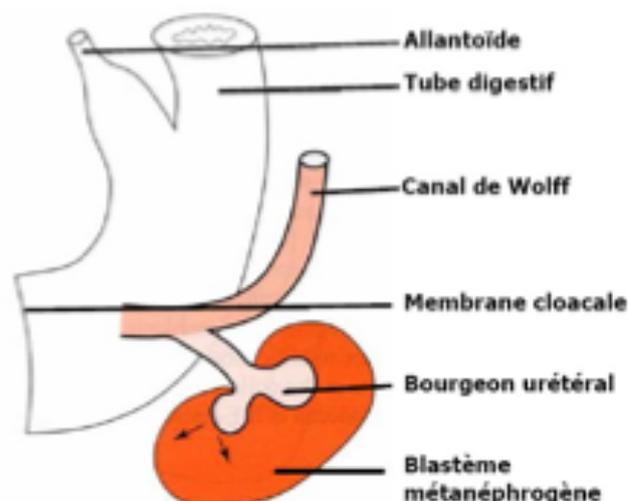


Figure 17 : Schéma représentant le développement du bourgeon urétéral

Lors de la 8^{ème} semaine de vie embryonnaire, les cellules du blastème métanéphrogène (*Figure 18 couleur marron*) entrent en contact avec les cellules des extrémités du bourgeon urétéral (*Figure 18 couleur grise*), autrement appelées ampoules urétérales(15). Ces dernières induisent une condensation du blastème métanéphrogène.

Il prend par la suite la forme d'une vésicule, excavée en son centre.

L'ensemble reposant sur la lame basale. Notons que ces vésicules formeront le néphron entier.

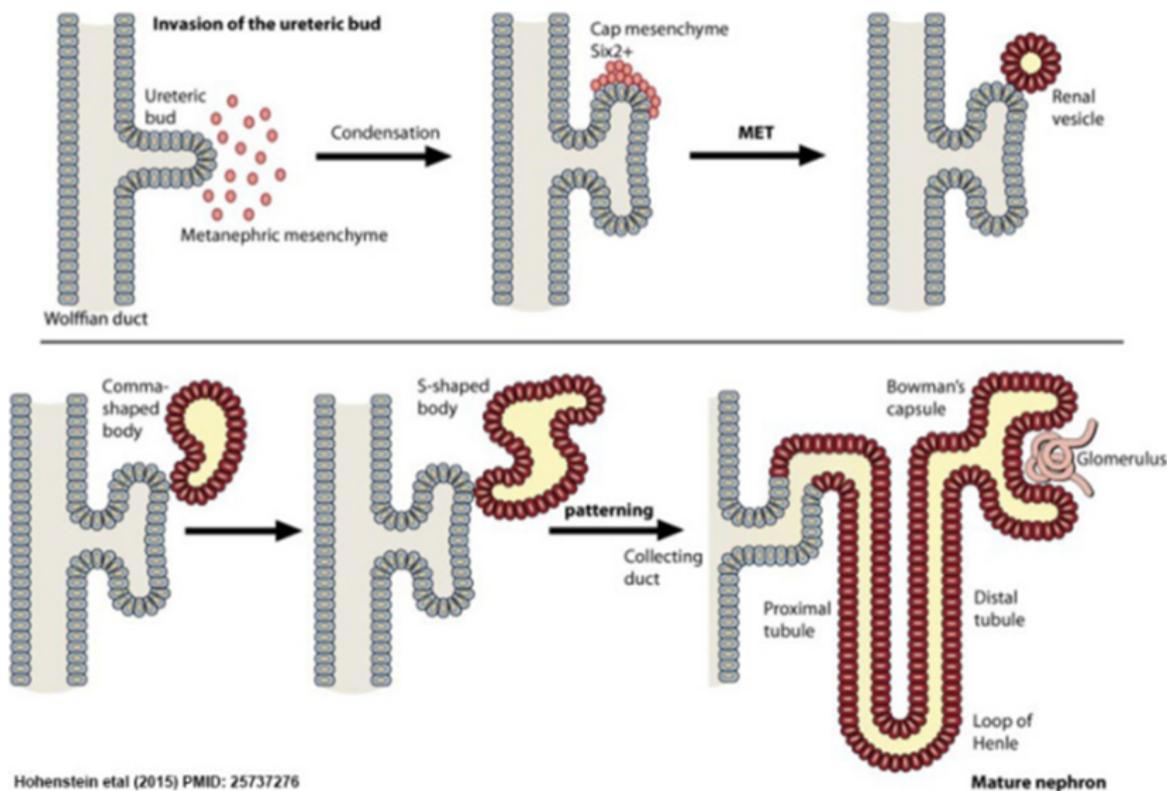


Figure 18 : Schéma représentant l'induction réciproque entre le bourgeon urétéral et le blastème métanéphrogène à l'origine du néphron

Puis, les vésicules fusionnent avec les ampoules urétérales (extrémités de la forme en T) qui évoluent avec un aspect en forme de S (S-Shape).

Il s'agit donc d'une induction réciproque de différenciation entre les cellules du blastème métanéphrogène et les cellules du bourgeon urétéral.

Ce corps en S est composé de trois segments. Un segment supérieur qui forme le tube distale (qui se reliera avec l'ensemble du système collecteur), la Macula Densa et l'anse de Henlé.

Le segment moyen constitue le tube proximal.

Enfin, le segment inférieur est à l'origine des structures épithéliales du glomérule (aspect à double paroi à l'origine des épithéliums viscéral et pariétal de la capsule de Bowman).

La partie inférieure de la forme en S possède une large fente. Elle est le point d'entrée de fins capillaires qui constitueront par la suite le réseau capillaire glomérulaire. Puis, les capillaires donnent par la suite plusieurs ramifications autour desquelles les cellules épithéliales vont s'organiser. L'ensemble constitue le pôle vasculaire du glomérule.

Dans le même temps, les cellules tubulaires du segment supérieur se différencient pour donner naissance à la formation de l'anse de Henlé. L'allongement des tubes continuera jusqu'à la puberté.

Aussi, lors de l'apparition de la forme en S, les cellules tubulaires du segment supérieur qui donnent naissance à la Macula Densa sont déjà présentes et au contact du pôle vasculaire du futur glomérule. Tout au long de la néphrogénèse, l'évolution de l'appareil juxta-glomérulaire se fera en étroite collaboration avec le glomérule.

3.4 Fonction du rein au cours de la grossesse

Tout au long de la grossesse, des néphrons se forment suivant ce processus et ce jusqu'à la 34^{ème} semaine embryonnaire, période où la glomérulogénèse cesse et le blastème disparaît. Les néphrons les plus anciens s'organisent dans la zone profonde de la corticale rénale contrairement aux néphrons les plus jeunes situés dans la zone superficielle du cortex (*Figure 19*). Au total, 600 000 à 1 200 000 néphrons seront présents dans chaque rein.

La production d'urine débute à partir de la naissance des premiers néphrons, à la 10^{ème} semaine, pour progressivement augmenter et être le constituant principal du liquide amniotique entre la 18^{ème} et 20^{ème} semaine de vie embryonnaire, indispensable à la vie intra utérine.

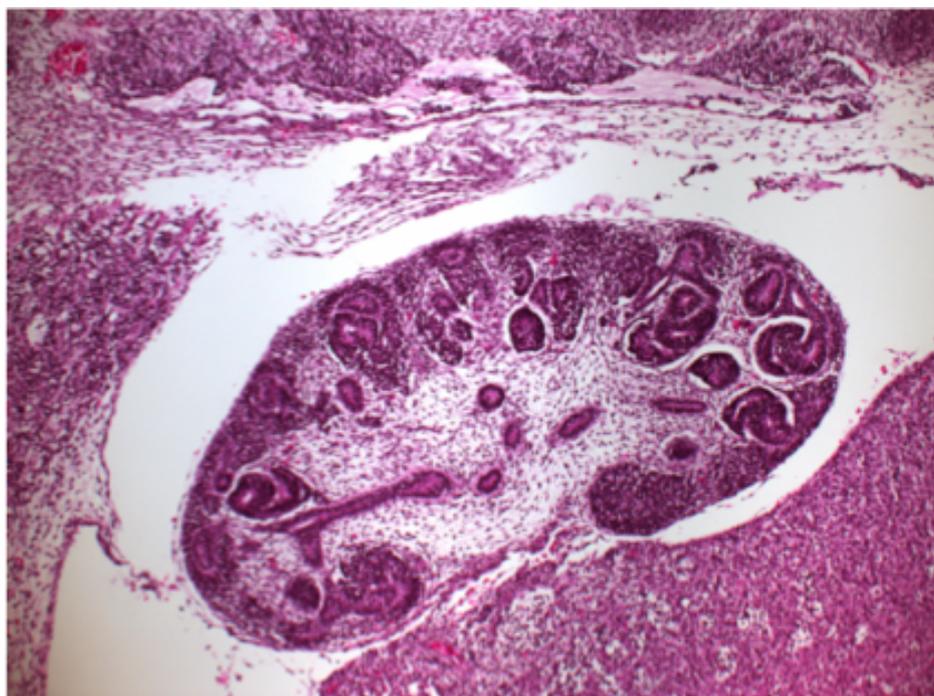


Figure 19 : Coupe histologique longitudinale du métanéphros en voie de développement à 8 semaines d'aménorrhée

4) Pathologies rénales dans le développement foetal

Les anomalies dans le développement rénal sont des pathologies graves et fréquentes au cours de la vie embryonnaire et foetale. Leur gravité entraîne souvent une incompatibilité avec la vie extra-utérine.

Les échographies réalisées lors du suivi de grossesse peuvent révéler des pathologies rénales par la présence d'un oligoamnios, conséquence directe d'une mauvaise filtration glomérulaire. La diminution du liquide amniotique entraîne une hypoplasie pulmonaire et la présence de symptômes de compressions fœtales définissant la séquence de Potter (pied bot, dislocation des hanches, nez aplatis).

Les anomalies sont généralement diagnostiquées au cours des échographies anténatales et aboutissent souvent à une interruption médicale de grossesse.

Les anomalies du développement rénal sont donc une thématique fréquente de prise en charge fœtopathologique.

Les anomalies congénitales du rein et du tractus urinaire (CAKUT) sont réparties en plusieurs catégories :

- *Les anomalies de nombre, taille, structure et position* : agénésie rénale, hypoplasie rénale, hypoplasie rénale avec dysplasie rénale, hypoplasie oligoméganéphronique, hyperplasie rénale, rein/pyélon surnuméraire, rein ectopique, rein en fer à cheval, malformations réno-urinaires dans les associations de syndrome.

- *Les uropathies malformatives obstructives* : syndrome de la jonction pyélo-urétérale, les méga uretères obstructifs, duplication pyélo-urétérale (+/- urétérocèle), les valves de l'urètre postérieur et le reflux vésico-urétérale.

- *Les anomalies kystiques* :
 - Les dysplasies kystiques rénales (rein multikystique, dysplasie kystique avec anomalies du tractus urinaire, dysplasie segmentaire, dysplasie kystique diffuse (+- syndromique)).
 - Les polykystoses rénales : polykystose rénale autosomique récessive, polykystose autosomique dominante.
 - Les reins plurikystiques associés à un syndrome polymalformatif : syndrome de Meckel Gruber, syndrome de Bardet-Biedl, Phacomatoses (Scléreuse tubéreuse de Bourneville, Von Hippel Lindau), Trisomie 13, Trisomie 18, Trisomie 21.
 - Les kystes simples

- *Les néphropathies héréditaires* : syndrome congénitale néphrotique, syndrome de Bartter, Dysgénésie tubulo-rénales.

- *Les pathologies acquises rénales* : médicamenteuses, infectieuses, toxiques.

Nous allons principalement porter notre attention sur l'étude de deux anomalies kystiques du développement rénal : la dysplasie multikystique rénale et la polykystose autosomique récessive rénale.

4.1 La dysplasie multikystique du rein (DMK)

La dysplasie multikystique rénale est une anomalie fréquente, évaluée à 1/4 300 naissances vivantes, qui survient chez l'embryon au stade du développement du rein adulte(16).

Du fait de sa dénomination et de son histoire naturelle, la DMK est souvent confondue à tort avec d'autres affections, et notamment avec les polykystoses rénales qui sont des néphropathies dont le *primum movens* est génétique et les conséquences physiopathologiques très différentes.

La DMK est non héréditaire et peut être assimilée à une uropathie malformative consécutive à une atrésie urétérale.

L'involution habituelle de la DMK amène un autre élément de confusion. En l'absence d'examen échographique antérieur, il est complexe de faire la différence entre une agénésie rénale et une DMK involutive devant une fosse lombaire vide.

La dysplasie multikystique rénale (DMK)(4)(12)(17) est une anomalie de différenciation du parenchyme rénal (au niveau des structures néphroniques et du système collecteur) aboutissant :

- à la production de tubes primitifs indifférenciés (différenciation anormale des tubes collecteurs) surmontés par du mésenchyme primitif.
- à la formation de tissus hétérotopique, représenté par du cartilage qui résulte d'une différenciation aberrante du blastème métanéphrogène.
- à la formation de kystes de tailles variables développés au dépend des glomérules ou des tubes.

Or, la présence de ces kystes ne constitue pas un élément obligatoire pour affirmer le diagnostic.

Sur le plan macroscopique, la dysplasie rénale aboutit classiquement à des reins de grande taille, augmentés de volume (*Figure 20*).

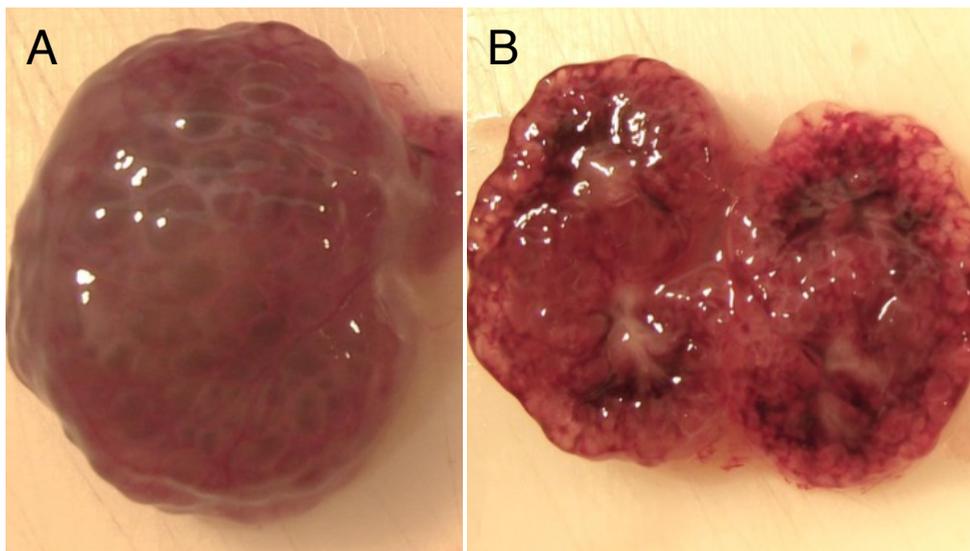


Figure 20 : Vue macroscopique d'une dysplasie multikystique rénale (A) et d'une coupe longitudinale d'un rein dysplasique (B)

La DMK est le plus souvent unilatérale.

Elle se caractérise par un rein augmenté de taille, par de multiples kystes disposés en grappe de raisins (*Figure 20, 21*), dont leur taille varie de quelques millimètres à plusieurs centimètres.

Ils ne sont pas orientés et sont disposés de manière aléatoire (différent de la polykystose autosomique récessive, disposés de façon radiaire).

Certaines formes unilatérales sont parfois compatibles avec la vie *ex vivo*.

Plus rarement, il est retrouvé des formes bilatérales de dysplasie multikystique.

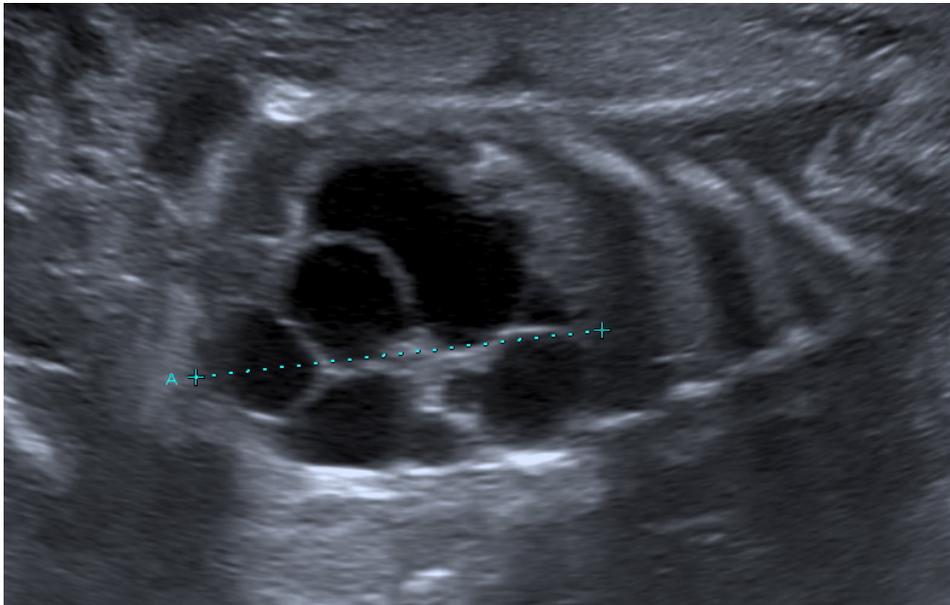


Figure 21 : Echographie d'une dysplasie multikystique rénale à 22 SA

Une forme involuée existe et est caractérisée par une hypoplasie rénale.

Un des diagnostics différentiels de la forme involuée est le syndrome de rein-colobome, caractérisé par une dysplasie du disque optique connu sous le nom de colobome du nerf optique et une hypoplasie rénale. Des mutations du gène PAX2

ont été retrouvées chez 50% des patients ayant des anomalies rénales et oculaires(18).

L'autre diagnostic différentiel est le syndrome de Kallmann De Morsier, maladie génétique caractérisée par un hypogonadisme hypogonadotrophique et une anosmie ou hyposmie. Il s'y associe fréquemment une hypoplasie rénale unilatérale le plus souvent, ainsi que d'autres anomalies extra-rénales(19).

La dysplasie est, dans la très grande majorité des cas, la conséquence de l'obstruction des voies urinaires basses (atrésie urétrale, valves de l'urètre postérieur) ou s'intègre dans le cadre d'un syndrome polymalformatif (et/ou révélant une pathologie héréditaire).

Elle est associée, dans environ 30% des cas, à une uropathie controlatérale.

La dysplasie rénale peut parfois être d'étiologie inconnue, isolée.

Au niveau histologique, les tubes primitifs sont de formes arrondies, fréquemment retrouvés dans la médullaire, dont la lumière est ouverte et revêtue d'un épithélium simple cylindrique (*Figure 22*).

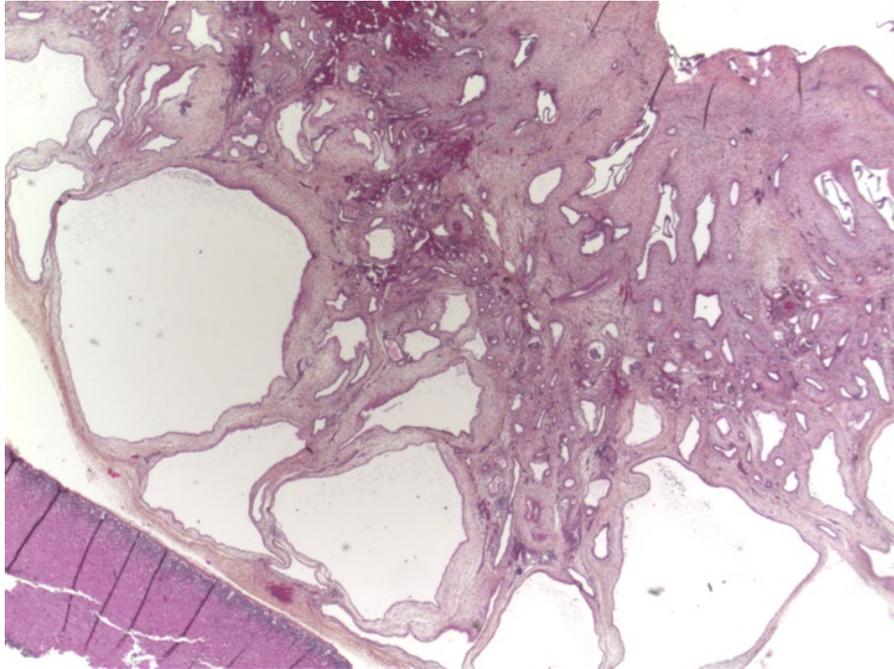


Figure 22 : Coupe histologique longitudinale d'une dysplasie multikystique

Les tubes sont entourés par du mésenchyme dense concentrique, composé de cellules myofibroblastiques. La métaplasie cartilagineuse est souvent retrouvée sous la capsule rénale.

D'autres tissus hétérologues peuvent aussi être retrouvés comme du tissu adipeux ou du tissu musculaire lisse. Il s'y associe la présence de multiples kystes développés au dépend des glomérules et des tubes. Une zone d'hématopoïèse peut être focalement retrouvée.

L'importance du développement des voies urinaires dans l'induction de la dysplasie reflète la fréquente association sur le plan macroscopique et microscopique des anomalies de l'uretère et de la vessie chez les patients atteints d'une dysplasie rénale.

Il existe des anomalies génétiques et non génétiques dans le développement du bourgeon urétéral. Des anomalies intrinsèques comme des anomalies d'élongation ou de canalisation du bourgeon urétéral, ou des anomalies extrinsèques affectant secondairement le développement des voies excrétrices, peuvent se produire.

Une anomalie du bourgeon urétéral, des uretères ou du tractus urinaire distal cause la plupart des cas de dysplasie multikystique et de dysplasie obstructive.

Dans de nombreux cas, le phénotype des anomalies congénitales des reins est influencé par la combinaison de facteurs génétiques et de facteurs environnementaux.

4.2 La polykystose autosomique récessive rénale

Cette pathologie(12)(17) appartient au grand cadre des pathologies rénales kystiques héréditaires. C'est une maladie génétique rare, dont l'incidence est estimée à 1/20 000 (contrairement à la polykystose autosomique dominante dont l'incidence est estimée de 1/500 à 1/1000).

Elle est caractérisée par une dilatation des tubes collecteurs, associée de manière variable à la présence de kystes hépatiques(20) et de fibrose portale.

Sur le plan clinique, la plupart des foetus sont morts nés ou décèdent en période périnatale, secondairement à l'hypoplasie pulmonaire et à la compression thoracique par des reins de grandes tailles.

Lorsque les lésions rénales sont moins étendues, plus de la moitié des enfants surmontant la période néo-natale sont à risque de développer une insuffisance rénale chronique avant l'âge de 20 ans.

De plus, une hypertension portale avec fibrose hépatique et des maladies respiratoires chroniques peuvent être associées.

Les images d'échographie fœtale révèlent des reins hyperplasiques bilatéraux, hyperéchogènes, associés parfois à la présence de kystes médullaires (Figure 23).

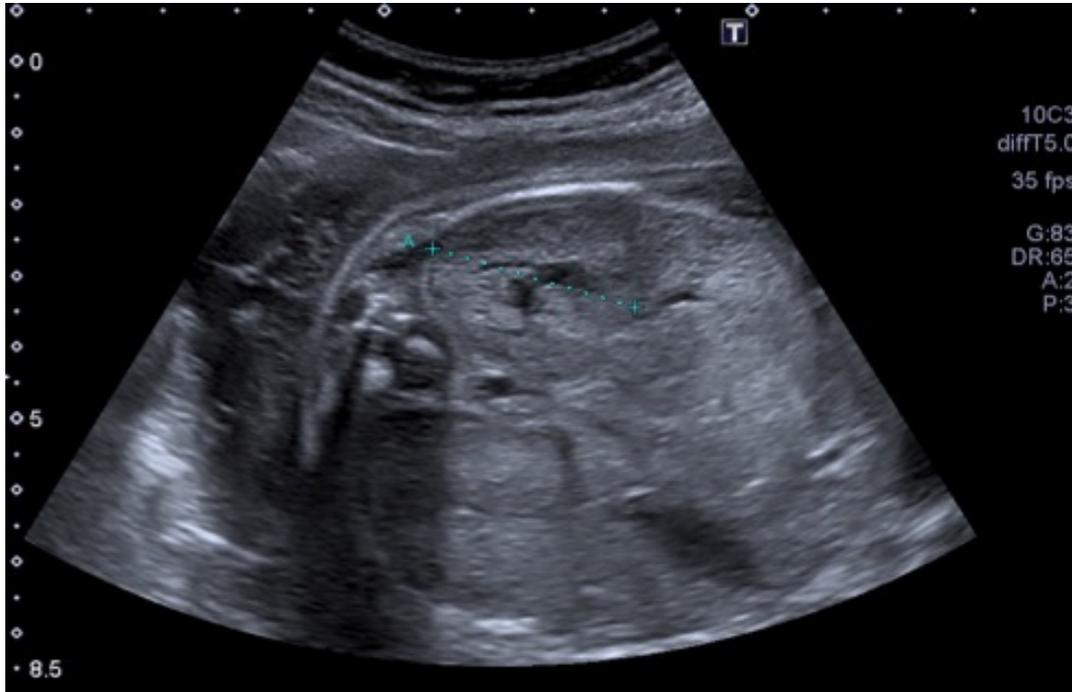


Figure 23 : Image échographique de polykystose récessive représentée par un rein augmenté de taille, de volume et hyperéchogène

Sur le plan macroscopique, les reins sont augmentés de volume (jusqu'à dix fois la normale) (Figure 24). Ils possèdent une forme régulière mais à la lobulation marquée. La surface rénale est le siège d'une multitude de microkystes visibles sous capsulaire.

Dans les formes sévères, la limite cortico-médullaire est effacée à la coupe par des kystes allongés, fusiformes, perpendiculaires à la capsule et s'organisant en architecture radiée, dite en « rayon de miel ». Les voies excrétrices sont normales.

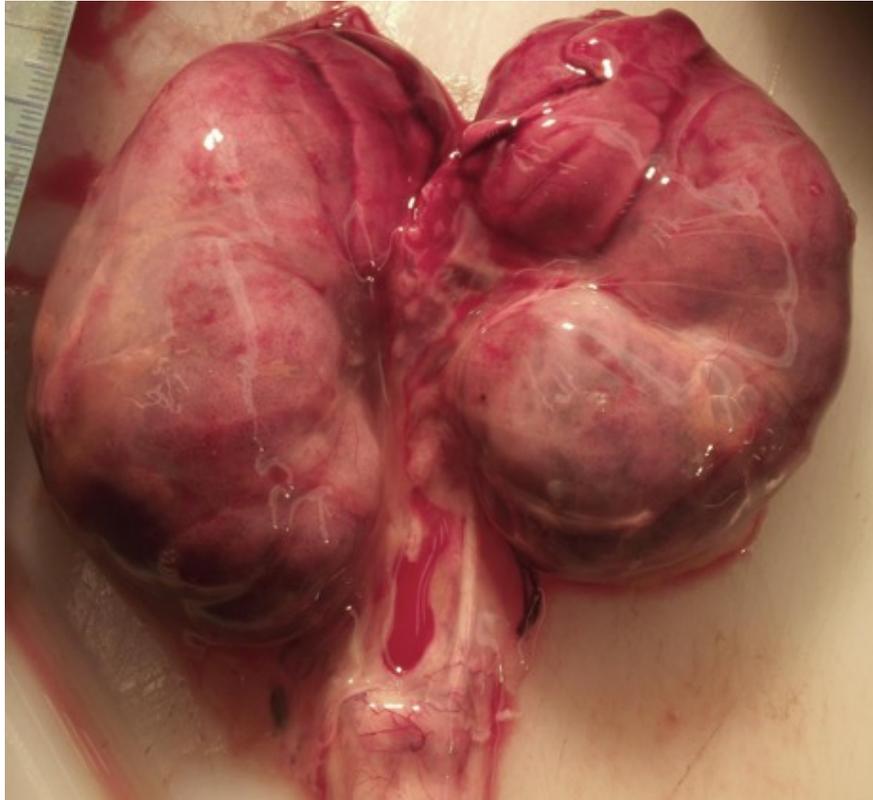


Figure 24 : Image macroscopique de reins de polykystose récessive

Au niveau histologique, la caractéristique de cette pathologie est la présence de multiples kystes allongés au niveau cortical dont l'axe est perpendiculaire à la capsule rénale (*Figure 25*).

Les kystes se développent aux dépens des tubes collecteurs. Cependant, pour les fœtus de bas âge, certains peuvent se développer aux dépens de la branche ascendante de l'anse de Henlé et des tubes proximaux.

Les kystes médullaires (contrairement aux kystes corticaux) sont ronds, ovales. L'épithélium de revêtement des kystes est simple, cubique. Les glomérules sont épargnés et ne sont pas le siège de lésions kystiques. Le blastème métanéphrogène et les néphrons sont indemnes de toute lésion kystique. Par ailleurs, il n'existe pas de lésion dysplasique. Par endroit, il peut exister une fibrose interstitielle minimale.

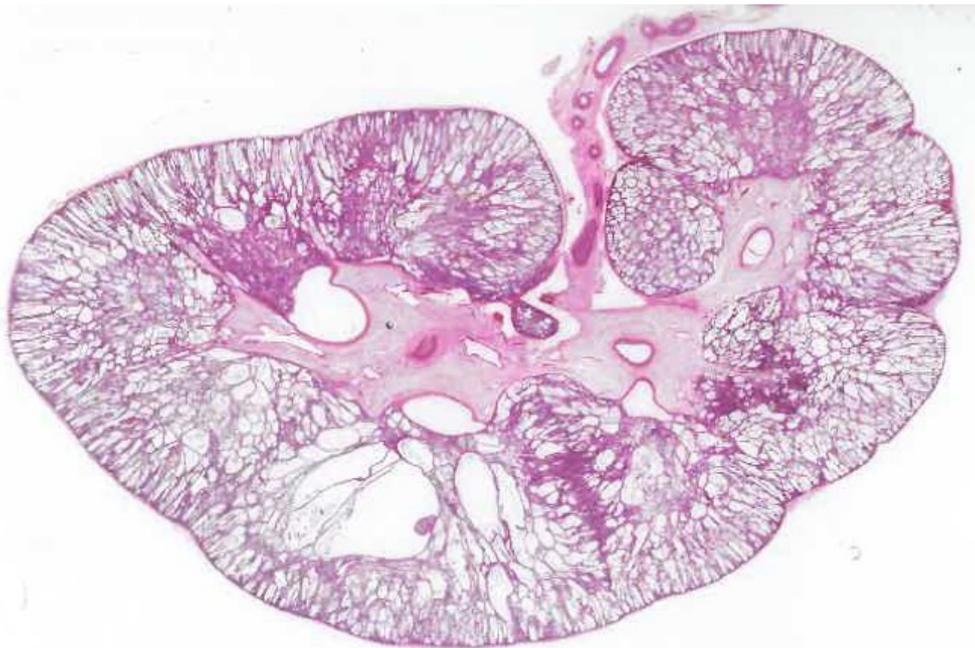


Figure 25 : Coupe histologique longitudinale d'un rein de polykystose récessive

Sur le plan hépatique, une fibrose hépatique congénitale est retrouvée de manière constante et précoce. Il s'y associe une prolifération des canaux biliaires, dilatés, ainsi qu'une fibrose des espaces portes. Dans certains cas, les canaux pancréatiques sont dilatés.

Enfin, le gène muté identifié de la polykystose rénale autosomique récessive est le gène PKHD1 situé sur le chromosome 6.

Il comporte 86 exons et code pour la protéine fibrocystine/polyductine, exprimée au niveau des cils primaires, des corps basaux des cellules épithéliales rénales et des canaux biliaires. Cette dernière est impliquée dans la régulation de la prolifération et de l'adhésion cellulaire.

Ce gène est exprimé chez l'adulte et chez le fœtus au niveau du rein, du foie et du pancréas. Ainsi, la mutation de ce gène aboutit à une anomalie du développement rénal des tubes collecteurs, des canaux biliaires et hépatiques, entraînant la formation d'une polykystose rénale et d'une dysgénésie des canaux biliaires.

Un diagnostic prénatal précoce est possible dans les familles à risque à condition que le diagnostic de polykystose rénale ait été précédemment établi. Ceci se fait par l'analyse conjointe de l'ADN familial et fœtal.

4.3 Autres pathologies étudiées

Ce travail de thèse nous a permis aussi d'aborder d'autres anomalies kystiques rénales, plus rares. Dans notre étude, nous étudierons un cas atteint du syndrome de Bardet-Biedl 6 (BBS6) ainsi qu'un cas atteint de délétion 17q12 du gène HNF1 β .

4.3.1 Le syndrome de Bardet-Biedl

Le syndrome Bardet-Biedl(21) est un syndrome rare, de transmission autosomique récessive (1/120000) et plus fréquemment rencontré lors d'une consanguinité.

L'expression de ce syndrome est très variable et est caractérisée par l'association de plusieurs anomalies. Ces dernières sont représentées par des anomalies kystiques rénales, un retard mental, une polydactylie, une obésité, une dystrophie rétinienne et un hypogonadisme.

Les anomalies rénales et la polydactylie sont souvent détectées par échographie lors de la grossesse, permettant le diagnostic de ce syndrome.

Sur le plan macroscopique et histologique, les kystes sont développés aux dépens de la médullaire et épargne, la plupart du temps, le cortex superficiel. La taille des kystes augmente du cortex vers la médullaire. Les tubes collecteurs sont, quant à eux, normaux.

La génétique de ce syndrome est très hétérogène. En effet, 16 gènes BBS ont pu être identifiés à ce jour. Pour la majorité d'entre eux, ils sont exprimés dans le centrosome des cellules ciliées rénales.

Le BBS6 est dû à une mutation du gène MKKS sur le chromosome 20p12(22). Il existe une hétérogénéité de l'expression phénotypique de la mutation chez les personnes atteintes du BBS6.

4.3.2 La délétion 17q12 du gène HNF1 β

Cette pathologie(23) est une anomalie génétique *de novo* la plupart du temps, avec une fréquence estimée à 1/20000.

Les signes cliniques fréquemment rapportés sont des anomalies rénales et des voies urinaires (environ 90% des cas), diabète, retard de développement mental, de langage, autisme, et anomalies du tractus génital.

Il existe une expressivité variable du phénotype liée à la délétion 17q12 et par conséquent un degré d'intensité de l'atteinte variable entre les individus.

Le premier signe révélateur au niveau de l'échographie sont des reins hyperéchogènes, associés à une atrophie pancréatique.

Sur le plan macroscopique et histologique, il existe une hypoplasie rénale associée à des kystes glomérulaires de taille variable.

Le reste des structures rénales est épargné.

Le gène HNF1 β a un rôle capital dans le développement rénal, hépatique et pancréatique chez le fœtus.

5) Voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR:

La voie PI3K/AKT/mTOR est une voie de signalisation primordiale dans l'homéostasie cellulaire.

Elle intervient dans les mécanismes fondamentaux comme la prolifération, le cycle cellulaire, l'apoptose et l'angiogénèse, indispensable au bon fonctionnement de l'organisme(24).

A travers ce chapitre, nous allons explorer cette voie de signalisation et son implication dans le développement tumoral et non tumoral.

5.1 Cascade de signalisation

5.1.1 La PI3K

La PI3K est le plus souvent activée par le biais d'un récepteur tyrosine kinase membranaire, lui-même stimulé par un facteur de croissance membranaire et provoquant à son tour l'activation d'une cascade de phosphorylation de nombreuses protéines intracellulaires (*Figure 26*).

Parmi ces récepteurs membranaires, citons RET qui est activé par le GDNF et dont le rôle est primordial dans la glomérulogénèse.

La PI3K possède une sous unité régulatrice la p85 et, une sous unité catalytique, la p110. Lors de l'activation des récepteurs situés sur la membrane cellulaire, le domaine SH2 de la sous unité p85 identifie les groupements tyrosine phosphate des récepteurs et va par la suite former un complexe permettant l'activation de la sous unité catalytique p110 de la PI3K.

Par la suite, la PI3K aura pour objectif de phosphoryler certains lipides membranaires. Ces derniers, une fois phosphorylés, vont être la cible de deux protéines, AKT et PDK1, qui seront activées lors de leur rencontre avec les lipides membranaires phosphorylés et activeront ainsi en cascade leurs voies de signalisations cellulaires.

La protéine PTEN va jouer le rôle d'inhibiteur sur l'activation de la phosphorylation des lipides membranaires en hydrolysant les groupements phosphorylés.

5.1.2 AKT

5.1.2.1 Signalisation AKT/mTOR

AKT(25), appelé aussi protéine kinase B ou PKB, est une kinase appartenant à la famille sérine/thréonine qui intervient particulièrement dans les mécanismes de prolifération et de survie cellulaire.

Ces derniers sont mis en place grâce à l'activation de mTOR par l'intermédiaire de l'inhibition par Phospho-AKT des complexes TSC1 (tuberous sclerosis complex 1 ou hamartine) et TSC2 (tuberous sclerosis complex ou tubérine) et de l'inhibition de la protéine BAD (bcl-associated death) aux fonctions pro-apoptotiques.

En effet, le complexe TSC (TSC1 et TSC2) possède une fonction GTPase (GTP Activating Protein) qui transforme le complexe actif RHEB-GTP en complexe inactif RHEB-GDP (RAS Homolog Enrichied in Brain) en le phosphorylant. Or, RHEB-GTP permet d'activer la voie mTOR.

La protéine activée Phospho-AKT va inhiber le complexe TSC en le phosphorylant, entraînant la perte de sa fonction GTPase, empêchant ainsi la transformation du complexe actif RHEB-GTP en complexe inactif RHEB-GDP et va ainsi participer à l'activation de la voie mTOR.

Deux phénomènes d'inhibition sont donc à l'origine de l'activation de la voie de mTOR.

5.1.2.2 Activation en Phospho-AKT

Comme vu précédemment, l'activation par phosphorylation de la protéine AKT s'effectue grâce à la phosphorylation de lipides membranaires, activés eux-mêmes par la mise en jeu de facteur de croissance (comme l'insuline growth factor 1 aussi appelée IGF1) et par la suite par l'activation de la voie de signalisation de la PI3K.

Les lipides membranaires vont aussi activer la protéine PDK1, qui elle-même active AKT par phosphorylation de sa partie Thréonine 308. Une autre protéine, PDK2, participe à la phosphorylation et l'activation d'AKT au niveau de sa terminaison carbone de sa partie Serine 473.

PDK2 a été identifiée comme une cible thérapeutique intervenant sur la voie mTOR, dans le cadre du complexe mTORC2 impliquant Rictor, insensible à la Rapamycine.

Phospho-AKT agit ainsi indirectement sur différentes fonctions cellulaires en activant la voie mTOR mais aussi intervient dans différentes fonctions cellulaires capitales.

En inhibant par phosphorylation des fonctions pro-apoptotiques de certaines protéines comme BAD (bcl-associated death), c-RAF, Caspase-9 et certains facteurs de transcription, Phospho-AKT participe au maintien de la survie cellulaire.

Phospho-AKT intervient dans la régulation de la synthèse de glycogène par phosphorylation inhibitrice de la GSK3- α et β et dans la stimulation insulinique du transport de glucose.

Elle intervient aussi dans la régulation du cycle cellulaire, via la GSK3- β , en agissant sur la régulation de la cycline D1, molécule intervenant dans le cycle cellulaire.

AKT joue un rôle dans la neuroprotection et dans l'homéostasie cardiovasculaire.

A travers son implication sur les différentes fonctions cellulaires et son impact sur la mTOR, on imagine sans difficulté qu'une hyperactivation d'AKT peut être retrouvée dans certains processus tumoraux.

5.1.2.3 Inhibiteurs d'AKT

AKT joue un rôle central dans la voie de transduction du signal et son hyperactivation est présente dans de nombreuses tumeurs. Ceci a conduit au développement d'inhibiteurs d'AKT. Les mécanismes inhibiteurs sont :

- inhibition compétitive au niveau du site de liaison de l'adénosine triphosphate (ATP)
- analogues de la phosphatidylinositol ;
- inhibiteurs allostériques.

Le MK-2206 a montré une certaine efficacité en phase 1 (25).

5.1.3 mTOR

5.1.3.1 Signalisation de mTOR

mTOR(25) est une protéine kinase intracellulaire appartenant aussi à la famille sérine/thréonine et intervient dans plusieurs mécanismes cellulaires primordiaux.

En effet, mTOR permettra de réguler:

- la prolifération cellulaire par la régulation de la traduction de la cycline D1 qui permet la progression du cycle cellulaire de la phase G1 à la phase S.
- la protéogénèse, la lipidogénèse et le transport de nutriments avec notamment l'expression de surfaces membranaires GLUT-1(26).
- l'angiogénèse avec d'une part la traduction de HIF1/2 (facteur pro-angiogénique) jouant un rôle dans la traduction de facteurs de croissance comme le VEGF(27) (*vascular endothelial growth factor*) et le PDGF (*platelet derived growth factor*) et d'autre part par l'activation de la voie PI3K/AKT/mTOR par liaison du VEGF à son récepteur et participant de ce fait au mécanisme de néoangiogénèse tumorale.
- la survie cellulaire et l'inhibition de fonctions autophagiques (dégradations lysosomales des composants cellulaires).

Afin d'être active, la protéine mTOR va se lier avec d'autres protéines, grâce notamment à des mécanismes de phosphorylation, dans le but de former des complexes multiprotéiques.

Deux complexes ont été identifiés :

- mTORC1, comprenant plusieurs protéines dont mTOR, la protéine Raptor (*Regulatory associated protein of TOR*), mLST8, PRAS40 et Rheb. Il est le complexe le plus connu et est inhibé par la Rapamycine, thérapeutique utilisée notamment en cas de transplantation rénale.

Il est impliqué dans la transcription et l'expression de plusieurs gènes régulant le cycle cellulaire, l'apoptose et la synthèse protéique.

Il permet notamment l'activation capitale de eIF4E liée à une protéine, libérant ainsi le facteur de transcription eIF4E. Il permet aussi l'activation de la kinase S6K1, permettant le passage de la phase G1 à la phase S du cycle cellulaire (via la cycline D1, p27, 4EBP1) et la régulation de l'apoptose (via les protéines BAD et p53). En retour, mTORC1 effectue un rétrocontrôle négatif sur PI3K.

- mTORC2, associé lui à la protéine mTOR, Rictor (*Rapamycin insensitive companion of TOR*), mLST8 et Sin-1.

Ce complexe intervient dans l'organisation du cytosquelette et est insensible à la Rapamycine. Il joue aussi un rôle activateur par rétrocontrôle positif sur la voie AKT en le phosphorylant.

On comprend alors facilement qu'une hyperactivation de la voie mTOR peut être impliquée dans le développement tumoral.

5.1.3.2 Phospho-mTOR

mTOR formera les complexes mTORC1 et mTORC2 par autophosphorylation sur sa partie Serine2481 et par inhibition de la fonction GTPase de RHEB par inhibition des complexes TSC via Phospho-AKT. On parle de Phospho-mTOR lorsqu'il est activé et donc présent sous forme de complexe.

Les signaux extracellulaires activant les récepteurs membranaires et la voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR constituent le principal mécanisme de l'activation de mTOR.

Or, des signaux métaboliques intracellulaires peuvent aussi entraîner l'activation de mTOR comme les acides aminés, l'ATP ou encore l'oxygène.

A titre d'exemple, lorsqu'il existe un déficit énergétique cellulaire caractérisé par un taux d'ATP bas et d'AMP élevé, l'AMPK (*AMP activated protein kinase*) aura pour mission d'activer le complexe TSC2 et d'inhiber RAPTOR par phosphorylation et donc par conséquent de diminuer l'activation de mTOR et les fonctions cellulaires auxquelles il participe(28) .

Un autre exemple comme une diminution de concentration de leucine, un acide aminé capital dans la protéogénèse, entraînera une déphosphorylation de protéines activées par m-TORC1 comme S6K1(25).

L'état nutritionnel et métabolique cellulaire intervient donc dans la régulation de la voie de signalisation mTOR.

5.1.3.3 Inhibiteurs de mTOR

La Rapamycine (ou Sirolimus) est une molécule utilisée couramment pour ses propriétés immunosuppressives, notamment dans le cadre des traitements anti-rejet de greffe.

Dans un second temps, des propriétés antiprolifératives et pro-apoptotiques lui ont été découvertes, entraînant de ce fait le développement de molécules analogues à la Rapamycine (appelées couramment rapanalogues) dans un objectif de thérapeutique antinéoplasique. Ces analogues à la Rapamycine sont le Temsirolimus, l'Everolimus et le Deforolimus (Figure 26)(29).

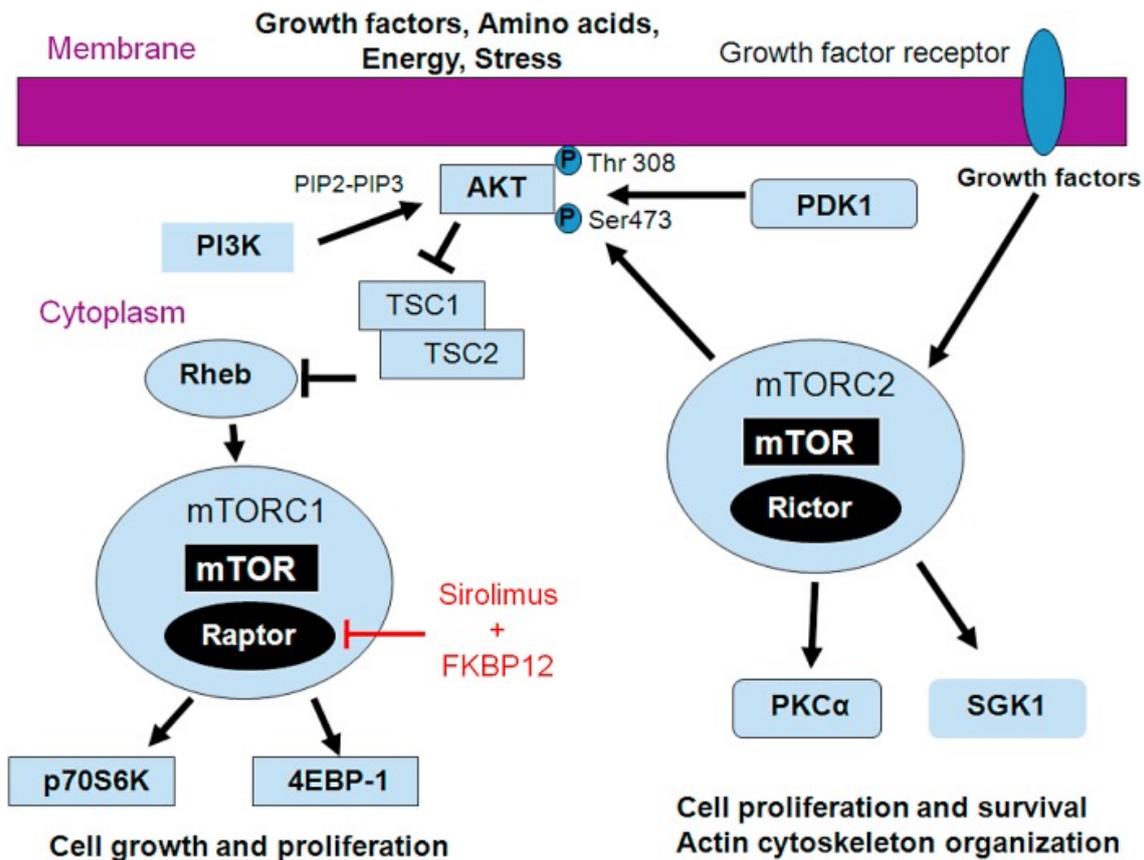


Figure 26 : Voie de signalisation de PI3K/AKT/mTOR et ses inhibiteurs

5.2 PI3K/AKT/mTOR dans l'organogénèse

L'organogénèse est une des étapes de l'embryogenèse qui représente la transformation que subit l'embryon de stade œuf jusqu'à maturité.

Elle se déroule à partir des trois feuillets embryonnaires fondamentaux : l'ectoderme, l'endoderme et le mésoderme. Des mécanismes de prolifération cellulaire et d'induction réciproque s'effectuent.

L'induction embryonnaire est un phénomène d'interaction cellulaire : un tissu va induire un signal qui va être reçu par un autre tissu, provoquant ainsi un changement dans sa différenciation.

Ces signaux d'induction font intervenir des cascades de signalisation moléculaire intra et extra-cellulaire permettant de modifier l'expression des gènes des cellules du tissu récepteur, induisant leur différenciation.

Ces mécanismes s'effectuent de manière réciproque, chaque tissu étant à la fois l'émetteur et le récepteur de la différenciation cellulaire et tissulaire.

Parmi d'autres organes nécessitant cette induction au cours du développement (autre que le rein), citons le poumon(30) et le tube digestif(31).

5.2.1 L'exemple pulmonaire

L'impact de la voie PI3K/AKT/mTOR dans l'organogénèse normale a été étudié dans de rares cas dans la littérature.

Le développement embryonnaire pulmonaire s'apparente à l'organogénèse rénale en effectuant une interaction épithélio-mésenchymateuse caractérisée par l'induction réciproque de l'endoderme pulmonaire avec le mésenchyme sous-jacent.

Une étude(32) s'est intéressée à l'implication de cette voie de signalisation dans le développement pulmonaire embryonnaire chez la souris.

En effet, la croissance embryonnaire permise grâce à l'apport d'énergie et de nutriments maternels est régulée par l'intermédiaire des complexes mTOR embryonnaires.

Ces derniers vont intervenir dans la formation des cellules trophoblastiques du placenta, véritables interfaces d'échanges materno-fœtaux et vont par conséquent participer à l'équilibre entre les apports énergétiques maternels et les dépenses énergétiques embryonnaires nécessaires au développement.

Il a également été montré que la voie mTOR intervient dans la différenciation cellulaire embryonnaire pulmonaire en cellules spécifiques du tissu pulmonaire murin, de même que dans l'organisation architecturale micro et macroscopique du parenchyme pulmonaire avec la morphogénèse des voies aériennes(32).

Durant la gestation, le complexe mTORC1 maternel va dicter les différentes phases d'activation et de division cellulaire embryonnaire par l'activation du complexe mTORC1 fœtal (via la transcription de protéine). Ce dernier définira le comportement futur des cellules embryonnaires immatures et ainsi que leurs différents rôles dans le développement pulmonaire.

Plus précisément, l'activité de mTORC1 fœtal est fondamentale dans la croissance du parenchyme pulmonaire et dans l'organisation des voies aériennes basses. Grâce à ses interactions dans les différentes cascades de signalisation avec la protéine HIF(33)(34)(35)(36), mTORC1 interviendra aussi dans la croissance du réseau vasculaire pulmonaire en lien permanent avec l'organisation des voies aériennes basses, afin d'obtenir des réseaux pulmonaires et vasculaires étroitement liés et indissociables(37).

A l'approche du terme et de la fin de l'organogénèse pulmonaire, le complexe mTORC2 permettra, quant à lui, la mise en place des conditions nécessaires à la résorption du liquide amniotique présent dans les alvéoles pulmonaires et ainsi les échanges pulmonaires gazeux lors des premiers mouvements respiratoires de l'enfant au moment de la naissance(38)(39)(40)(41)(42).

5.2.2 L'exemple du tube digestif

Le développement du tube digestif est un autre exemple de l'implication de la voie PI3K/AKT/mTOR dans l'organogénèse générale.

Une étude a été réalisée avec un modèle porcin en développement présentant une malformation de l'intestin grêle, conséquence (43) d'un retard de croissance intra-utérin. Ce défaut se matérialise par un poids de l'intestin grêle plus faible et une hauteur des villosités plus petites.

Or, l'Arginine, acide aminé essentiel dans la croissance et le métabolisme des jeunes animaux(44), a été retrouvé en faible quantité chez les porcelets souffrant de retard de croissance intra-utérin, au niveau de leurs muqueuses intestinales(45)(46).

Cette étude a comparé, au niveau de la muqueuse intestinale, la concentration d'Arginine, d'insuline, de Phospho-AKT, de Phospho-mTOR, de P70 S6 et l'index apoptotique, chez les porcelets atteints de retard de croissance intra-utérine qui ont été substitués ou non par l'Arginine.

Les porcelets substitués ont ainsi vu le développement de leur intestin grêle amélioré, avec un poids total augmenté, ainsi qu'une hauteur des villosités intestinales plus grande. De plus, la concentration en Arginine, insuline, Phospho-AKT, Phospho-mTOR, P70 S6 était plus importante et l'index apoptotique plus faible(47)(48).

Ainsi, la supplémentation en Arginine chez les porcelets ayant un défaut de développement de l'intestin grêle a permis de combler ce défaut, en améliorant la croissance de la muqueuse intestinale, grâce à l'activation des voies de signalisation AKT et mTOR retrouvées en concentration importante dans la muqueuse intestinale. Ainsi, AKT et mTOR apparaissent aussi fondamentales dans le développement du tube digestif.

5.2.3 Implication dans les malformations : la PKAD

Un fonctionnement inapproprié de la voie PI3K/AKT/mTOR a été mis en lumière dans le développement de certaines malformations rénales comme dans la polykystose rénale autosomique dominante (PKAD).

En effet, la polykystose rénale autosomique dominante est une pathologie liée à une cystogénèse excessive entraînant la formation de multiples kystes rénaux.

Une étude(49) a montré que cette pathologie est la conséquence d'une mutation des gènes PKD1 ou PKD2 entraînant une perte du fonctionnement du complexe TSC faisant partie de la voie de signalisation de PI3K/AKT/mTOR, entraînant alors une hyperactivation des complexes mTOR responsables d'une kystogénèse exacerbée.

En réponse à cette hyperactivation anormale, l'utilisation des inhibiteurs de mTOR dans le traitement de la polykystose rénale autosomique dominante était tout indiquée.

5.3 PI3K/AKT/mTOR dans le développement tumoral

Les recherches menées sur la voie de PI3K/AKT/mTOR ont permis de montrer son implication dans plusieurs fonctions indispensables à la vie cellulaire et en cas de dysrégulation dans les processus néoplasiques.

Une étude(50) a exploré le rôle capital de la voie PI3K/AKT/mTOR dans le développement tumoral. Ainsi, la diminution des fonctions suppressives de tumeurs comme PTEN, la mutation ou l'activation anormale de la PI3K ou d'AKT, l'exposition environnementale à des carcinogènes ou encore la suractivation des récepteurs des facteurs de croissance ont pour conséquence une surexpression de la signalisation de la voie AKT et des complexes mTOR.

Plusieurs des fonctions cellulaires régulées par les complexes mTOR vont alors être déséquilibrées et ainsi mener au développement tumoral.

Actuellement, les inhibiteurs de mTOR, avec en chef de file les analogues à la Rapamycine, sont utilisés en clinique dans le traitement de certaines tumeurs rénales, en complément ou non à d'autres thérapeutiques anti-néoplasiques comme la chimiothérapie ou la radiothérapie.

5.3.1 Analogues de la Rapamycine dans le cancer du rein

Une étude de 2008(51), portant sur 609 patients atteints d'un cancer du rein métastatique non pré-traités, a comparé la survie globale de patients ayant été traités par Temsirolimus seul, face à ceux traités par Interféron α et ceux traités par Temsirolimus et Interféron α .

L'étude a montré une survie globale supérieure dans le groupe de patients ayant bénéficié du traitement par Temsirolimus comparé au groupe traité par Interféron α (10,9 mois vs 7,3 mois) (HR = 0,78 ; IC 95 % [0,63 ; 0,97], p = 0,0252). Le groupe recevant les deux thérapies n'a pas montré de différences significatives avec le groupe recevant l'Interféron α seul.

5.3.2 Le cancer du sein : nouvelles alternatives thérapeutiques

Les analogues de la Rapamycine commencent à être utilisés dans d'autres pathologies cancéreuses du fait de l'implication de la voie PI3K/AKT/mTOR dans leurs processus tumoraux.

En effet, dans le cancer du sein, un lien entre l'activation des voies de signalisation des œstrogènes et l'hyperactivation de la voie PI3K/AKT/mTOR a été exploré dans une étude datant de 2012(52).

Une hyperactivation de cette voie produirait comme vu dans les chapitres précédents une activation et phosphorylation de S6K1, qui entrainerait une phosphorylation du récepteur aux œstrogènes et par la suite une activation constante et indépendante de ce dernier.

C'est pour cela qu'une étude(53) randomisée de phase III a souhaité comparer la survie sans progression de patients atteints de cancer du sein avancé, avec des récepteurs hormonaux positifs, n'exprimant pas HER2 et réfractaires aux inhibiteurs de l'aromatase, bénéficiant soit de l'association de traitement par Everolimus et Exemestane (anti-aromatase) versus Exemestane seul.

L'étude a montré une survie sans progression supérieure pour l'association thérapeutique comprenant le rapanalogue 10,4 mois vs 4,1 mois (HR=0,36 ; IC95 % [0,27 ; 0,47] ; p<0,001).

6) Objectif de l'étude

Au cours de l'embryogénèse, le développement rénal normal nécessite l'expression coordonnée de multiples gènes, entraînant l'activation de multiples voies de signalisation intra cellulaire. La voie PI3K/AKT/mTOR est une des cascades de signalisation capitale de l'organogénèse générale car elle intervient dans les fonctions de prolifération, de cycle cellulaire, d'apoptose ou encore d'angiogénèse.

Dans un premier temps, ce travail de thèse s'intéressera à l'expression de Phospho-AKT et de Phospho-mTOR dans le développement rénal normal. L'expression temporelle et topographique sur le parenchyme rénal de ces deux protéines seront étudiées, au cours de la grossesse.

Par la suite, nous analyserons l'expression topographique de Phospho-mTOR et de Phospho-AKT dans une série de cas de dysplasie multikystique rénale et de polykystose rénale autosomique récessive, dans une optique d'utilisation future des analogues de la Rapamycine dans le traitement de ces pathologies.

Enfin, une étude préliminaire portant sur une série atteinte des maladies BBS6 et HNF1 β sera réalisée.

B) MATERIEL ET METHODES

1) Matériel

Notre travail de thèse a permis de réaliser une étude qualitative rétrospective d'une série de cas datant de 2009 à 2017.

Les prélèvements ont été récupérés à travers la base de données du logiciel DIAMIC appartenant au service de Pathologie du CHU de Grenoble et inclus dans l'étude.

Dans ce service, des autopsies fœtales sont réalisées dans le cadre d'interruptions médicales de grossesse (IMG) ou de morts fœtales *in utéro* (MFIU).

Les décisions d'IMG ont été prises suite à un diagnostic prénatal pluridisciplinaire d'anomalies génétiques et/ou malformatives d'une gravité extrême ou incompatibles avec la vie *ex-utéro*. La demande d'IMG est examinée puis acceptée par le CPDPN du CHU de Grenoble (Centre agréé Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal).

Le service de Pathologie du CHU de Grenoble traite les demandes d'autopsies de la ville de Grenoble incluant l'hôpital couple-enfant du CHU, mais aussi les services hospitaliers de l'agglomération (clinique Mutualiste, clinique des Cèdres, clinique Belledonne, centre hospitalier de Voiron et de Romans).

De plus, la coordination inter-hospitalière permet aux villes comme Alberville, Gap, Sisteron, Valence, d'envoyer les autopsies au service de Pathologie au CHU de Grenoble afin qu'elles soient traitées.

La pathologie rénale représente une part non négligeable de la foethopathologie. En effet, en moyenne, on dénombre plus d'une dizaine de cas de pathologies rénales par an.

Pour certaines pathologie rares (PKAR), nous avons sollicité l'aide du service de pathologie de l'hôpital Robert Debré.

1.1 Inclusion

Le travail de notre thèse se base sur des autopsies fœtales suites aux demandes d'IMG.

Le Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble possède une collecte légalement déclarée de tissus recueillis après une autopsie pour les décès périnataux et infantiles.

Un consentement écrit et signé a été obtenu auprès des parents ou tuteurs au moment de la demande d'autorisation d'autopsie à visée diagnostique et d'autorisation d'examens à visée scientifique comportant des prélèvements qui seront conservés dans un but de recherche sur le développement normal et anormal de l'enfant (*Annexe N°1*).

Le protocole de recherche pour cette étude a été approuvé par le conseil d'examen institutionnel du Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble. Les échantillons dédiés à la recherche ont été anonymisés. L'étude a été menée conformément à la Déclaration d'Helsinki de 1964 et à ses modifications ultérieures.

Le principal critère d'exclusion de notre étude est la mort fœtale *in utero* du fait de la lyse tissulaire empêchant leur analyse.

Par la suite, le diagnostic final est confirmé par les études de lames histologiques en coloration HES (hématoxyline, éosine, safran) au microscope par les fœtopathologistes.

1.1.1 Prélèvements rénaux normaux

Nous avons donc retenu comme critères d'inclusion les IMG suite au diagnostic prénatal pour une pathologie extra rénale, incurable, incompatible avec la vie extra-utérine (anomalies cardiaques, anomalies cérébrales, anomalies osseuses) permettant d'analyser des reins de fœtus normaux bien conservés.

Ayant un âge gestationnel se rapprochant de l'âge gestationnel des prélèvements rénaux pathologiques, ces prélèvements nous ont parallèlement servi comme cas contrôles appariés.

Dans le cadre des IMG des pathologies extra-rénales, 17 prélèvements rénaux normaux ont été retenus.

Les cas du premier trimestre sont plus rarement étudiés en fœtopathologie. Ainsi, nous n'avons pu inclure seulement trois cas de 12 SA.

Huit cas correspondant à des fœtus du deuxième trimestre de 13 SA à 24 SA et six cas à des fœtus du troisième trimestre de 26 SA à 35 SA ont été utilisés (*Annexe N°2*).

1.1.2 Prélèvements rénaux pathologiques

Parmi les cas d'IMG de pathologie rénale kystique, nous avons sélectionné de manière rétrospective treize cas de Dysplasie multikystique, cinq cas de PKAR (dont trois cas provenant du service d'anatomopathologie de l'hôpital Robert Debré à Paris).

Ici, nous allons analyser l'expression de la voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR à travers ces deux grandes pathologies rénales kystiques fœtales, dont l'âge gestationnel importe peu face au diagnostic.

Lors de nos recherches de reins pathologiques, nous avons retenu deux autres cas. Un cas de délétion 17q12 et un cas de ciliopathie rénale (*Annexe N°3*). Il s'agit de résultats préliminaires qui devront faire l'objet d'études ultérieures avec un nombre de cas plus importants afin d'obtenir des résultats significatifs.

2) Méthode

2.1 Recueil et analyse des données

Tous les prélèvements rénaux ont été fixés au formol tamponné pendant au minimum 48h et ont été inclus par la suite dans des blocs de paraffine.

L'étude histologique des lames en coloration HES permet de faciliter la lecture des lames immunohistochimiques, et ainsi d'analyser de manière plus précise l'expression topographique de Phospho-AKT et de Phospho-mTOR et ce dans les reins normaux au cours des trois trimestres et dans les reins kystiques pathologiques.

Des photos de chaque prélèvement utilisant Phospho-AKT et Phospho-mTOR ont été prises dans un souci d'éclairer nos résultats.

Par conséquent, l'exploration histologique et immunohistochimique des prélèvements sera prépondérante dans la partie résultat de notre étude.

2.2 Technique Immunohistochimique

2.2.1 Phospho-AKT

Le premier anticorps utilisé est l'anticorps anti-Phospho-AKT (*Annexe N°4*).

Dans la littérature, il a été retrouvé que Phospho-AKT est exprimé de manière peu fréquente dans certains cancers broncho-pulmonaires non à petites cellules(54).

C'est pour cela que nous avons utilisé un bloc de tumeurs microarrays, contenant du parenchyme pulmonaire sain et tumoral afin de mettre au point au mieux cet anticorps. Différentes gammes de dilution ($1/50^{\text{ème}}$; $1/100^{\text{ème}}$; $1/200^{\text{ème}}$), des démasquages différents (CC1 60min et CC1 90min) avec ou sans amplifieur, ont été réalisés pour le mettre au point.

Une coupe est alors réalisée sur le bloc de paraffine afin d'analyser l'expression de la protéine Phospho-AKT.

Les prélèvements ont été obtenus grâce à des coupes de $3\mu\text{m}$ par microtome, ensuite étalées sur des lames prétraitées de type Superfrost Plus.

Les conditions techniques immunohistochimiques retenues pour anti-AKT1 (phospho S473) ont été faites sur automate Benchmark XT Ventana (ROCHE Diagnostics).

Après déparaffinage, le démasquage antigénique se fait dans un tampon CC1 de pH 8,4 pendant 60 minutes (CC1 = Tris-Borate/ EDTA).

L'anticorps anti-AKT1 est une immunoglobuline anti-lapin IgG, monoclonal, diluée au 1/50^{ème} et incubée pendant une heure à 37°C. La concentration initiale du lot utilisé (lot GR-112345-18) est de 275 µg/ml et la concentration finale utilisée au 1/50^{ème} est égale à 5,5 µg/ml.

Le kit de détection pour l'anticorps est l'*UltraView DAB detection Kit*. Une contre coloration des noyaux a été utilisée pendant 12 minutes par l'Hématoxylin.

Pour chaque technique d'immunohistochimie, une série de cas est réalisée à l'aide d'un témoin positif (tumeur pulmonaire) et d'un témoin négatif où l'anticorps primaire est remplacé par un anticorps non immun.

2.2.2 Phospho-mTOR

Le deuxième anticorps utilisé dans notre étude est l'anticorps anti-Phospho-mTOR (*Annexe N°5*).

Cet anticorps a déjà été utilisé dans un protocole de recherche local sur les tumeurs pulmonaires malignes(55). Nous avons donc réutilisé les mêmes conditions de mise au point sans nécessité de modification.

Le microtome a permis d'obtenir des coupes de 3µm qui ont été ensuite étalées sur des lames prétraitées de type Superfrost Plus.

Les conditions techniques immunohistochimiques pour l'anticorps anti-Phospho-mTOR ont été faites sur automate Benchmark XT Ventana (ROCHE Diagnostics). Après déparaffinage, le démasquage antigénique se fait dans un tampon CC1 de pH 8,4 pendant 60 minutes (CC1 = Tris-Borate/ EDTA).

L'anticorps Phospho-mTOR est une immunoglobuline anti-lapin IgG, monoclonal, diluée au 1/100^{ème} et incubée pendant une heure à 37°C. Il permet la détection des complexes mTOR lorsqu'ils sont phosphorylés sur leurs groupements serine. Le kit de détection pour l'anticorps est l'*UltraView DAB detection Kit*. Une contre coloration des noyaux a été utilisée pendant 12 minutes par l'Hématoxylin.

Pour chaque technique d'immunohistochimie, une série de cas est réalisée à l'aide d'un témoin positif (tumeur pulmonaire) et d'un témoin négatif où l'anticorps primaire est remplacé par un anticorps non immun.

C) RESULTATS

1) Morphologie rénale au cours du développement normal

A partir de la coloration HES, nous avons étudié la morphologie générale des reins normaux.

1.1 Description de la population contrôle

17 prélèvements rénaux normaux (*Annexe N°2*) ont été retenus dont 12 cas comportant des anomalies du système nerveux, 2 cas atteints d'un hygroma kystique, 2 cas atteints de pathologies cardiaques et un cas souffrant de pathologie osseuse.

Parmi eux, on dénombre 9 fœtus de sexe masculin, 5 de fœtus de sexe féminin et 3 de fœtus de sexe indéterminé.

1.2 Coloration HES (Hématoxyline, Eosine, Safran)

1.2.1 Fin du premier trimestre et début du deuxième trimestre

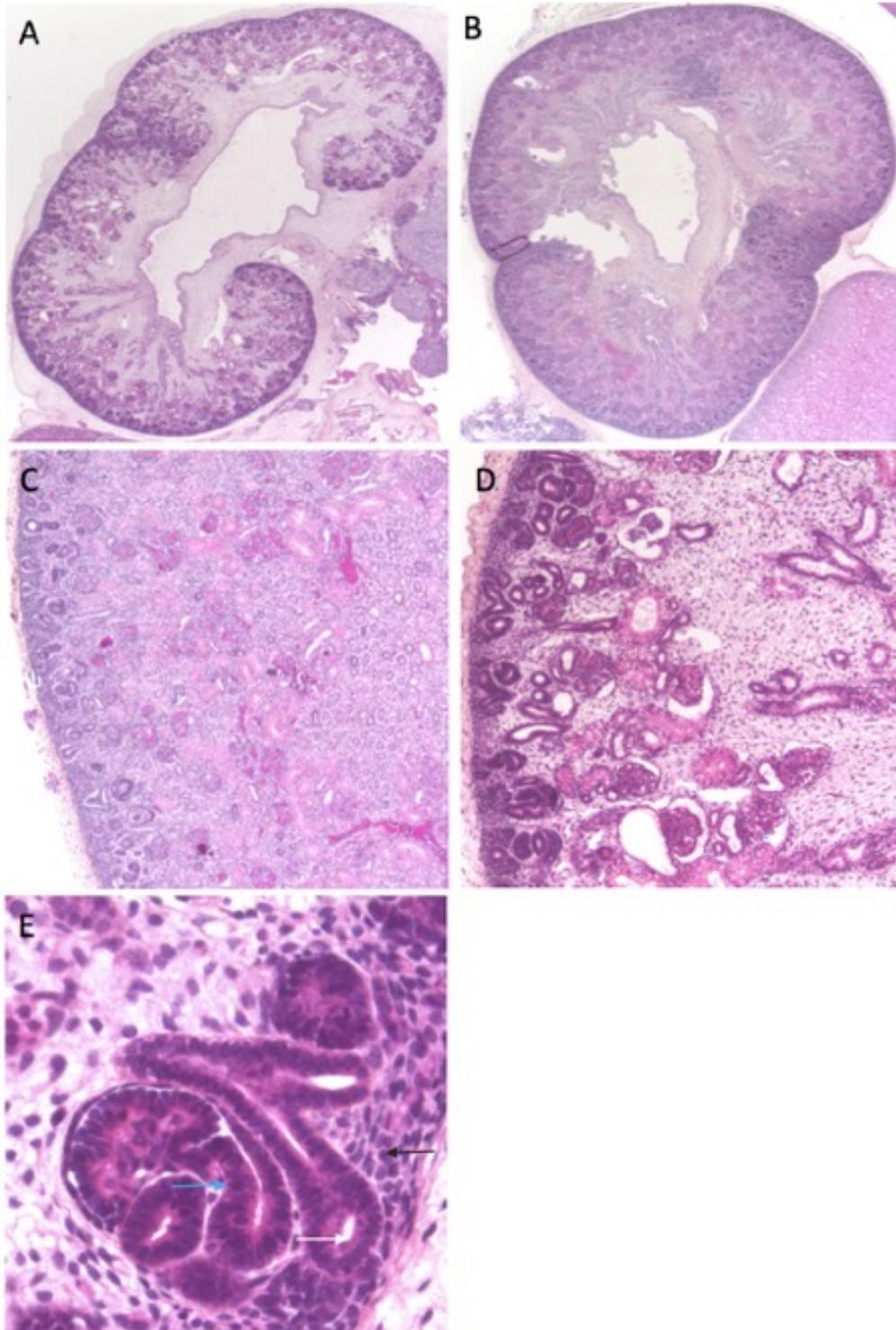


Figure 1 : Développement rénal normal de la fin du premier trimestre au début du deuxième trimestre analysé en HES (Hématoxyline, Eosine, Safran)

A : coupe de rein foetal normal de 12 SA (x16). **B** : coupe de rein foetal normal de 14 SA (x16). **C** : jonction cortico médullaire d'un rein de 16 SA (x50). **D** : zone corticale de glomérulogenèse d'un rein de 12 SA (x100). **E** : T-shaped (flèche blanche), S-shaped (flèche bleue) et blastème métanéphrogène (flèche noire) (x400).

Sur nos coupes histologiques sagittales médianes (Figure 1A) et transverses (Figure 1B) on observe la mise en place du rein définitif avec une bonne différenciation cortico-médullaire (Figure 1C) avec un cortex mince et une médullaire lâche (pyramide de Malpighi).

On visualise une néphrogénèse (Figure 1D) active au niveau du cortex rénal sous capsulaire avec l'induction réciproque du bourgeon urétéral en forme de T (Figure 1 E) et du blastème métanéphrogène (Figure 1 E).

1.2.2 Fin du deuxième trimestre et début du troisième trimestre

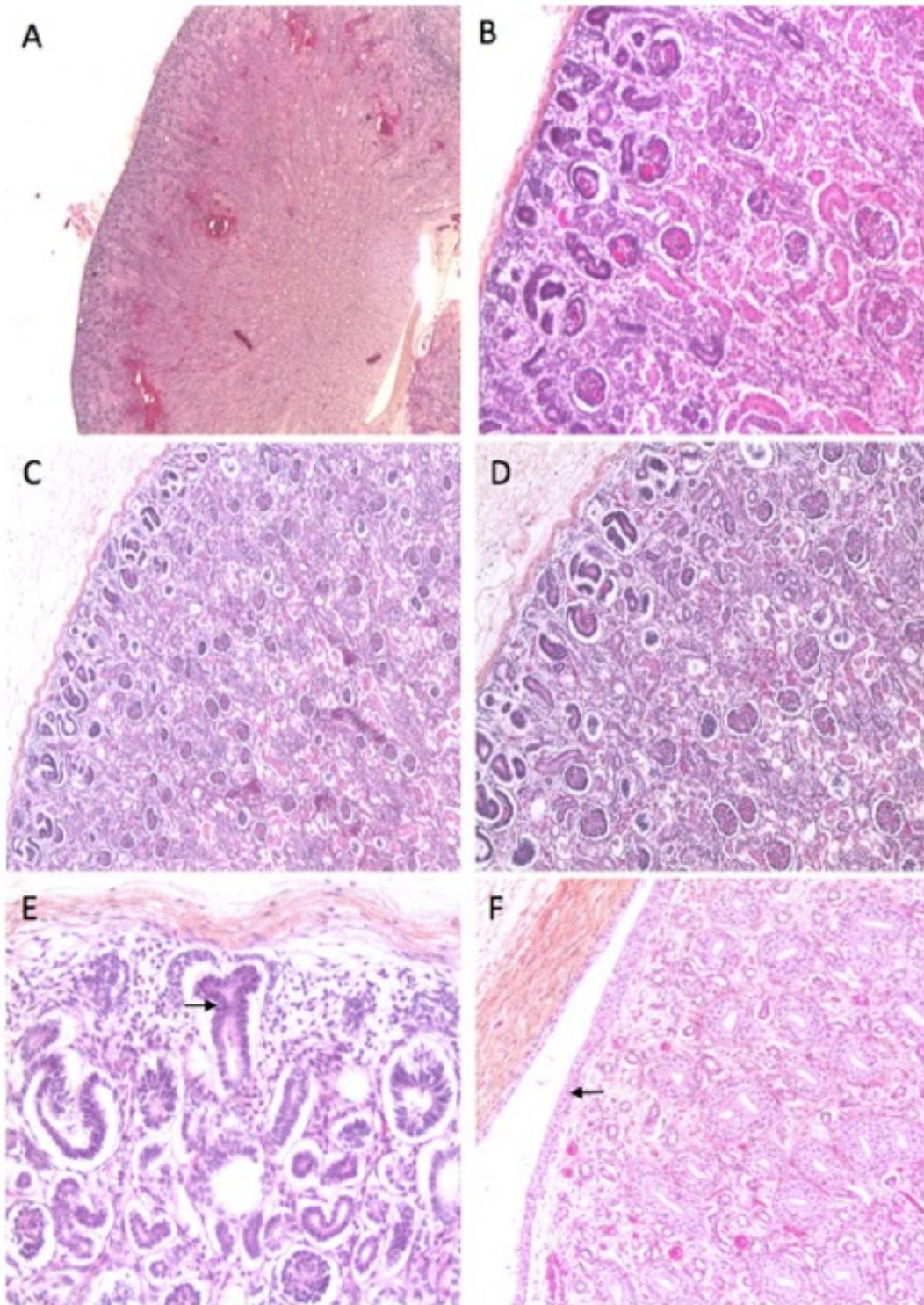


Figure 2 : Développement rénal normal de la fin du deuxième trimestre et début du troisième trimestre analysé en HES (Hématoxyline, Eosine, Safran)

A : coupe de rein fœtal normal de 24 SA (x16). **B** : coupe du cortex rénal fœtal de 24 SA (x100). **C** : coupe histologique du cortex rénal fœtal à 26 SA (x50). **D** : coupe histologique rénale normale du cortex et du début de la médullaire à 26 SA (x100). **E** : T-shaped (flèche noire) et S-shaped (x200). **F** : tubes collecteurs et urothélium (flèche noire) dans le rein d'un fœtus de 24 SA (x100).

Sur nos coupes histologiques (Figure 2A, 2B, 2C, 2D), on visualise le cortex épaissi, siège de la néphrogénèse active produisant des glomérules.

Ces derniers se disposent en colonnes, les plus anciens s'enfoncent dans la médullaire *a contrario* des plus jeunes sous capsulaires.

Lors de la fin du deuxième trimestre et du début du troisième trimestre de grossesse, le bourgeon urétéral continue d'induire de manière réciproque le blastème métanéphrogène (Figure 2E).

On constate que la médullaire devient de plus en plus dense et que l'urothélium (Figure 2F) continue sa différenciation cellulaire avec des cellules prenant une forme cuboïdo-cylindrique.

1.2.3 Troisième trimestre

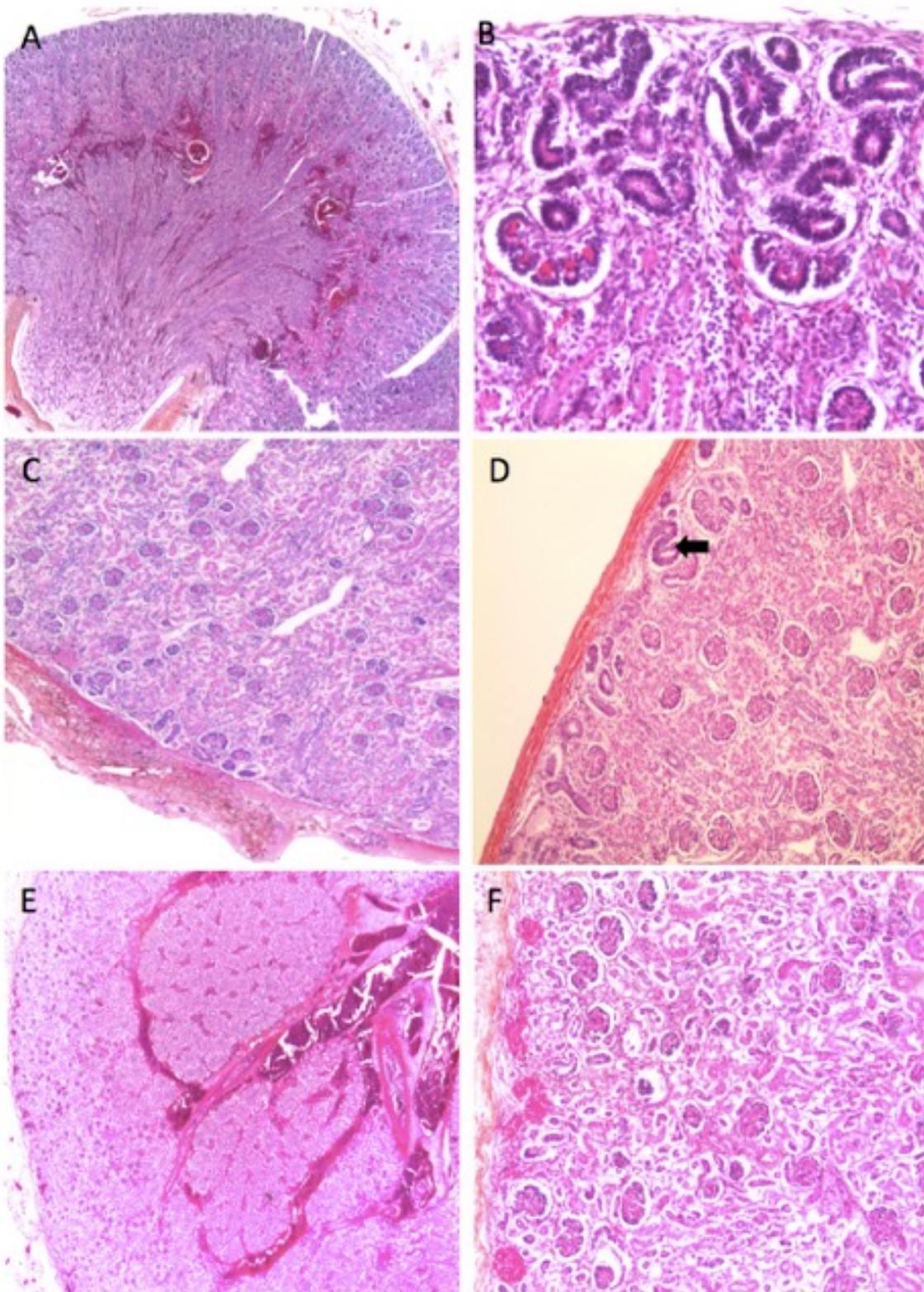


Figure 3 : Développement rénal normal de 30 à 35 SA analysé en HES (Hématoxyline, Eosine, Safran)

A : coupe histologique rénale normale visualisant le cortex et la médullaire à 30 SA (x16). **B** : coupe histologique rénale normale visualisant la glomérulogénèse sous corticale à 30 SA (x200). **C** : coupe du cortex rénal fœtal de 33SA (x50). **D** : coupe du cortex rénal fœtal de 33SA avec glomérulogénèse (flèche noire) (x200). **E** : coupe du cortex et de la médullaire rénal fœtal de 35SA (x16). **F** : coupe du cortex et de la médullaire rénal fœtal de 35SA (x100).

Sur nos coupes, on distingue une frontière cortico-médullaire plus marquée (Figure 3A).

La glomérulogénèse se poursuit avec la présence du blastème qui se contracte en vésicule (Figure 3B). A partir de la 33^{ème} semaine d'aménorrhée, on observe une quasi disparition du blastème métanéphrogène (Figure 3C) et une belle différenciation des cellules des tubes contournés proximaux et distaux.

Cependant, la glomérulogénèse est toujours présente (Figure 3D). Au niveau des coupes de la 35^{ème} semaine d'aménorrhée, on constate que l'interstitium de la médullaire est plus abondant près des papilles rénales (Figure 3E).

Enfin, on visualise l'absence de glomérulogénèse par la disparition totale du blastème métanéphrogène (Figure 3F).

1.3 Expression de Phospho-AKT au cours du développement rénal

1.3.1 Fin du premier trimestre et début du deuxième trimestre

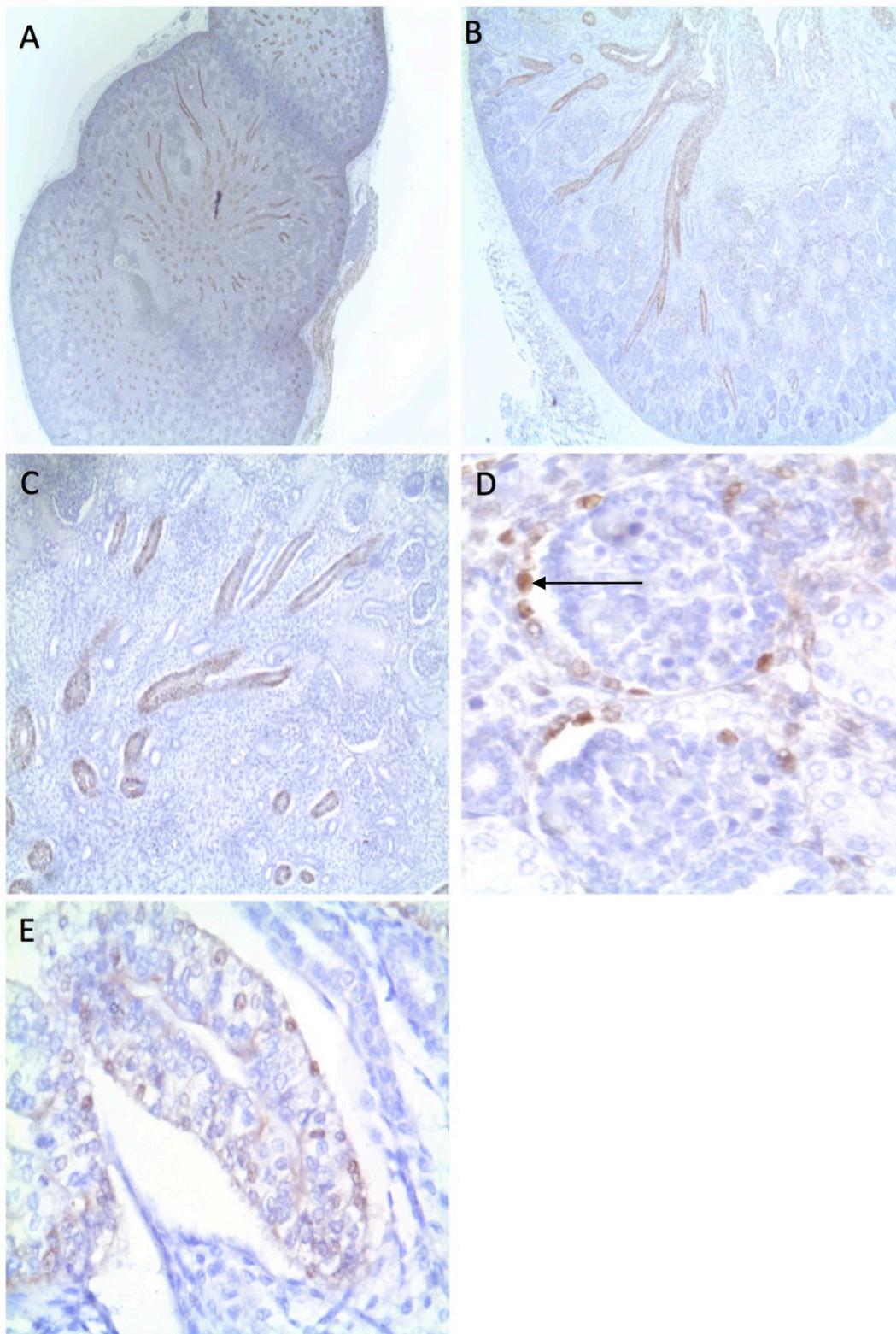


Figure 4 : Expression de Phospho-AKT dans le rein fœtal de la fin du premier trimestre et du début du deuxième trimestre analysée en immunohistochimie.

A : coupe du cortex et de la médullaire de rein fœtal normal de 16 SA (x16). **B** : coupe de cortex de médullaire et de l'urothélium d'un rein fœtal normal de 14 SA (x50). **C** : cortex rénal et médullaire d'un fœtus de 15SA (x100). **D** : glomérule d'un rein normal de 16 SA (marquage nucléaire : flèche noire) (x400). **E** : urothélium d'un rein normal d'un fœtus de 15 SA (x400).

Sur nos coupes histologiques de la fin du premier trimestre et du début du deuxième trimestre de grossesse, on met en évidence un marquage nucléaire (Figure 4D) plus important que le marquage cytoplasmique de Phospho-AKT au niveau de plusieurs structures rénales :

- toutes les cellules du bourgeon urétéral (d'où dérivent les tubes collecteurs), sur toute sa longueur (Figure 4B, 4C) ;
- les ampoules urétérales (Figure 4B) ;
- le pôle urinaire du glomérule au niveau de la capsule de Bowman (Figure 4D) ;
- un marquage discret des cellules sur toute la hauteur de l'urothélium primitif (Figure 4E).

On ne retrouve pas de marquage de Phospho-AKT que ce soit au niveau du blastème métanéphrogène, au niveau de l'interstitium rénal, au niveau du reste des structures glomérulaires ou encore au niveau des tubes proximaux, anse de Henlé et tubes distaux.

1.3.2 Fin du deuxième trimestre et début du troisième trimestre

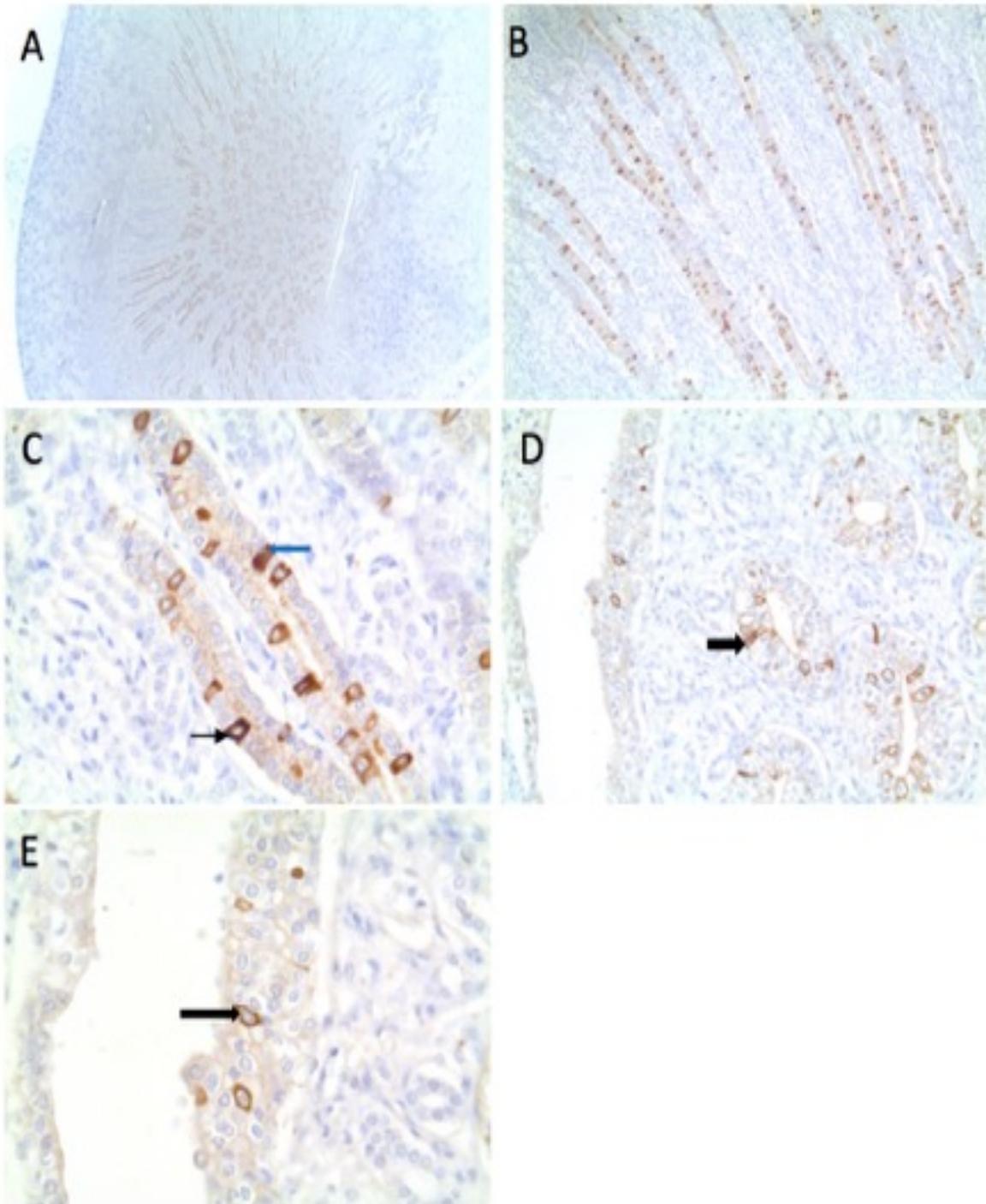


Figure 5 : Expression de Phospho-AKT dans le rein fœtal normal lors de la fin du deuxième trimestre de grossesse (24SA) analysée en immunohistochimie.

A : coupe du cortex et de la médullaire (x16). **B** : coupe passant par la médullaire au niveau de tubes collecteurs (x100). **C** : tubes collecteurs (marquage cytoplasmique : flèche noire) (marquage nucléaire : flèche bleu) (x400). **D** : urothélium et papilles rénales (flèche noire) (x200). **E** : urothélium (flèche noire) (x400).

Au niveau de la fin du deuxième trimestre et du début du troisième trimestre de grossesse, l'examen immunohistochimique montre un marquage cytoplasmique (Figure 5C) prédominant sur le marquage nucléaire (Figure 5C) de Phospho-AKT au niveau des tubes collecteurs.

En effet, au vu de la morphologie, de la topographie et du nombre de cellules, on observe une expression de Phospho-AKT qui se dessine au niveau des cellules intercalaires des tubes collecteurs (Figure 5B, 5C).

On note un marquage de Phospho-AKT au niveau de quelques cellules intermédiaires de l'urothélium (Figure 5E) et au niveau des cellules intercalaires des papilles rénales (Figure 5D).

On ne retrouve plus de marquage de Phospho-AKT au niveau du cortex rénal, excepté au niveau des ampoules urétérales (Figure 5A).

Le blastème et le reste des structures du néphron n'expriment pas Phospho-AKT.

1.3.3 Troisième trimestre

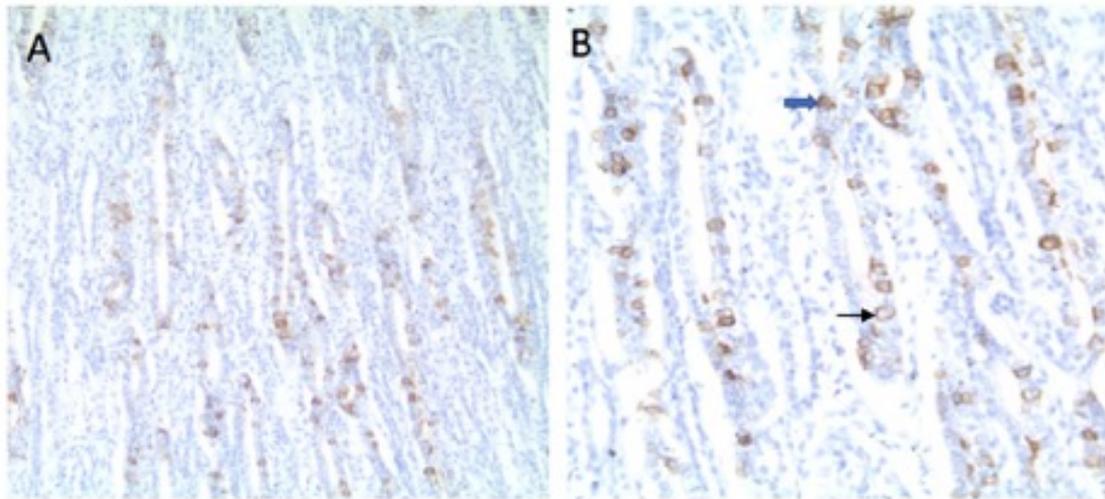


Figure 6 : Expression de Phospho-AKT dans le rein fœtal normal lors du 3^{ème} trimestre de grossesse analysée grâce à l'immunohistochimie.

A : coupe passant par la médullaire au niveau des tubes collecteurs d'un rein fœtal normal de 33 SA (x100). **B** : coupe passant par la médullaire au niveau des tubes collecteurs d'un rein fœtal normal de 33 SA (marquage nucléaire : flèche bleue) (marquage cytoplasmique : flèche noire) (x200).

Au cours du troisième trimestre avant la fin de la glomérulogénèse, on observe un marquage cytoplasmique (Figure 6B) plus important que le marquage nucléaire (Figure 6B) de Phospho-AKT (Figure 6A et 6B). Nous retrouvons les mêmes résultats que lors de la fin du deuxième trimestre où Phospho-AKT est exprimé au niveau des cellules intercalaires des tubes collecteurs, des papilles rénales et des ampoules urétérales.

On note que l'urothélium n'exprime plus Phospho-AKT.

On note toujours l'absence de marquage du blastème métanéphrogène et des autres structures rénales.

Au cours du troisième trimestre après la fin de la glomérulogénèse, une absence totale d'expression de Phospho-AKT est retrouvée au niveau du rein fœtal.

1.4 Expression de Phospho-mTOR au cours du développement

rénal

1.4.1 Fin du premier trimestre et début du deuxième trimestre

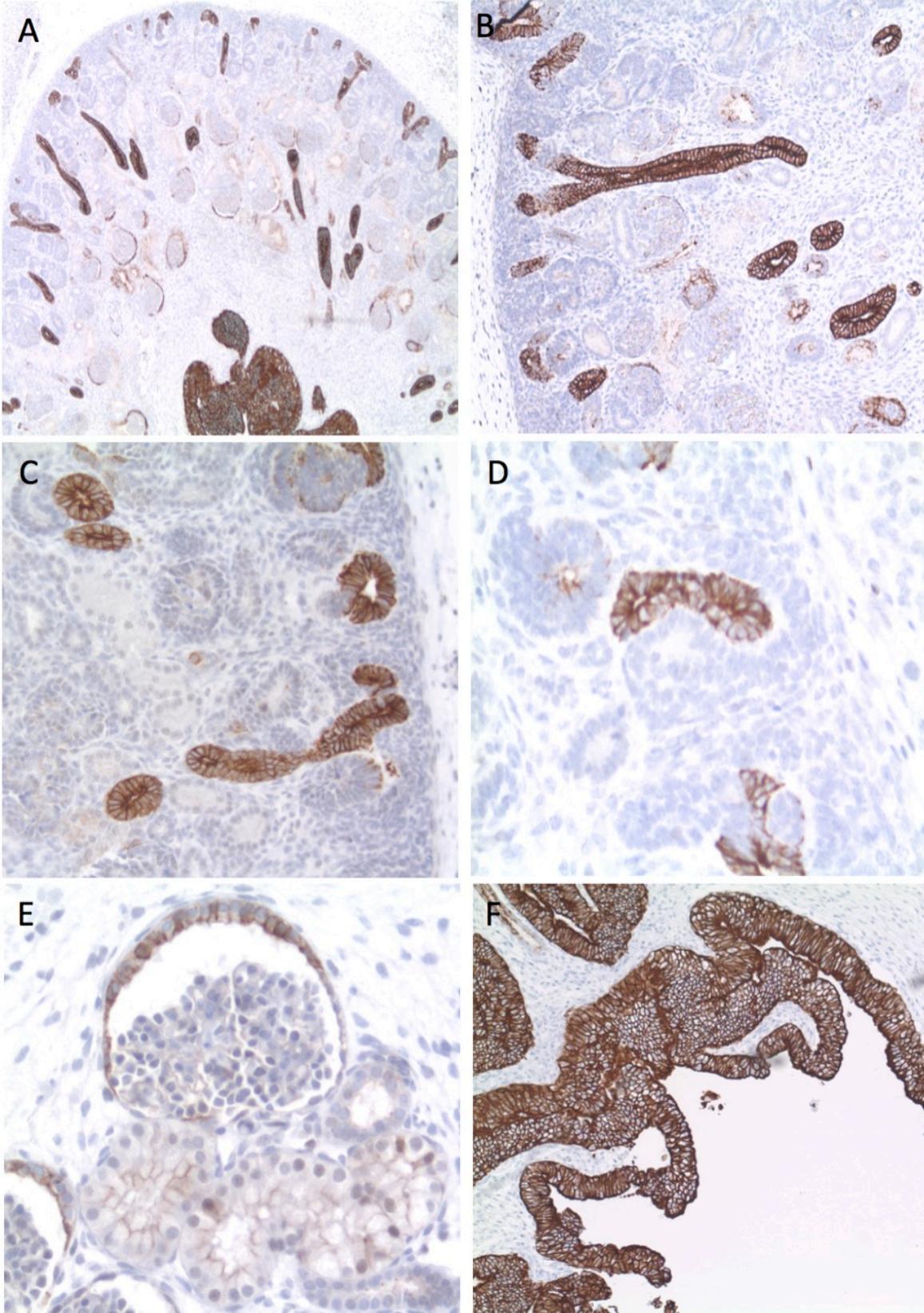


Figure 7 : Expression de Phospho-mTOR dans le rein fœtal normal de la fin du premier trimestre au début du deuxième trimestre analysée en immunohistochimie.

A : coupe du cortex de la médullaire et de l'urothélium de rein fœtal normal de 14 SA (x50). **B** : coupe de cortex de rein fœtal normal de 14 SA (x100). **C** : cortex rénal sous capsulaire d'un fœtus de 16SA (x200). **D** : zone de glomérulogénèse corticale sous capsulaire d'un rein de 14 SA (x400). **E** : glomérule d'un fœtus de 12 SA (x400). **F** : papilles rénales et urothélium chez un fœtus de 14 SA (x200).

Sur nos coupes histologiques de la fin du premier trimestre et du début du deuxième trimestre de grossesse, on met en évidence un marquage cytoplasmique et membranaire de Phospho-mTOR au niveau de plusieurs structures rénales (Figure 7A) :

- toutes les cellules du bourgeon urétéral sur toute sa longueur (Figure 7B) ;
- les ampoules urétérales avec la T-shaped (Figure 7B, 7C, 7D) ;
- le pôle urinaire du glomérule au niveau de la capsule de Bowman (Figure 7E) ;
- un marquage de toutes les cellules de l'urothélium sur toute la hauteur (Figure 7F).

On ne retrouve pas de marquage de Phospho-mTOR que ce soit au niveau du blastème métanéphrogène, au niveau de l'interstitium rénal, au niveau du reste des structures glomérulaires ou encore au niveau des tubes proximaux, anse de Henlé et tubes distaux.

1.4.2 Fin du deuxième trimestre et début du troisième trimestre

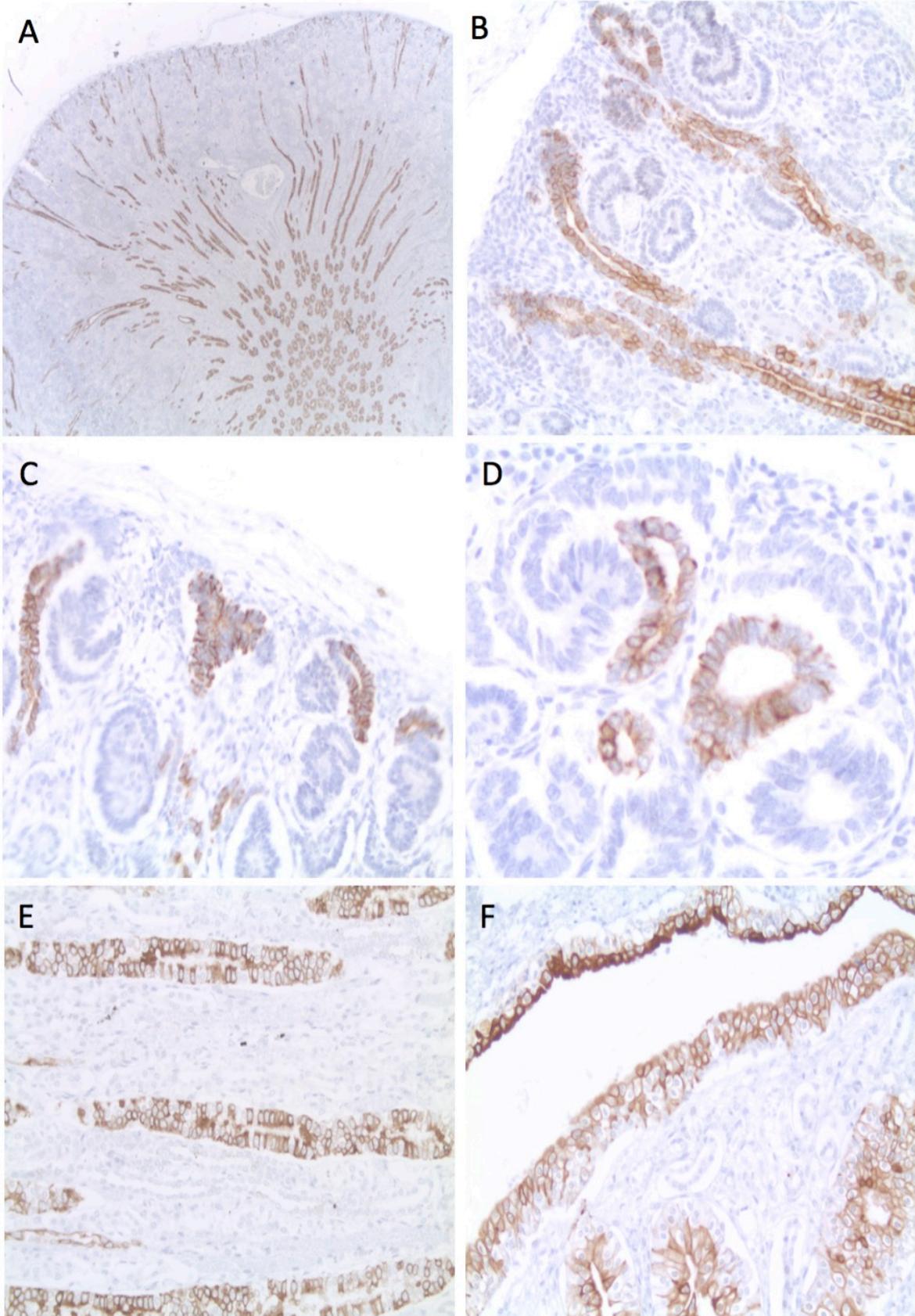


Figure 8 : Expression de Phospho-mTOR dans le rein fœtal à la fin du deuxième trimestre et début du troisième trimestre de grossesse analysée en immunohistochimie.

A : coupe du cortex et de la médullaire d'un rein fœtal normal de 24 SA (x16). **B** : coupe de cortex de rein fœtal normal de 24 SA (x100). **C** : cortex rénal sous capsulaire d'un fœtus de 26SA (x200). **D** : zone de glomérulogénèse corticale avec formation de T-shaped, d'un rein de 26 SA (x400). **E** : coupe passant par la médullaire au niveau des tubes collecteurs d'un fœtus de 26 SA (x200). **F** : papilles rénales et urothélium chez un fœtus de 24 SA (x200).

Sur nos coupes histologiques de la fin du deuxième trimestre et du début du troisième trimestre de grossesse, on met en évidence un marquage cytoplasmique et membranaire de Phospho-mTOR au niveau de la corticale et de la médullaire (Figure 8A).

Phospho-mTOR est exprimé au niveau :

- des cellules principales des tubes collecteurs et des papilles rénales (Figure 8B, 8E) ;
- du pôle urinaire de la capsule de Bowman ;
- des ampoules urétérales, avec formation de T-shaped (Figure 8C et 8D).

Enfin, les cellules composant l'urothélium sont toutes positives mais le marquage est plus intense pour les cellules superficielles de l'urothélium (Figure 8F).

Le blastème et le reste des structures du néphron n'expriment pas Phospho-mTOR.

1.4.3 Troisième trimestre

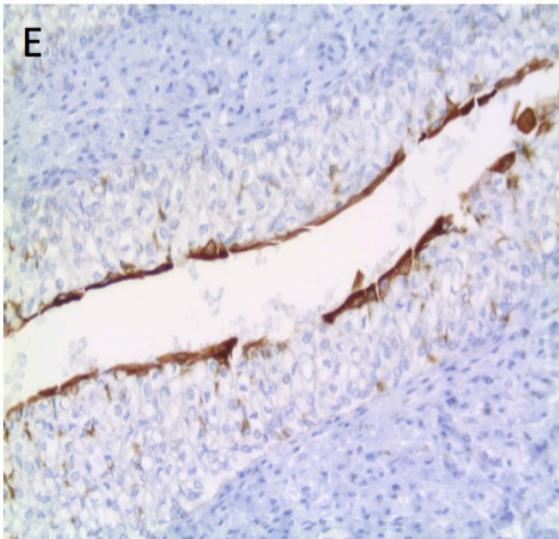
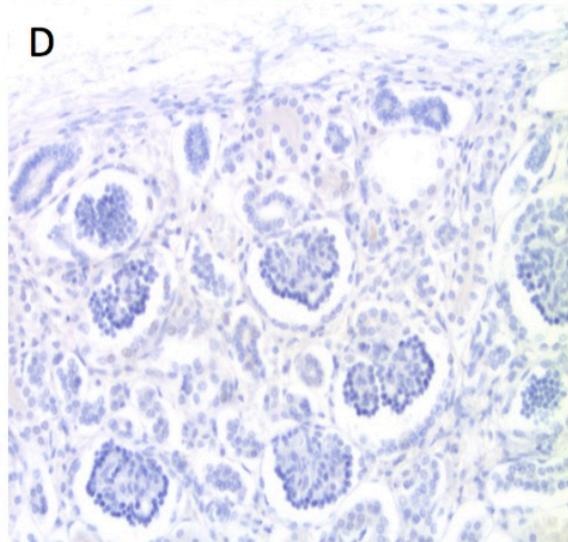
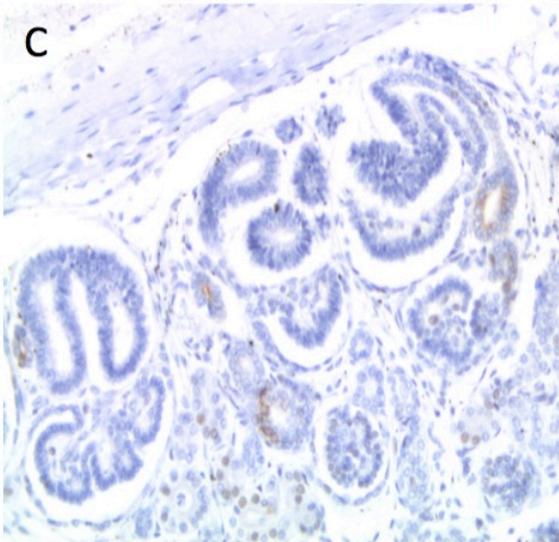
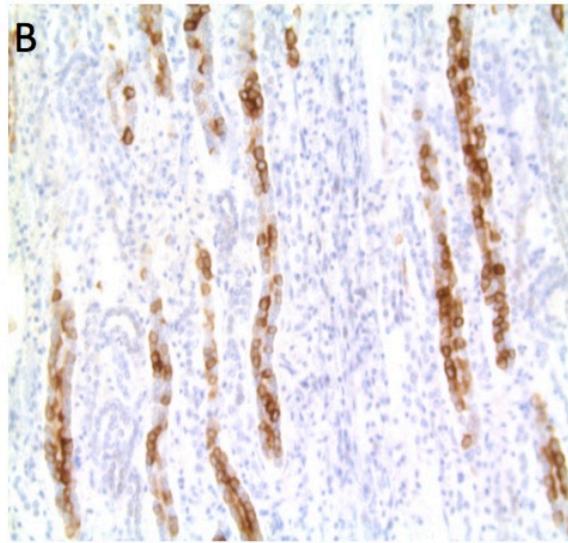
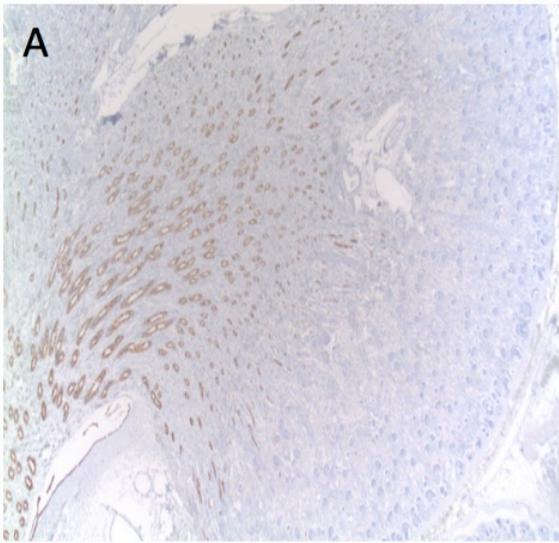


Figure 9 : Expression de Phospho-mTOR dans le rein fœtal au troisième trimestre analysée en immunohistochimie.

A : coupe du cortex et de la médullaire d'un rein fœtal normal 30 SA (x16). **B** : coupe passant par la médullaire au niveau des tubes collecteurs d'un rein fœtal normal de 35 SA (x100). **C** : cortex rénal sous capsulaire d'un fœtus de 33SA (x200). **D** : zone corticale sous capsulaire d'un rein de fœtus de 35 SA (x100). **E** : urothélium chez un fœtus de 33 SA (x200).

Au troisième trimestre de grossesse avant la fin de la glomérulogénèse, on observe un marquage cytoplasmique et membranaire de Phopsho-mTOR au niveau :

- des cellules principales des tubes collecteurs et des papilles rénales (Figure 9A, 9B) ;
- des ampoules urétérales (Figure 9C).

Phospho-mTOR n'est plus exprimé au niveau du pôle urinaire de la capsule de Bowman.

Au troisième trimestre après la fin de la glomérulogénèse, les cellules parapluies de l'urothélium présentent toujours un beau marquage cytoplasmique et membranaire, de même que les cellules principales des tubes collecteurs.

Le reste des cellules urothéliales sont négatives (Figure 9E).

En conclusion, on ne retrouve plus d'expression de Phospho-mTOR au niveau du cortex fœtal de 35 SA (Figure 9D).

On note toujours l'absence de marquage du blastème métanéphrogène.

1.5 Corrélation entre Phospho-AKT et Phospho-mTOR au cours du développement rénal normal

Lors de la fin du premier trimestre et du début du deuxième trimestre, nous constatons une même topographie de marquage pour Phospho-AKT et Phospho-mTOR.

Au total, les structures qui expriment Phospho-AKT et Phospho-mTOR sont :

- les ampoules urétérales ;
- toutes les cellules des tubes collecteurs ;
- le pôle urinaire de la capsule de Bowman ;
- toutes les cellules de l'urothélium.

Concernant la fin du deuxième trimestre et le début du troisième trimestre de grossesse, les similitudes de marquage entre Phospho-AKT et Phospho-mTOR sont les ampoules urétérales.

Une des premières différences d'expression est l'absence de marquage de la capsule de Bowman pour Phospho-AKT contrairement à Phospho-mTOR qui continue de l'exprimer.

On observe que les cellules intercalaires des tubes collecteurs et des papilles rénales expriment Phospho-AKT contrairement à Phospho-mTOR qui s'expriment au niveau des cellules principales des tubes collecteurs et des papilles rénales.

Une autre différence est retrouvée au niveau de l'urothélium : Phospho-AKT est positif au niveau des cellules intermédiaires alors que Phospho-mTOR est positif sur toutes les cellules, en particulier les cellules superficielles.

Enfin, au cours du troisième trimestre avant la fin de la glomérulogénèse (avant 35 SA), on retrouve le marquage identique à celui du deuxième trimestre pour les cellules des tubes collecteurs et des papilles rénales pour Phospho-AKT et Phospho-mTOR.

Il existe quelques rares cellules des ampoules urétérales où Phospho-AKT et Phospho-mTOR sont présents.

La capsule de Bowman n'exprime plus Phospho-mTOR.

Concernant Phospho-AKT, aucune cellule ne l'exprime au niveau de l'urothélium, contrairement à Phospho-mTOR où seules les cellules parapluies sont positives.

Après 35 SA, les cellules des ampoules urétérales sont négatives.

Pour l'urothélium, Phospho-AKT est toujours absent et Phospho-mTOR est toujours présent au niveau des cellules parapluies.

Seul Phospho-mTOR est exprimé après 35 SA au niveau des cellules principales des tubes collecteurs et des papilles rénales.

2) Pathologies rénales kystiques

2.1 La dysplasie multikystique rénale

2.1.1 Population étudiée

Nous avons analysé 13 cas de dysplasie multikystique (*Annexe N°3*) dont 12 d'entre eux sont le siège d'une atteinte bilatérale, un seul ayant une atteinte unilatérale.

On compte 3 fœtus atteints de valve de l'urètre postérieur, 3 possédant une mégavessie, un dans le cadre d'un syndrome polymalformatif, un possédant des uretères fibreux, un ayant des reins en fer à cheval et 4 fœtus ayant une forme isolée.

Nous dénombrons 9 fœtus de sexe masculin et 4 fœtus de sexe féminin.

2.1.2 Coloration HES

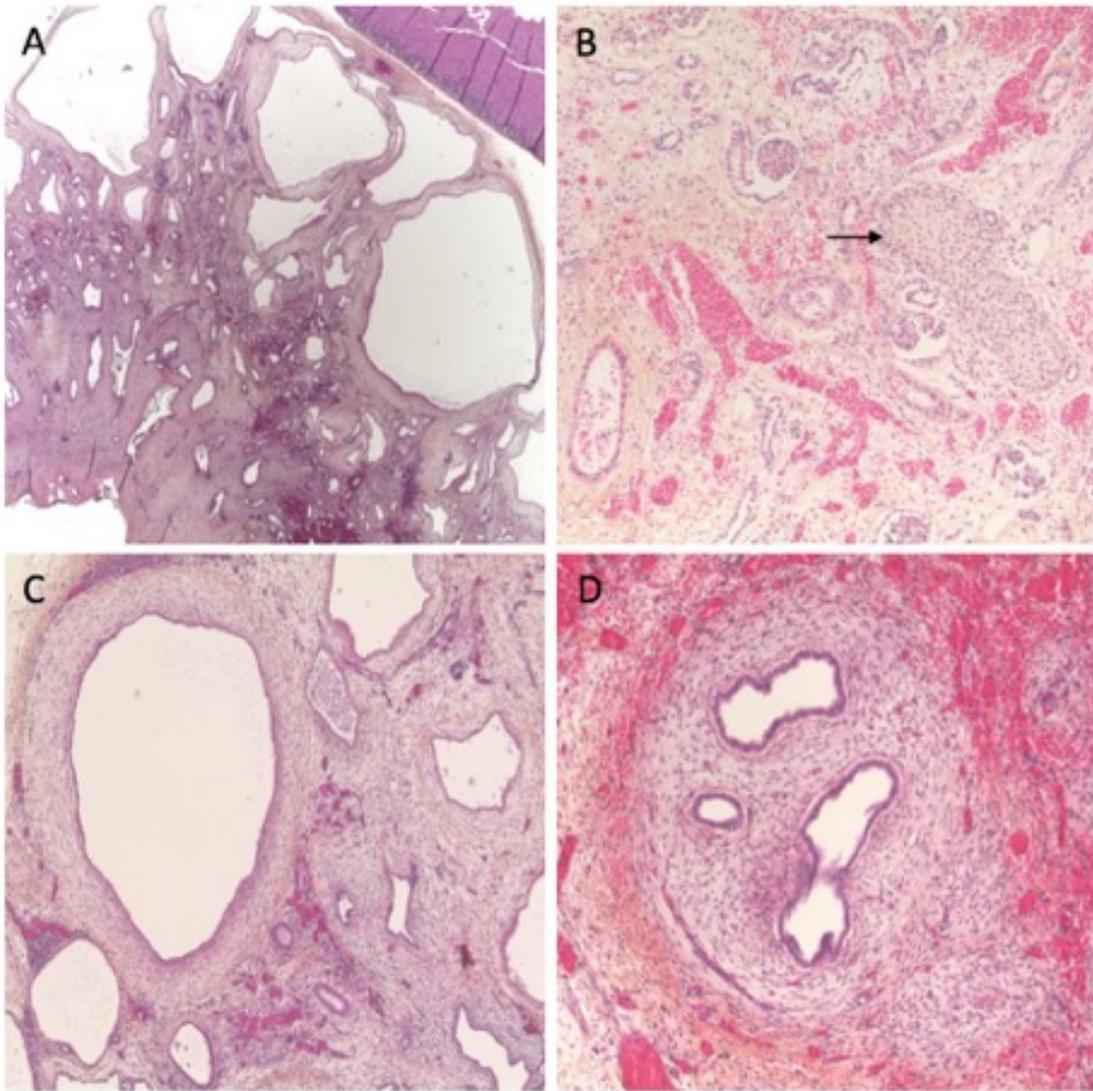


Figure 10 : Dysplasie multikystique rénale analysée en HES (Hématoxyline, Eosine, Safran)

A : coupe du cortex et de la médullaire dans un rein de fœtus de 22 SA possédant une valve de l'urètre postérieur (x16). **B** : différenciation hétérologue : îlots de cartilage (flèche noire) chez un fœtus masculin de 29 SA présentant une méga vessie avec dysplasie multikystique unilatérale (x100). **C** : multiples kystes corticaux de tailles variables dans un rein de fœtus féminin de 19SA avec vessie normale (x50). **D** : dysplasie rénale dans un rein de fœtus féminin de 19SA avec vessie normale (x100).

Sur nos coupes histologiques, on met en évidence de multiples kystes cortico-médullaires de taille variable, développés aux dépens des glomérules et des tubes. Ces kystes sont entourés par un mésenchyme lâche (Figure 10A, 10C).

On observe la présence de dysplasie rénale, majoritairement médullaire, caractérisée par la présence de tubes primitifs arrondis, bordés par de grandes cellules cylindriques régulières (Figure 10D).

Ces tubes primitifs sont encerclés par du mésenchyme abondant, dense, d'aspect concentrique (en bulbe d'oignon) (Figure 10D). Il s'y associe la présence d'une différenciation hétérologue (Figure 10B).

2.1.3 Expression de Phospho-AKT

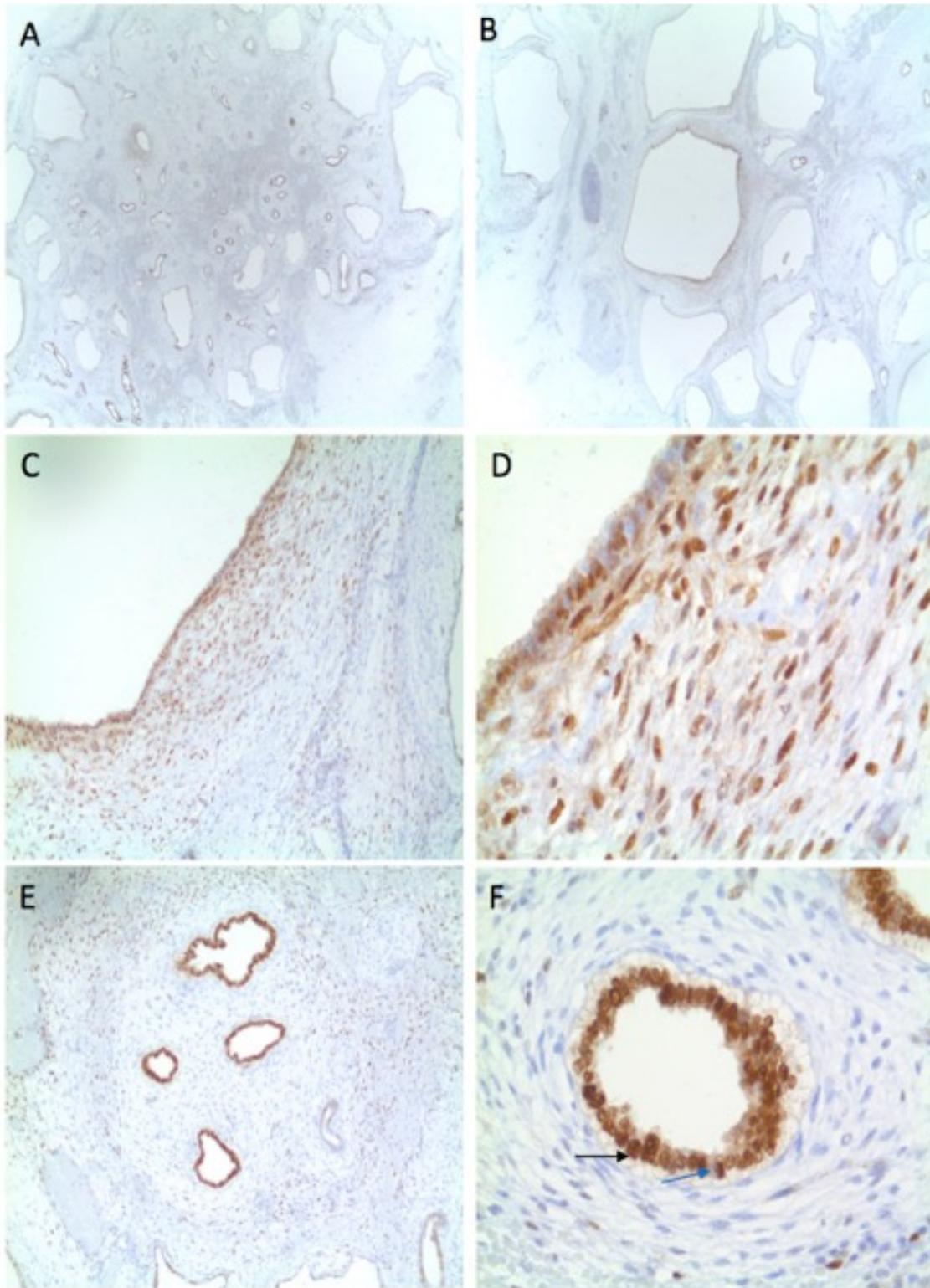


Figure 11 : Expression de Phospho-AKT dans la dysplasie multikystique rénale analysée en immunohistochimie chez un fœtus féminin de 19 SA présentant une vessie normale.

A : multiples kystes cortico-médullaires (x16). **B** : multiples kystes cortico-médullaires (x16). **C** : : kyste rénal entouré par son mésenchyme lâche (x100). **D** : kyste rénal entouré par son mésenchyme lâche (x400). **E** : dysplasie rénale avec tubes primitifs (x100). **F** : tube primitif encerclé par du mésenchyme dense (marquage nucléaire : flèche noire) (marquage cytoplasmique : flèche bleue) (x400).

L'analyse immunohistochimique par l'anticorps anti-Phospho-AKT met en évidence un marquage nucléaire (Figure 11F) et cytoplasmique (Figure 11F) intense et identique pour toutes les séries de cas de dysplasie multikystique rénale (indépendant de l'âge, du type, du degré d'atteinte).

On observe une positivité du revêtement épithéliale kystique et de son mésenchyme lâche (Figure 11A, 11B, 11C, 11D).

Au niveau des tubes primitifs, les cellules bordant les tubes primitifs expriment Phospho-AKT mais on constate une absence d'expression au niveau du mésenchyme dense (Figure 11E, 11F).

Les structures rénales non atteintes ont le même marquage que les fœtus du même âge gestationnel. Ceci est identique pour le rein controlatéral non atteint, dans le cas de DMK unilatérale.

2.1.4 Expression de Phospho-mTOR

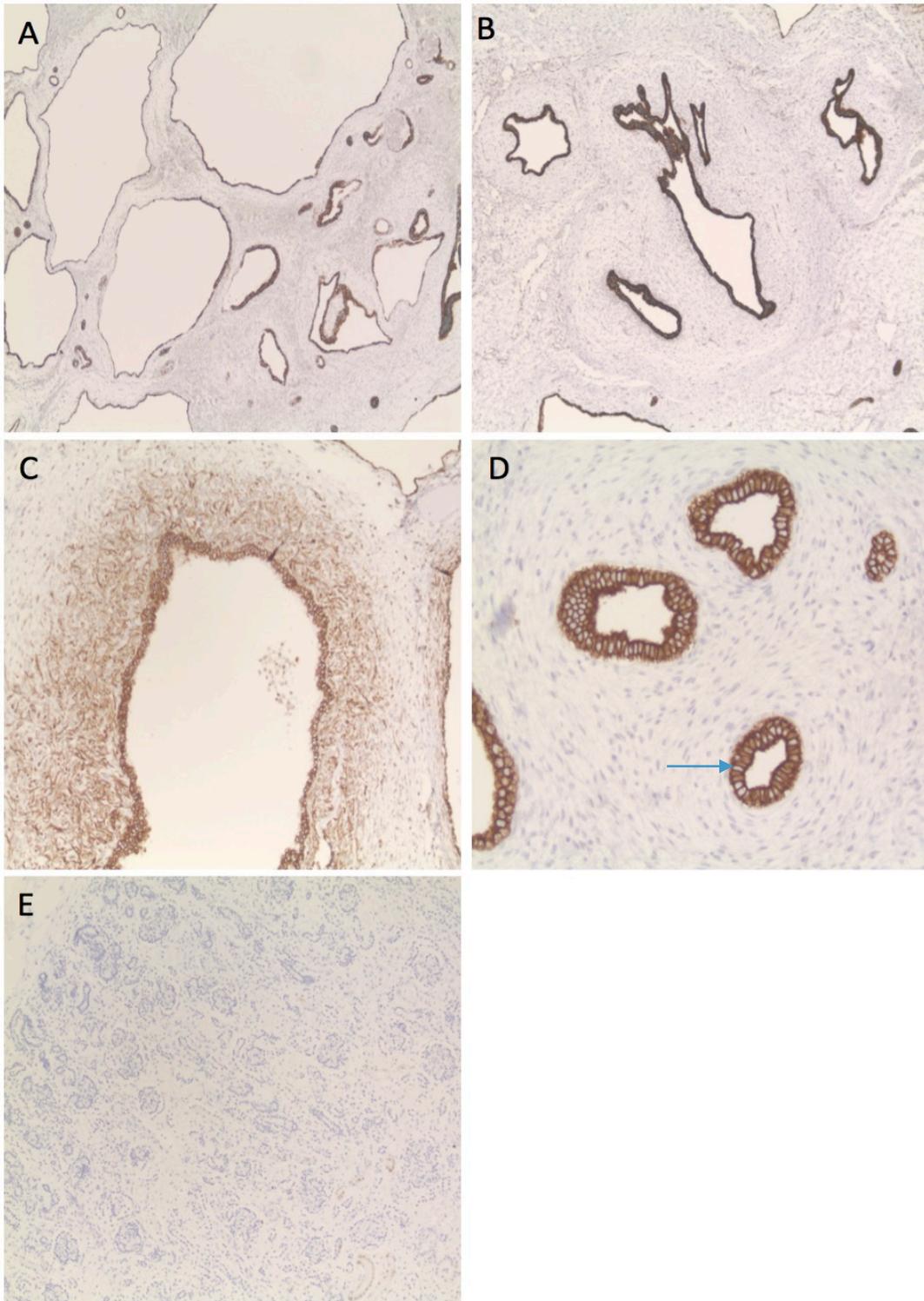


Figure 12 : Expression de Phospho-mTOR dans la dysplasie multikystique rénale analysée en immunohistochimie.

A : multiples kystes cortico-médullaires chez un fœtus féminin de 19 SA avec une vessie normale (x50). **B** : kyste cortical chez un fœtus féminin de 19 SA avec vessie normale (x100). **C** : dysplasie rénale chez un fœtus masculin de 24 SA présentant des uretères fibreux (x100). **D** : dysplasie rénale dans un rein de fœtus féminin de 19 SA avec vessie normale (marquage membranaire et cytoplasmique : flèche bleue) (x200). **E** : cortex du rein normal controlatéral d'un fœtus masculin de 29 SA présentant une méga vessie avec dysplasie multikystique unilatérale (x50).

L'analyse immunohistochimique par l'anticorps anti-Phospho-mTOR met en évidence un marquage membranaire et cytoplasmique (Figure 12D) intense de plusieurs structures et identique pour toutes les séries de cas de dysplasie multikystique rénale.

En effet, on constate une expression de Phospho-mTOR au niveau du revêtement épithélial des kystes, associée à un marquage concomitant du mésenchyme lâche les encerclant (Figure 12A, 12B).

De plus, on observe que les cellules bordant les tubes primitifs expriment Phospho-mTOR contrairement aux kystes où le mésenchyme dense est négatif (Figure 12C, 12D).

On note que le rein controlatéral de la dysplasie multikystique rénale unilatérale est identique au marquage de Phospho-mTOR chez un fœtus de même âge (29SA) (Figure 12E), de même que pour les autres cas de DMK sur leur parenchyme résiduel.

2.1.5 Corrélation entre l'expression de Phospho-AKT et de Phospho-mTOR

L'analyse immunohistochimique par l'anticorps anti-Phospho-AKT met en évidence un marquage nucléaire et cytoplasmique intense des mêmes structures rénales marquées par l'anticorps anti-Phospho-mTOR : le revêtement épithélial kystique et son mésenchyme lâche, ainsi que les cellules bordant les tubes primitifs.

De plus, on ne retrouve pas d'expression au niveau du mésenchyme dense, concentrique, entourant les tubes primitifs.

2.1.6 Comparaison du parenchyme rénal normal et résiduel dans la DMK

On observe que le parenchyme résiduel exprime Phospho-AKT et Phospho-mTOR de manière identique à un fœtus normal du même âge gestationnel. Résultats également retrouvés dans le rein non atteint du cas de DMK unilatérale.

2.2 La polykystose autosomique récessive rénale

2.2.1 Population étudiée

5 cas de PKAR ont été analysés (*Annexe N°3*). L'âge gestationnel des fœtus varie de 26 à 39 SA.

Nous comptons 4 fœtus de sexe masculin et un fœtus de sexe féminin.

2.2.2 Coloration HES

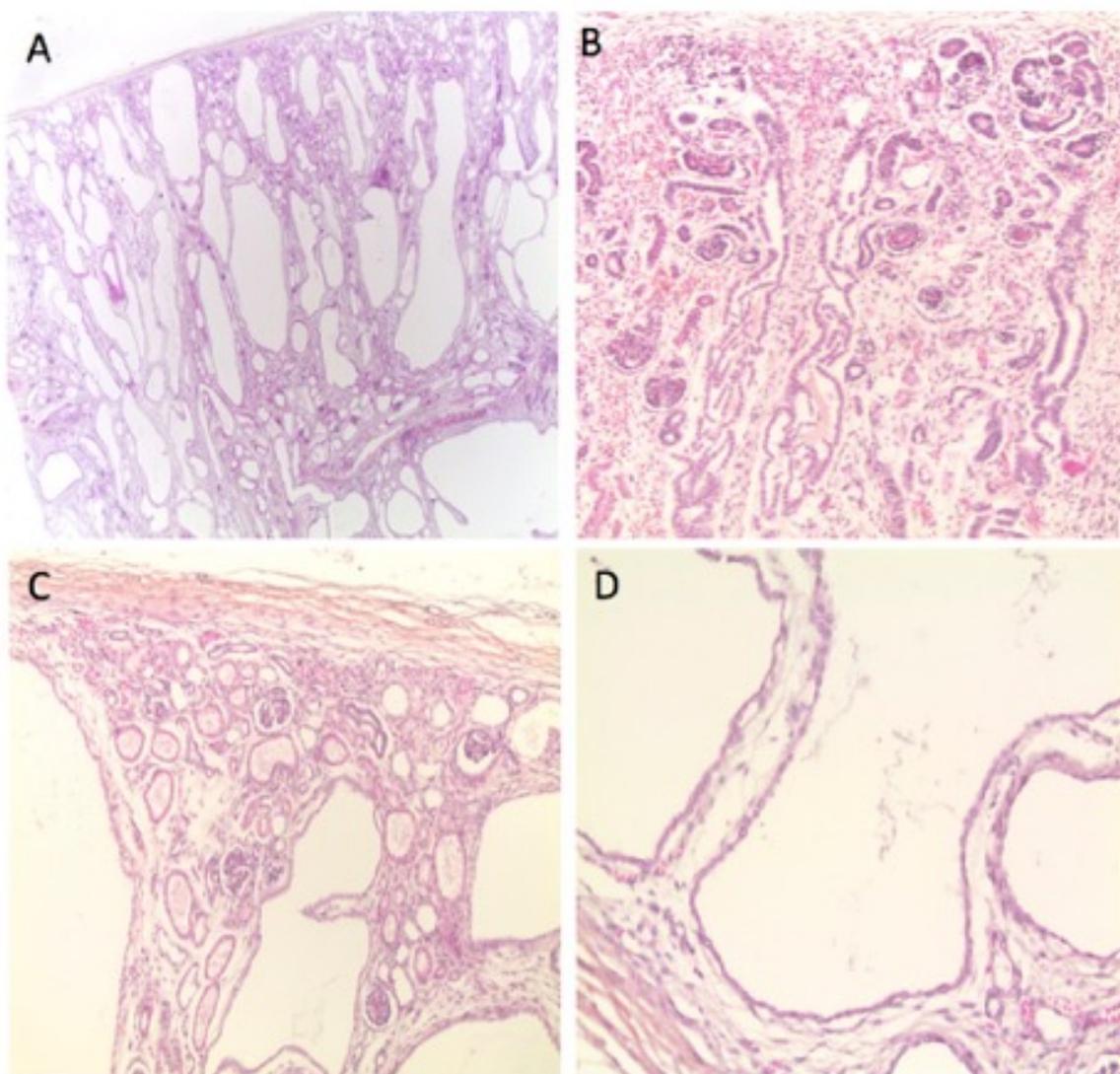


Figure 13 : Polykystose autosomique récessive analysée en HES (Hématoxyline, Eosine, Safran)

A : coupe du cortex et de la médullaire chez un rein de fœtus de 39 SA (x16). **B** : multiples kystes corticaux dans un rein de fœtus de 28SA (x100). **C** : multiples kystes corticaux de tailles variables dans un rein de fœtus 39SA (x100). **D** : kyste rénal chez un fœtus de 39SA (x200).

Sur nos coupes histologiques, on met en évidence de multiples kystes allongés, développés aux dépens des tubes collecteurs, dont l'axe est perpendiculaire à la capsule rénale (Figure 13A, 13B).

Ces kystes sont bordés d'un épithélium simple composé de cellules cubiques (Figure 13D).

On constate que le cortex le plus superficiel est respecté, de même pour les glomérules, indemnes de toute lésion kystique (Figure 13C). On note l'absence de dysplasie rénale.

2.2.3 Expression de Phospho-AKT

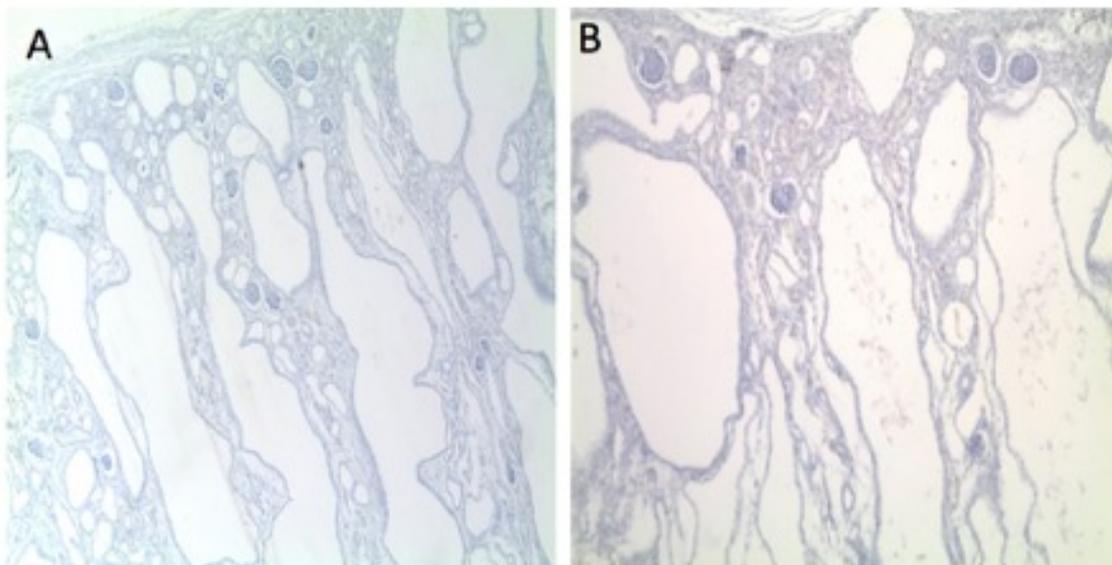


Figure 14 : Expression de Phospho-AKT dans la polykystose autosomique récessive analysée en immunohistochimie.

A : multiples kystes cortico-médullaires chez un fœtus masculin de 39 SA (x50).

B : kystes corticaux chez un fœtus féminin de 26 SA (x100).

L'analyse immunohistochimique par l'anticorps anti-Phospho-AKT ne met aucun marquage en évidence et est identique pour toutes les séries de cas de polykystose rénale autosomique récessive. Sur nos coupes immunohistochimiques, les kystes de la polykystose rénale autosomique récessive sont négatifs (Figure 14A, 14B).

2.2.4 Expression de Phospho-mTOR

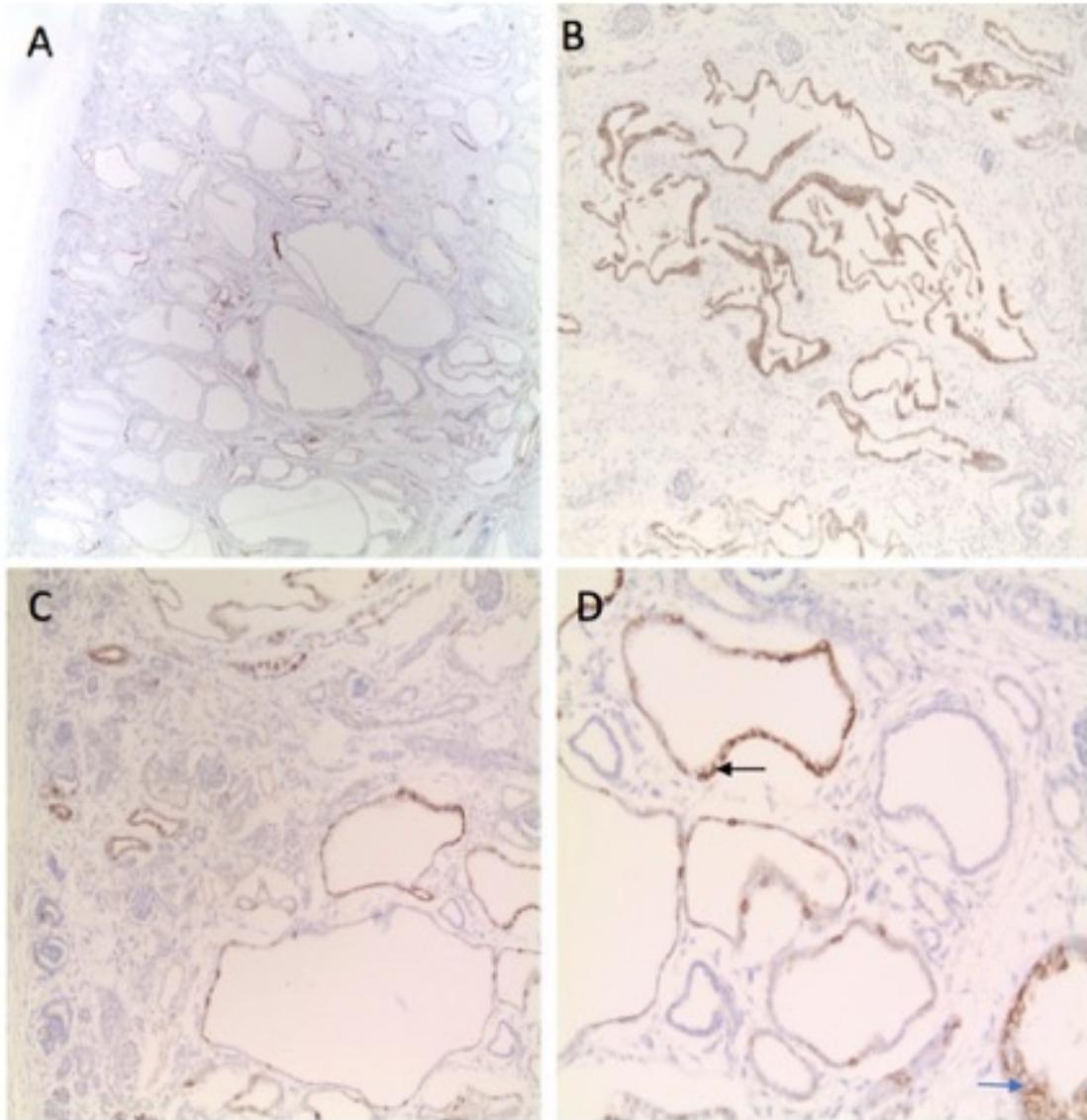


Figure 15 : Expression de Phospho-mTOR dans la polykystose autosomique récessive analysée en immunohistochimie.

A : multiples kystes cortico-médullaires chez un fœtus de 39 SA (x16). **B** : kystes corticaux chez un fœtus de 28SA (x100). **C** : kystes corticaux superficiels chez un fœtus de 39SA (x100). **D** : kystes cortico-médullaires chez un fœtus de 39 SA (marquage membranaire : flèche bleue) (marquage cytoplasmique : flèche noire) (x200).

L'analyse immunohistochimique par l'anticorps anti-Phospho-mTOR met en évidence un marquage membranaire (Figure 15D) et cytoplasmique (Figure 15D) intense au niveau de toutes les cellules bordant l'épithélium kystique (Figure 15A, 15B, 15C, 15D).

Cette observation est identique pour toutes les séries de cas de polykystose rénale autosomique récessive.

On constate l'absence de marquage du mésenchyme en périphérie des kystes.

2.2.5 Corrélation entre l'expression de Phospho-AKT et de Phospho-mTOR

On observe une absence totale de marquage de Phospho-AKT, au niveau des kystes, contrairement à Phospho-mTOR, exprimé au niveau du revêtement épithélial kystique.

2.2.6 Comparaison du parenchyme rénal normal au résiduel dans la PKAR

Il n'existe pas de marquage au niveau du parenchyme résiduel pour Phospho-AKT, tandis que Phospho-mTOR est exprimé au niveau des structures du parenchyme résiduel et ce de manière identique à un fœtus de même âge gestationnel.

3) Etude préliminaire : BBS6 et HNF1 β

3.1 Le syndrome de Bardet-Biedl mutation 6

3.1.1 Présentation du cas

Il s'agit d'un fœtus de sexe masculin de 25 SA (*Annexe N°3*), présentant sur le plan échographique des reins volumineux (siège de nombreux microkystes), associés à une hexadactylie post axial présente aux quatre extrémités.

Une étude chromosomique a été complétée par une analyse chromosomique sur puce à ADN au centre hospitalier universitaire Necker de Paris.

Il a été mis en évidence une mutation du gène BBS6.

3.1.2 Coloration HES, immunohistochimie de Phospho-AKT et de Phospho-mTOR

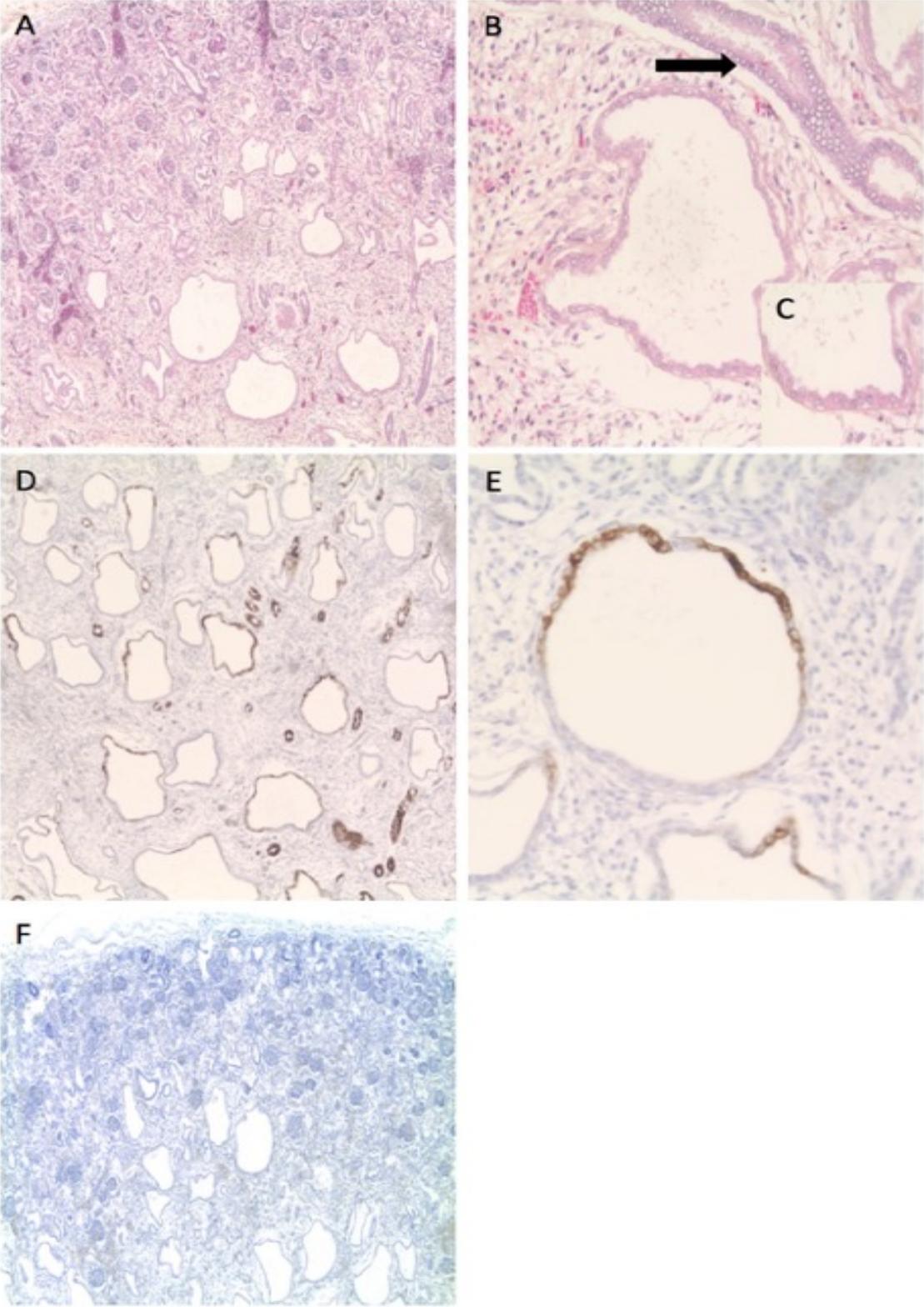


Figure 16 : Ciliopathie BBS6 analysée en HES (Hématoxyline, Eosine, Safran), immunohistochimie par l'anticorps anti-Phospho-AKT (Figure 16F) et anti-Phospho-mTOR (16D, 16E) chez un fœtus masculin de 25 SA.

A : coupe du cortex et de la médullaire (x50). **B** : kyste médullaire avec un tube collecteur (flèche noire) (x200). **C** : kyste médullaire (x400). **D** : coupe passant par la médullaire (IHC Phospho-mTOR, x50). **E** : kyste médullaire (IHC Phospho-mTOR, x200). **F** : coupe passant par le cortex et la médullaire (IHC Phospho-AKT, x50).

Les résultats découlent de l'étude d'un seul cas car il s'agit d'une étude préliminaire.

Sur nos coupes histologiques, on met en évidence de multiples kystes développés aux dépens de la médullaire, épargnant le cortex superficiel.

On constate que la taille des kystes augmente du cortex vers la médullaire (Figure 16A).

Les tubes collecteurs sont de taille normale, non dilatés (Figure 16B). L'épithélium de revêtement des kystes est unistratifié, composé de cellules cubo-cylindriques (Figure 16C).

L'analyse en immunohistochimie par l'anticorps anti-Phospho-AKT ne met pas en évidence de marquage des kystes, ni d'aucune autre structure rénale (Figure 16F).

L'analyse en immunohistochimie par l'anticorps anti-Phospho-mTOR met en évidence un marquage cytoplasmique et membranaire hétérogène d'un kyste à l'autre.

En effet, on observe un marquage de Phospho-mTOR soit sur la moitié de la circonférence kystique ou soit sur la totalité (Figure 16D, 16E). On note que le parenchyme résiduel est marqué de manière identique à un rein normal de fœtus du même âge gestationnel.

3.2 La délétion du 17q12 du gène HNF1 β

3.2.1 Présentation du cas

Il s'agit d'un fœtus de sexe féminin de 27 SA (*Annexe N°3*), présentant sur le plan échographique des reins hyperéchogènes ainsi qu'un retard de croissance intra-utérin.

Une étude chromosomique (caryotype : 46,XX) a été complétée par une analyse chromosomique sur puce à ADN mettant en évidence la délétion 17q12 du gène HNF1 β .

3.2.2 Coloration HES, immunohistochimie de Phospho-AKT et de Phospho-mTOR

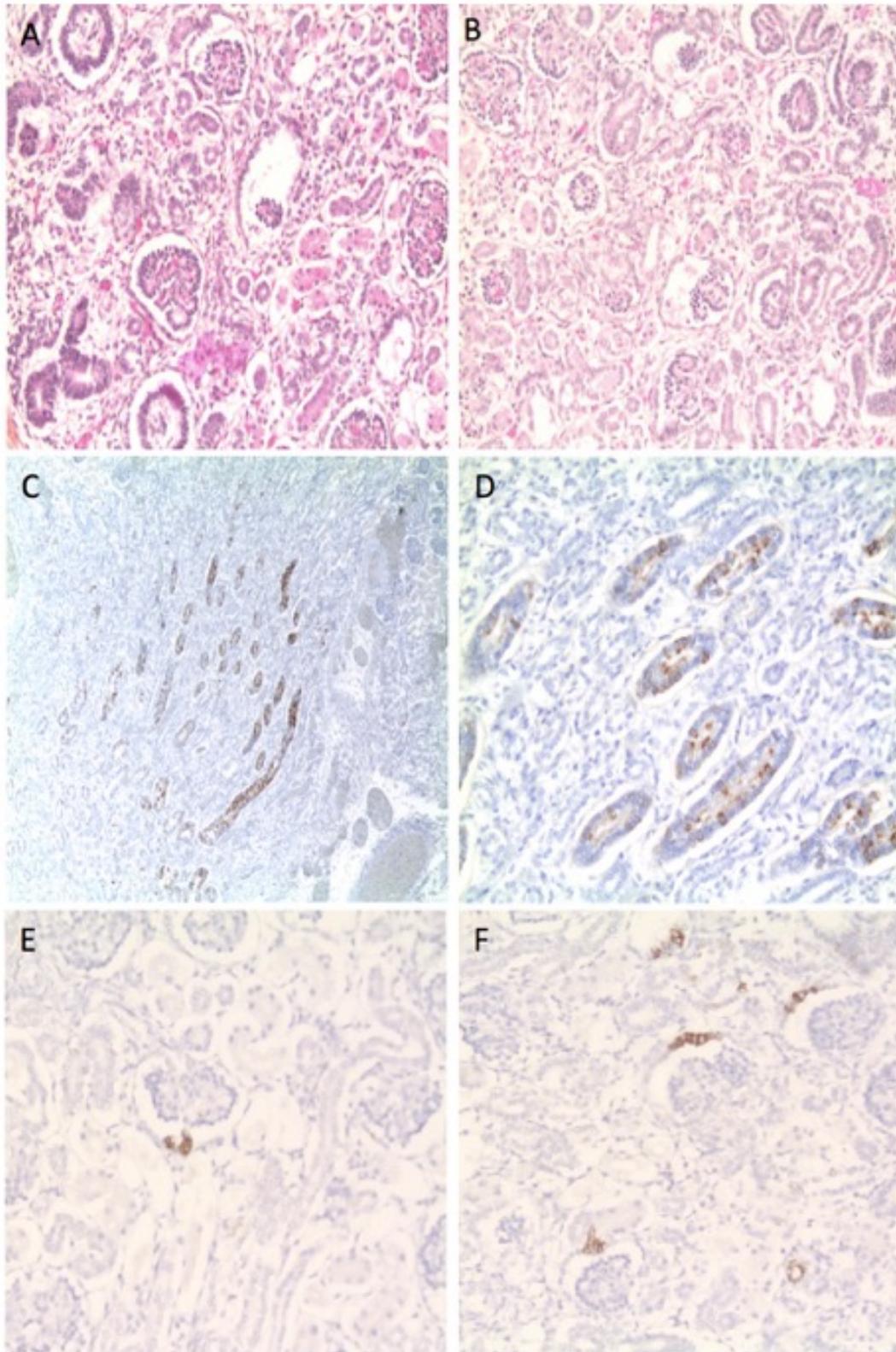


Figure 17 : Délétion 17q12 HNF1 β analysée en HES (Figure 17A, 17B) et en immunohistochimie par l'anticorps anti-Phospho-AKT (Figure 17C, 17D) et anti-Phospho-mTOR (17E, 17F) chez un fœtus féminin de 27 SA.

A : microkystes glomérulaires (HES, x200). **B** : microkystes glomérulaires (HES, x100). **C** : tubes collecteurs dans la médullaire (IHC Phospho-AKT, x50). **D** : cellules intercalaires des tubes collecteurs (IHC Phospho-AKT, x200). **E** : microkystes glomérulaires et glomérules normaux en immunohistochimie (IHC Phospho-mTOR, x200). **F** : glomérules rénaux en immunohistochimie (IHC Phospho-mTOR, x200).

Les résultats découlent de l'étude d'un seul cas car il s'agit d'une étude préliminaire. L'analyse histologique met en évidence des microkystes glomérulaires, respectant les structures rénales adjacentes. Il existe une glomérulogénèse active avec environ cinq à six glomérules par colonne (Figure 17A,17B). On ne retrouve pas d'autre lésion rénale.

L'analyse immunohistochimique par l'anticorps anti-Phospho-AKT met en évidence un marquage nucléaire et cytoplasmique de manière identique aux reins normaux de fœtus du troisième trimestre de grossesse (Figure 17C,17D).

L'analyse immunohistochimique par l'anticorps anti-Phospho-mTOR met en évidence un marquage cytoplasmique et membranaire identique aux reins de fœtus normaux du même âge gestationnel (Figure 17E, 17F).

D) DISCUSSION

Les différents processus cellulaires tels que la prolifération, la migration, l'apoptose, l'induction cellulaire réciproque et la différenciation sont absolument fondamentaux au cours du développement embryonnaire et fœtale humain normal.

Contrairement à la cancérogenèse, ces processus sont parfaitement régulés au cours du développement normal. Cette régulation se fait par différentes voies d'activation ou d'inhibition intracellulaire.

Parmi ces voies, celle PI3K/AKT/mTOR est l'une des plus importantes.

En effet, la voie PI3K/AKT/mTOR est une voie de signalisation primordiale dans l'homéostasie cellulaire. Elle intervient dans les mécanismes fondamentaux comme la prolifération, le cycle cellulaire, l'apoptose et l'angiogénèse, indispensables au bon fonctionnement de l'organisme(25)(56).

1) Le développement rénal normal

1.1 Expression de Phospho-AKT

Notre étude menée sur les fœtus du premier, deuxième et troisième trimestre a permis de montrer la présence de l'activation de Phospho-AKT dans le développement rénal.

En effet, sur nos coupes histologiques et grâce aux techniques d'immunohistochimie, nous avons pu observer que Phospho-AKT était exprimé au cours des trois trimestres de grossesse.

Sur les coupes histologiques fœtales de la fin du premier trimestre et du début du deuxième trimestre, on remarque que Phospho-AKT s'exprime au niveau des structures dérivant du bourgeon urétéral ainsi qu'au niveau du pôle urinaire du glomérule de la capsule de Bowman.

Pendant cette période fœtale, le bourgeon urétéral est le lieu d'induction avec le blastème métanéphrogène mais aussi une zone de forte prolifération et de différenciation cellulaire, caractérisée par une activité mitotique intense. Intervenant dans ces mécanismes cellulaires, on comprend facilement l'expression de Phospho-AKT retrouvée sur nos coupes immunohistochimiques.

Lors de la fin du deuxième trimestre et du début du troisième trimestre, on retrouve le marquage de Phospho-AKT sur les cellules des tubes collecteurs, plus précisément au niveau des cellules intercalaires et au niveau des ampoules urétérales. Quelques très rares cellules intermédiaires de l'urothélium expriment Phospho-AKT.

Enfin, au cours du troisième trimestre, Phospho-AKT est révélée avec un marquage moins intense au niveau des cellules intercalaires et au niveau des ampoules urétérales, dont l'expression de ces derniers disparaît à la fin de la glomérulogénèse.

Il n'existe pas d'expression au niveau des cellules composant l'urothélium.

Cependant, le blastème métanéphrogène et l'interstitium rénal n'expriment pas Phospho-AKT et ce pour les trois trimestres de notre étude.

Ainsi, l'activation d'AKT par phosphorylation permettra l'activation des complexes mTOR. Son objectif est d'intervenir directement ou indirectement via mTOR, sur les processus de prolifération, d'apoptose, d'angiogénèse et de cycle cellulaire lors de l'organogénèse rénale.

Ainsi, une suractivation d'AKT, en dehors de la période fœtale où les processus permettant l'organogénèse sont fondamentaux, peut induire des pathologies rénales.

Une étude de 2014(57) va dans ce sens et a montré le rôle de l'activation d'AKT dans le développement de la plupart de maladies rénales chroniques. Son expression a été retrouvée au niveau des zones de fibrose tubulo-intersticielle, prouvant ainsi son implication dans le processus de fibrose rénale.

Le fibroblaste joue un rôle prépondérant dans le développement des maladies rénales chroniques.

Fuente-Calvo ont montré que l'inhibition d'AKT réduisait la migration des fibroblastes, suggérant ainsi l'importance de la suractivation d'AKT dans la migration fibroblastique et donc dans le développement des maladies rénales chroniques fibrosantes(58).

De plus, il a été décrit au niveau du cancer du sein, qu'en fonction de la localisation de l'expression de Phospho-AKT, nucléaire ou cytoplasmique, les cascades de signalisation impliquées et leurs conséquences sur le fonctionnement cellulaire, notamment en terme de prolifération, d'entrée en cycle cellulaire et d'apoptose, ne sont pas les mêmes(59).

Il serait ainsi judicieux d'analyser les conséquences cellulaires de Phospho-AKT en fonction de sa localisation nucléaire ou cytoplasmique dans le développement rénal normal.

1.2 Expression de Phospho-mTOR

Les résultats de notre étude montrent, au même titre qu'AKT, qu'au cours de la fin du premier trimestre et du début du deuxième trimestre, l'expression de Phospho-mTOR est présente au niveau des structures dérivant du bourgeon urétéral et du pôle urinaire du glomérule de la capsule de Bowman.

Néanmoins, à la fin du deuxième trimestre et début du troisième trimestre, mTOR est activé non pas sur les cellules intercalaires des tubes collecteurs mais sur les cellules principales de ces derniers.

La quasi-totalité des cellules de l'urothélium expriment Phospho-mTOR.

Lors du troisième trimestre, notre étude observe de nouveau les cellules principales marquées mais de manière moins intense. Les cellules superficielles de l'urothélium, appelées cellules parapluies, sont positives pour Phospho-mTOR.

Tout comme Phospho-AKT, le blastème métanéphrogène et l'interstitium rénal n'expriment pas Phospho-mTOR.

Ainsi, l'expression de la forme activée de mTOR apparaît comme essentielle dans le développement fœtal.

Une étude de 2001(60) a montré son rôle primordial dans l'organogénèse.

En effet, des souris ayant une mutation du gène codant pour la protéine mTOR, entraînant une perte de fonction de cette dernière, ont été analysées. Il a été observé des malformations phénotypiques, en particulier neurologiques, lors du développement fœtal de la souris, prouvant son importance pendant l'organogénèse.

De plus, il a été montré que l'utilisation de la Rapamycine (inhibiteur de mTOR) sur des jeunes embryons murins ont permis d'obtenir des phénotypes identiques aux embryons de souris chez qui mTOR était inactivé par mutation génétique. Cela a donc prouvé l'importance capitale que mTOR avait dans le développement fœtal murin mais aussi de pointer l'effet tératogène de la Rapamycine.

1.3 Etude de la corrélation entre l'expression de Phospho-AKT et de Phospho-mTOR au cours du développement rénal normal.

Ce travail de thèse nous a permis d'observer que Phospho-AKT et Phospho-mTOR étaient deux protéines impliquées dans la même cascade de kinases.

Cette cascade de signalisation est le plus souvent activée par de multiples signaux extracellulaires, stimulant certains récepteurs cellulaires (EGFR, IGFR) et déclenchant alors l'activation de la voie PI3K/AKT/mTOR.

Citons le ligand GDNF et son récepteur RET, requis pour le développement et la morphogénèse du bourgeon urétéral et intervenant avec la voie PI3K/AKT/mTOR(61).

Ainsi, la diminution de l'expression de Phospho-AKT et de Phospho-mTOR à la fin de la grossesse pourrait s'expliquer par la baisse d'activité de prolifération et d'induction du bourgeon urétéral.

D'autres signaux intracellulaires, notamment métaboliques, vont intervenir dans cette cascade de signalisation en chaîne.

Lors de notre introduction, nous avons pu remarquer que Phospho-AKT et Phospho-mTOR avaient une influence mutuelle l'une sur l'autre(25).

En effet, Phospho-AKT, situé en amont de mTOR, va permettre l'activation de mTOR en complexes mTORC1 et mTORC2.

En retour, le complexe mTORC2 va activer AKT par phosphorylation et ainsi créer une boucle de rétrocontrôle positif sur la cascade de signalisation.

Ainsi, plusieurs voies et cibles thérapeutiques régulant cette cascade de signalisation impliquées dans des processus tumoraux pourraient être utilisées.

Une étude de 2008(62) avait recensé les principaux agents agissant sur la voie PI3K/AKT/m-TOR comme les inhibiteurs d'AKT (Perifosine, PX-866), les inhibiteurs de m-TOR (RAPAMYCINE, CCI-779, RAD-001) et leurs utilisations conjointes, associés ou non avec les thérapeutiques anti-néoplasiques conventionnelles comme la chimiothérapie ou la radiothérapie.

Ainsi, l'entretien continu de cette cascade par rétrocontrôle positif pourrait être une cible thérapeutique à privilégier car mTORC2 est insensible à la Rapamycine.

A la fin du premier trimestre et au début du deuxième trimestre, Phospho-AKT et Phospho-mTOR sont exprimés par les mêmes cellules. Ces dernières étant situées dans des zones de prolifération cellulaire très intenses au début du développement rénal.

Au cours des trimestres, la différenciation cellulaire se met en place activant ainsi préférentiellement AKT ou mTOR et leurs mécanismes en fonction des besoins de l'organogénèse dans le temps.

On observe cela avec la différence d'expression entre les cellules intercalaires et les cellules principales.

Les cellules principales interviennent aussi dans la régulation de la sécrétion urinaire du potassium par différents mécanismes (les débits du fluide tubulaire, les apports en sodium, l'aldostérone, le pH urinaire, la concentration en sodium extracellulaire).

Au contraire, les cellules intercalaires agissent de façon opposée en stimulant la réabsorption du potassium.

Ainsi ces deux cellules régulent l'essentiel de l'excrétion urinaire et donc de la concentration sanguine du potassium.

Elles sont donc primordiales pour le maintien de l'homéostasie corporelle. Elles mettent alors en jeu un équilibre entre prolifération et apoptose cellulaire afin d'assurer leurs fonctions de sécrétion et de réabsorption en potassium dans le temps.

Les expressions retrouvées dans notre étude au niveau de ces deux cellules divergent ; Phospho-AKT étant retrouvé au niveau des cellules intercalaires et Phospho-mTOR au niveau des cellules principales.

Le processus de tubulogénèse est aussi médié, entre autres par AKT et mTOR.

Boca et Distefano(63) ont suggéré que les processus de tubulogénèse étaient médiés par la polycystine 1, et ce par l'intermédiaire d'AKT et de ses effecteurs avec la voie mTOR. Au contraire, les inhibiteurs de la PI3K vont réguler son activation. Alors, la voie PI3K/AKT/mTOR est centrale dans le processus de tubulogénèse en régulant l'activité de la polycystine 1.

Parallèlement, l'urothélium est un épithélium capable de subir la toxicité urinaire. Il est soumis à de grandes pressions suite à l'acheminement de l'urine du rein jusqu'à la vessie.

Les cellules superficielles de l'urothélium ont des membranes cytoplasmiques épaisses et imperméables à l'urine et expriment Phospho-mTOR lors du troisième trimestre de notre étude. On imagine facilement le rôle primordial de Phospho-mTOR dans le maintien des fonctions de l'urothélium par l'intermédiaire de la régulation des processus de prolifération, apoptose, cohésion cellulaire, d'organisation du cytosquelette et de la synthèse protéique.

Ainsi, nous venons de voir que Phospho-AKT et Phospho-mTOR constituent les points centraux de l'homéostasie cellulaire lors du développement rénale normal. Cet équilibre est rompu en particulier dans les processus de cancérogénèse rénale.

Hager et Hauf(64) ont alors montré une hyperexpression de Phospho-AKT et une diminution de l'expression de PTEN, suppresseur de tumeur ayant pour fonction d'inhiber AKT, dans la carcinogénèse rénale.

En effet, une augmentation de l'expression de Phospho-AKT, nucléaire et cytoplasmique, a été observée grâce à l'analyse de cellules carcinomateuses rénales préparées par la technique tissus micro-array. Il a été montré aussi une diminution de l'expression de PTEN dans 50% des cas.

1.4 Cancer du rein et voie PI3K/AKT/mTOR

A travers la voie PI3K/AKT/mTOR et d'autres cascades de signalisation, il existe un équilibre permanent entre survie cellulaire et apoptose. Lors des processus de cancérogénèse, une rupture de cet équilibre est présente.

En effet, les cellules tumorales induisent un état d'hypoxie tissulaire (suite à une vascularisation précaire) entraînant une demande forte en facteurs de croissance qui viennent se fixer sur des récepteurs, entraînant ainsi l'activation de multiples cascades de signalisation comme la voie PI3K/AKT/mTOR.

Ainsi, les fonctions régulées par cette voie sont activées avec notamment les fonctions de prolifération cellulaire et de néoangiogénèse pour répondre à la demande en hypoxie.

Ce mécanisme d'activation des voies de signalisation par l'hypoxie cellulaire se prolongeant dans le temps va être à l'origine d'un déséquilibre en faveur de la survie cellulaire, entraînant alors un processus de cancérogénèse(65).

1.4.1 Carcinome à cellules claires

Il s'agit du cancer rénal le plus fréquent. Il prend son origine au niveau des cellules du tube contourné proximal.

Les processus de cancérogénèse ont été identifiés dans le cancer rénal à cellules claires.

En effet, l'étude du gène VHL et de sa protéine pVHL a montré que cette dernière entraînait la dégradation de la protéine HIF, responsable de l'expression de facteurs liés à l'hypoxie comme le VEGF ou PDGF. Alors, en cas d'hypoxie tissulaire ou de mutation du gène VHL(66), HIF n'est pas dégradée, entraînant une surexpression du VEGF et du PDGF et ainsi est responsable d'une néoangiogénèse tumorale.

De plus, comme vu précédemment, HIF interagit avec les complexes mTOR et notamment mTORC1 en stabilisant HIF.

C'est pourquoi ces différentes étapes d'activation de la néoangiogénèse tumorale sont la cible de traitements anti-néoplasiques (anticorps anti-VEGF au niveau du récepteur VEGF, PTEN inhibiteur de la phosphorylation des lipides membranaires, inhibiteur de mTOR avec le TEMSIROLIMUS, la RAPAMACYNE, le CCI779, le RAD001) dans le traitement du carcinome à cellules claires.

De plus, mTOR apparait comme « l'acteur central » de la transduction du signal et des voies de signalisations intracellulaires. Il va permettre la synthèse de protéine intervenant dans l'ensemble du processus tumoral, comme des molécules favorisant l'entrée en cycle cellulaire ou anti-apoptotique.

Cependant, on note une discordance avec les résultats de notre étude. Le carcinome à cellules claires dérive des cellules du tube contourné proximal et ces dernières ne proviennent pas du bourgeon urétéral. Ainsi, il n'y a pas de corrélation dans ce cas entre nos résultats du développement rénal normal et ce carcinome.

1.4.2 Carcinome à cellules chromophobes

Le carcinome à cellules chromophobes dérivent des cellules intercalaires du tubule distal. Il représente 5 à 10% des cancers du rein.

Une étude montre l'intervention de la voie de signalisation de mTOR dans cette pathologie. Une étude a montré l'augmentation de l'expression des protéines Phospho-S6 et 4EBP1 situées en aval de Phospho-mTOR et une diminution de l'expression de PTEN située en amont de Phospho-mTOR, montrant ainsi l'implication de la voie de mTOR dans le carcinome à cellules chromophobes.

Or, notre étude a montré une expression de Phospho-AKT au niveau des cellules intercalaires sur nos coupes immunohistologiques des reins normaux au cours du développement. Une hyperactivation de Phospho-mTOR au niveau des cellules intercalaires en dehors de la période fœtale pourrait être à l'origine de processus de cancérogénèse comme l'ont montré *Chaux et Albadine*(67)(68).

Le syndrome de Birt-Hogg-Dubé a permis d'aider à comprendre les mécanismes de cancérogénèse dans le carcinome à cellules chromophobes(69), comme cela a été le cas avec l'étude de la protéine VHL dans le carcinome à cellules claires.

1.4.3 Carcinome des tubes collecteurs (Carcinome de Bellini)

Le carcinome de Bellini est une tumeur mal connue, représentant moins de 1% des tumeurs du rein. Elle est supposée dériver des cellules principales des tubes collecteurs.

Une série de cas a montré(70)(71) l'importance de la protéine NF2 dans cette pathologie lors des processus de cancérogénèse.

Or, cette protéine interagit avec les complexes mTOR, en inhibant le complexe mTORC1 et en activant le complexe mTORC2.

De plus, notre étude retrouve une expression de Phospho-mTOR au niveau des cellules principales des tubes collecteurs lors du développement rénal.

Ces dernières étant à l'origine du carcinome des tubes collecteurs en cas d'activation de processus tumoral.

Ainsi, le lien entre mTOR et le carcinome des tubes collecteurs inciterait à l'utilisation des inhibiteurs de mTOR dans cette pathologie. Mais d'autres études doivent approfondir le profil moléculaire des carcinomes de Bellini, trop peu connus dans la littérature à ce jour.

Très peu de cas (case report) ont été étudiés à ce jour sur cette pathologie. Il serait ainsi intéressant d'analyser l'expression de Phospho-AKT et de Phospho-mTOR sur une plus grande série.

2) Le développement rénal pathologique

La deuxième partie de notre étude s'est principalement focalisée sur l'expression de Phospho-AKT et de Phospho-mTOR dans deux pathologies kystiques que sont la dysplasie multikystique et la polykystose autosomique récessive.

2.1 La dysplasie multikystique rénale

Nous avons étudié sur nos coupes immunohistochimiques l'expression de la voie PI3K/AKT/mTOR.

Sur nos coupes histologiques de dysplasie multikystique, Phospho-AKT et Phospho-mTOR s'expriment de manière identique.

En effet, les deux protéines activées sont présentes sur le revêtement épithélial kystique ainsi qu'au niveau de son mésenchyme lâche. L'épithélium des tubes primitifs est positif contrairement à son mésenchyme dense périphérique.

La dysplasie multikystique est une anomalie présente chez environ un enfant sur 4000.

En général, elle est secondaire à un défaut du tractus urinaire permettant l'excrétion des urines des structures rénales jusqu'à la vessie. Ainsi, cela entraîne une hyperpression au niveau rénal, impliquant une réponse cellulaire proliférative et hypertrophique, afin d'aboutir à une tubulogénèse répétitive nécessitant potentiellement une activation de la voie de signalisation de mTOR(72).

Même s'il existe quelques rares cas familiaux de DMK, cette anomalie est généralement isolée

La kystogénèse dans la DMK peut être à l'origine de multiples voies de signalisation qui interagissent avec la voie PI3K/AKT/mTOR.

En effet, RET(73)(74)(75)(76)(77)(78) est une protéine majeure intervenant dans la voie de signalisation nécessaire au développement normal des reins et des uretères.

RET est activé au niveau rénal en se liant à son ligand, le GDNF, et son corécepteur le GFR α 1. En s'activant, ce complexe va interagir et réguler d'autres voies de signalisation comme les voies PLC γ , MAPK et PI3K. On retrouve dans 5 à 30% des cas atteints de CAKUT, dont fait partie la dysplasie multikystique, des mutations de RET.

De par son interaction avec la voie PI3K/AKT/mTOR, on peut supposer une activation anormale d'AKT, de mTOR et de ses effecteurs dans les cas atteints de CAKUT. Ceci pourrait expliquer l'expression de Phospho-AKT et de Phospho-mTOR retrouvées sur nos coupes immunohistochimiques de dysplasie multikystique de notre étude.

2.2 La polykystose rénale autosomique récessive

2.2.1 La PKAD

La polykystose autosomique dominante est une pathologie ayant une prévalence de 1/600(79), capable d'affecter de nombreux organes, avec en premier lieux et de manière constante des kystes intra-rénaux qui se développent au dépend des structures épithéliales rénales. Il s'y associe de manière inconstante des kystes hépatiques pancréatiques ou spléniques.

Des mutations des gènes PKD1 et PKD2 sont retrouvées dans 70 à 85% des cas et 10 à 15% des cas respectivement(80). Cette pathologie débute in utéro et est habituellement symptomatique à l'âge adulte où l'on retrouve de volumineux kystes remaniant le parenchyme rénal et aboutissant à l'insuffisance rénale terminale après l'âge de 60 ans.

La voie PI3K/AKT/mTOR semble être au centre des processus de kystogénèse dans cette pathologie.

Il a été retrouvé une activité de mTOR au sein des cellules bordant les kystes(81). A la différence de la DMK, il existerait une activation permanente de mTOR, entraînant un processus continu, aboutissant à la formation et à la croissance des kystes.

Cette hyperactivation serait à l'origine d'une perte de fonction du complexe TSC ou d'une phosphorylation trop importante des molécules en aval de mTOR(82)(83) dans la cascade de signalisation comme S6K1/2 ou 4E-BP(81).

Par la suite, des inhibiteurs de mTOR ont alors été utilisés dans le traitement de la PKAD et ont montré leur efficacité(84)(85)(86)(87)(88)(89)(90).

2.2.2 La PKAR

Un nombre important d'études a été réalisé sur la PKAD et la voie mTOR et les inhibiteurs qui en découlent. Peu ont été menées sur la PKAR.

La polykystose autosomique récessive implique une mutation du gène PKHD1 codant pour la fibrocystine. Elle a une prévalence de 1/20000.

Elle débute pendant la période anténatale et entraîne une insuffisance rénale terminale avant l'âge de 15 ans. Contrairement à la PKAD où l'atteinte se porte sur tous les segments du néphron, la PKAR concerne seulement le système collecteur.

Notre étude s'est donc penchée sur l'expression de Phospho-AKT et de Phospho-mTOR dans la polykystose rénale autosomique récessive.

A contrario de la dysplasie multikystique rénale, l'expression de ces deux protéines n'est pas identique.

En effet, l'expression de Phospho-AKT est absente sur les coupes immunohistochimiques. Aucune structure rénale n'est marquée par Phospho-AKT.

Or, Phospho-mTOR est présent au niveau de l'épithélium bordant les kystes.

On peut s'interroger sur la différence d'expression dans cette pathologie quand on sait que Phospho-AKT est en partie à l'origine de l'activation de Phospho-mTOR, car situé en amont de la cascade de signalisation. Nous pouvons alors émettre l'hypothèse de l'existence de voies d'activation parallèles à mTOR.

Nos résultats montrent, par conséquent, le rôle majeur de la protéine mTOR dans cette pathologie.

Ainsi, ils sont à mettre en parallèle avec l'étude menée par Becker en 2010(91), qui a étudié l'expression de mTOR par technique immunohistochimique sur des coupes histologiques hépatiques et rénales de patients atteints de polykystose autosomique récessive. Phospho-mTOR s'est retrouvé fortement exprimé sur ces coupes montrant ainsi l'importance de son expression dans cette pathologie.

Un autre article(92) a montré une forte concentration en fibrocystine, Phospho-AKT et Phospho-mTOR au niveau des cellules épithéliales kystiques sur des coupes immunohistologiques d'enfants atteints de PKAR.

Ainsi, l'expression de mTOR pourrait être une cible à privilégier, avec notamment en chef de file les analogues à la Rapamycine.

Shillingford en 2006(81) a utilisé la Rapamycine chez les mutants murin *bpk* mimant la PKAR lors d'un essai clinique. Une réduction de la taille des kystes a été constatée.

On peut imaginer de potentielles avancées thérapeutiques dans le traitement de la PKAR en utilisant les inhibiteurs de mTOR.

Or, cette pathologie se développant en anténatal et la Rapamycine et ses analogues étant tératogènes(60), leur utilisation lors de la période fœtale est rendue impossible. Ainsi, d'autres stratégies interagissant avec cette cascade de signalisation doivent être explorées.

D'autres cibles thérapeutiques peuvent être envisagées.

Warner a montré en 2016(93) qu'une restriction alimentaire entraînait une diminution de la taille des kystes rénaux, de l'inflammation et de la fibrose rénale chez des souris atteintes de polykystose autosomique dominante.

mTOR ayant un rôle prépondérant dans la polykystose autosomique dominante et notre étude montrant que mTOR est exprimé de manière privilégiée dans la polykystose autosomique récessive, il serait intéressant de voir si la restriction alimentaire serait efficace comme alternative thérapeutique dans le traitement de la polykystose autosomique récessive.

Cela apporterait de nouvelles cibles thérapeutiques potentielles dans le traitement de cette pathologie.

2.3 BBS6 et HNF1 β

Notre étude préliminaire sur une série de coupes immunohistochimiques atteintes du BBS6 montre l'absence d'expression de Phospho-AKT mais une positivité de Phospho-mTOR présente sur le revêtement des kystes.

Nos résultats sont en accord avec ceux retrouvés dans cette étude(94) datant de 2013.

Cette dernière montre que le syndrome Bardet-Biedl mutation 6 est secondaire à une perte de la fonction de ciliogénèse médiée par la protéine CCDC28N.

Cette protéine semble être un régulateur positif pour le complexe mTORC2 en participant à sa stabilisation et semble interagir avec la protéine SIN1 présente dans le complexe mTORC2. Cette étude met alors en lumière l'expression de Phospho-mTOR retrouvée sur nos coupes immunohistochimiques.

En revanche, les coupes immunohistochimiques atteintes de la mutation HNF1 β n'ont pas mis en évidence l'expression de Phospho-AKT ni de Phospho-mTOR.

Or, notre étude est préliminaire et d'autres études tendent à montrer qu'il existerait un lien entre la mutation du gène HNF1 β et la dysrégulation de la voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR et d'autres voies de signalisation(95).

Une autre étude a montré que le gène HNF1 β pourrait être à l'origine de CAKUT(96).

3) Perspectives de l'étude

Notre étude s'est portée sur des foetus autopsiés dont l'âge gestationnel est pour la quasi-totalité supérieur à douze semaines d'aménorrhée. Il serait intéressant de réaliser une autre recherche sur des cas d'IVG et de fausses couches précoces.

Les études sur BBS6 et HNF1 β sont des études préliminaires. Il conviendrait de faire des études complémentaires avec une série de cas à l'avenir.

Il serait aussi pertinent d'étudier d'autres molécules intervenant dans la cascade de signalisation PI3K/AKT/mTOR, comme par exemple la protéine S6K, dans le but de développer de nouveaux inhibiteurs de cette voie de signalisation.

E) CONCLUSION

La voie PI3K/AKT/mTOR a fait l'objet de multiples travaux de recherches lors des vingt dernières années. En effet, cette cascade de signalisation est impliquée dans les processus de prolifération cellulaire, de survie cellulaire, d'apoptose et d'angiogenèse. Elle est donc capitale lors de l'organogénèse pendant la période fœtale et indispensable au maintien de l'homéostasie.

Ce travail de thèse a eu pour objectif d'étudier l'influence des protéines AKT et mTOR dans le développement rénal normal lors de la gestation et donc d'étudier l'expression topographique et chronologique de ces protéines lors de l'organogénèse rénale.

Précocement dans la gestation, Phospho-AKT et Phospho-mTOR sont exprimés de manière identique, au niveau des ampoules du bourgeon urétéral, du pôle urinaire de la capsule de Bowman, des tubes collecteurs et de l'urothélium.

Ensuite, Phospho-AKT apparaît au niveau des cellules intercalaires des tubes collecteurs et des cellules intermédiaires de l'urothélium tandis que Phospho-mTOR apparaît dans les cellules principales des tubes collecteurs, dans le pôle urinaire de la capsule de Bowman et sur tout l'urothélium. Les ampoules urétérales sont exprimées par les deux protéines jusqu'à la fin de la glomérulogenèse.

A la fin de la gestation, Phospho-AKT marque seulement au niveau des cellules intercalaires. Cette expression disparaît après la fin de la glomérulogénèse.

Phospho-mTOR, est quant à lui exprimé au niveau des cellules principales des tubes collecteurs, des cellules superficielles de l'urothélium avant et après la période de fin de la glomérulogénèse.

Concernant la dysplasie multikystique, Phospho-AKT et Phospho-mTOR ont les mêmes aspects. On retrouve une expression au niveau de l'épithélium kystique, de son mésenchyme lâche et une expression au niveau des tubes primitifs. L'expression de ces protéines au niveau du reste du parenchyme résiduel est identique à celui d'un fœtus de même âge gestationnel.

Pour la PKAR, il n'existe pas de marquage de Phospho-AKT, contrairement à Phospho-mTOR où il est retrouvé au niveau du revêtement kystique et de manière identique à un fœtus de même âge pour le parenchyme résiduel.

En ce qui concerne la ciliopathie BBS6, Phospho-AKT est totalement négatif alors que Phospho-mTOR est observé au niveau de l'épithélium kystique.

Enfin, la délétion 17q12 pour le gène HNF1 β , Phospho-AKT et Phospho-mTOR sont exprimés au niveau des structures rénales habituellement positives pour un fœtus de même âge gestationnel.

Ainsi, cette étude a montré que cette voie de signalisation semble être au centre du développement de ces pathologies et constitue donc une cible thérapeutique majeure dans les néphropathies kystiques.

Plusieurs études en cours examinent l'utilisation possible d'inhibiteurs de mTOR avec les Rapamalogues mais aussi avec le développement d'autres molécules intervenant à différents endroits de la cascade de signalisation et d'autres stratégies. Le point commun entre les néphropathies kystiques est l'existence de mutations au niveau de la protéine indispensable à la biologie du cil primaire. On peut suspecter que l'activation de la voie PI3K/AKT/mTOR soit une conséquence du dysfonctionnement des cils primaires avant d'être une voie effectrice responsable de la kystogénèse en aval.

Ainsi, de futurs travaux sont nécessaires afin de continuer d'explorer cette voie de signalisation et ses interactions avec d'autres cascades intracellulaires dans le but d'approfondir l'analyse des différents mécanismes physiopathologiques et de développer des alternatives thérapeutiques adaptées.

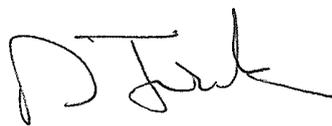
(*) VU ET PERMIS D'IMPRIMER

(*) Grenoble, le 29/08/2017

(*) LE DOYEN

Pour la Présidente
et par délégation
Le Doyen de Médecine
Pr. Jean-Paul ROMANET
(*) J.P. ROMANET

(*) LE PRESIDENT DE LA THESE



(*) PROFESSEUR

Département de Génétique et Procréation
Génétique Clinique
Pr Pierre Simon JOUK
Dr Klaus DIETERICH
Dr Julien THEVENON
Gipsy Billy Conseillère en Génétique
Emmanuelle Dupraz Psychologue
Tél. 04 76 76 72 85
CHU de Grenoble - HCE
CS 10217 - 38043 GRENOBLE CEDEX 9

ANNEXES

Annexe N°1



GRENOBLE

Nom et Signature du Médecin ou de la Sage-femme
ayant délivré l'information en vue du consentement :
.....

Document de consentement pour examen foëto-pathologique/autopsie de foetus ou de nouveau-né

Nous soussignés,

Madame :
(nom, prénom)

Monsieur :
(nom, prénom)

Adresse :
.....

(en cas d'accord)

donnons l'autorisation au CHU de Grenoble :

de pratiquer sur le corps de notre enfant mort-né ou décédé le :

des examens à visée diagnostique (*recherche de la cause du décès ou d'anomalies*) :

Autopsie

Prélèvements pour étude génétique

des examens à visée scientifique comportant des prélèvements qui
seront conservés dans un but de recherches (*sur le développement de l'enfant*)

(en cas de refus)

ne donnons pas cette autorisation au CHU de Grenoble

Date :

Signature de la mère

et/ou

Signature du père

Annexe N°2

Fin 1er-début 2ème Trimestre	Fin 2ème-début 3ème Trimestre	3ème Trimestre
FF (12SA) BLOC A02; hygroma kystique	FM (24SA) BLOC : A1 ; hypoplasie voie gauche	FM (30SA) BLOC A1 ; anomalie cérébrale
FSI (12SA) BLOC C; anencéphalie	FM (24SA) BLOC : A3 ; microcéphalie	FM (31SA) BLOC A7 ; myelomeningocèle
FSI (12SA) BLOC A; leucodystrophie	FSI (24SA) BLOC : A9 ; agénésie corps calleux	FM (32SA) BLOC A11 ; séquence Pierre Robin
FM(13SA) BLOC : A3; anencéphalie	FF (24SA) BLOC : A6 ; atrésie mitral	FM (33SA) BLOC A11 ; achondroplasie
FM (14SA) BLOC : A2; ventriculomégalie	FF (26SA) BLOC : A11 ; myelomeningocèle	FF (35SA) BLOC : A6 ; hydrocéphalie
FM (15SA) BLOC : A2; hygroma kystique		
FF (16SA) BLOC : A4; anencéphalie		
FF = fœtus féminin		
FM = fœtus masculin		
FSI = fœtus de sexe indéterminé		

REINS PATHOLOGIQUES THESE CLASSES PAR PATHOLOGIE

Fœtus masculin (22SA)	BLOC : A7	DMK rénales (vdup)
Fœtus féminin (13SA)	BLOC : A3	DMK rénales (mégavessie)
Fœtus féminin (19SA)	BLOC : A5	DMK rénales (isolé)
Fœtus masculin (24SA)	BLOC : A3	DMK rénales (uretères fibreux)
Fœtus féminin (14SA)	BLOC : A2	DMK rénales (mégavessie)
Fœtus masculin (32SA)	BLOC : A3	DMK rénales (syndrome poymalformatif)
Fœtus masculin (29SA)	BLOC : A3/A10	DMK rénales (mégavessie)
Fœtus masculin (19SA)	BLOC : A5	DMK rénales et reins en fer à cheval
Fœtus masculin (34SA)	BLOC : A6	DMK rénales (isolé)
Fœtus féminin (23SA)	BLOC : A4	DMK rénales (isolé)
Fœtus masculin (14SA)	BLOC : A1	DMK rénales (vdup)
Fœtus masculin (24SA)	BLOC : A11	DMK rénales (vdup)
Fœtus masculin (25SA)	BLOC : A12	DMK rénales (isolé)
Fœtus masculin (28SA)	BLOC : A3	PKAR
Fœtus féminin (26SA)	BLOC : A3	PKAR
Cas Paris fœtus masculin (né 31SA et DCD)	BLOC 1	PKAR
Cas Paris fœtus masculin (37SA+5J né et DCD)	BLOC 1	PKAR
Cas Paris fœtus masculin (39SA né et DCD)	BLOC 1	PKAR
Fœtus féminin (27SA)	BLOC : A7	Déletion 17q12 du gène HNF1beta
Fœtus masculin (25SA)	BLOC : A11	Ciliopathie BBS6

VDUP = valves de l'urètre postérieure

DMK = Dysplasie multi kystique

PKAR = polykystose autosomique récessive



Product datasheet

Anti-AKT1 (phospho S473) antibody [EP2109Y] ab81283

RabMAb

★★★★★ 6 Abreviews 79 References 13 Images

Overview

Product name	Anti-AKT1 (phospho S473) antibody [EP2109Y]
Description	Rabbit monoclonal [EP2109Y] to AKT1 (phospho S473)
Specificity	ab81283 detects AKT1 phosphorylated at Serine 473. The region of AKT1 surrounding S473 has a high degree of similarity to the corresponding regions in AKT2 and AKT3 and thus may cross react with these proteins if phosphorylated on the corresponding serine residue.
Tested applications	Suitable for: ICC/IF, IHC-Fr, IHC-P, WB Unsuitable for: Flow Cyt or IP
Species reactivity	Reacts with: Mouse, Rat, Human
Immunogen	A phospho specific peptide corresponding to residues surrounding Ser473 of human AKT1.
Positive control	3T3 cell lysate treated with PDGF. Cervical carcinoma.
General notes	This product is a recombinant rabbit monoclonal antibody.

Produced using Abcam's RabMAb[®] technology. RabMAb[®] technology is covered by the following U.S. Patents, No. 5,675,063 and/or 7,429,487.

A trial size is available to purchase for this antibody.

Alternative versions available:

[Anti-AKT1 \(phospho S473\) antibody \(Alexa Fluor[®] 488\) \[EP2109Y\] \(ab194198\)](#)

[Anti-AKT1 \(phospho S473\) antibody \(Alexa Fluor[®] 647\) \[EP2109Y\] \(ab194200\)](#)

[Anti-AKT1 \(phospho S473\) antibody \(HRP\) \[EP2109Y\] \(ab194201\)](#)

Properties

Form	Liquid
Storage instructions	Shipped at 4°C. Store at +4°C short term (1-2 weeks). Upon delivery aliquot. Store at -20°C. Avoid freeze / thaw cycle.
Storage buffer	PBS 49%, Sodium azide 0.01%, Glycerol 50%, BSA 0.05%
Purity	Tissue culture supernatant
Clonality	Monoclonal
Clone number	EP2109Y

1

Isotype IgG

Applications

Our [Abpromise guarantee](#) covers the use of **ab81283** in the following tested applications.

The application notes include recommended starting dilutions; optimal dilutions/concentrations should be determined by the end user.

Application	Abreviews	Notes
ICC/IF	★★★★★	1/100 - 1/250.
IHC-Fr	★★★★★	Use at an assay dependent concentration.
IHC-P		1/100 - 1/250. Perform heat mediated antigen retrieval before commencing with IHC staining protocol.
WB	★★★★☆	1/5000 - 1/10000. Predicted molecular weight: 56 kDa. Can be blocked with AKT1 peptide (ab171724) or AKT1 peptide (ab217601) . Abcam recommends using BSA as the blocking agent.
Application notes		Is unsuitable for Flow Cyt or IP.

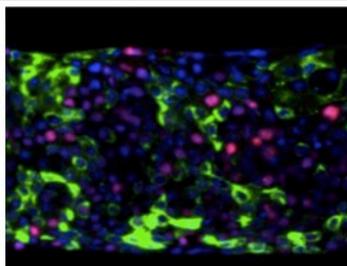
Target

Function	Plays a role as a key modulator of the AKT-mTOR signaling pathway controlling the tempo of the process of newborn neurons integration during adult neurogenesis, including correct neuron positioning, dendritic development and synapse formation (By similarity). General protein kinase capable of phosphorylating several known proteins. Phosphorylates TBC1D4. Signals downstream of phosphatidylinositol 3-kinase (PI(3)K) to mediate the effects of various growth factors such as platelet-derived growth factor (PDGF), epidermal growth factor (EGF), insulin and insulin-like growth factor I (IGF-I). Plays a role in glucose transport by mediating insulin-induced translocation of the GLUT4 glucose transporter to the cell surface. Mediates the antiapoptotic effects of IGF-I. Mediates insulin-stimulated protein synthesis by phosphorylating TSC2 at 'Ser-939' and 'Thr-1462', thereby activating mTORC1 signaling and leading to both phosphorylation of 4E-BP1 and in activation of RPS6KB1. Promotes glycogen synthesis by mediating the insulin-induced activation of glycogen synthase. The activated form can suppress FoxO gene transcription and promote cell cycle progression. Essential for the SPATA13-mediated regulation of cell migration and adhesion assembly and disassembly.
Tissue specificity	Expressed in all human cell types so far analyzed. The Tyr-176 phosphorylated form shows a significant increase in expression in breast cancers during the progressive stages i.e. normal to hyperplasia (ADH), ductal carcinoma in situ (DCIS), invasive ductal carcinoma (IDC) and lymph node metastatic (LNMM) stages.
Involvement in disease	Defects in AKT1 are a cause of susceptibility to breast cancer (BC) [MIM:114480]. A common malignancy originating from breast epithelial tissue. Breast neoplasms can be distinguished by their histologic pattern. Invasive ductal carcinoma is by far the most common type. Breast cancer is etiologically and genetically heterogeneous. Important genetic factors have been indicated by familial occurrence and bilateral involvement. Mutations at more than one locus can be involved in different families or even in the same case. Defects in AKT1 are associated with colorectal cancer (CRC) [MIM:114500]. Defects in AKT1 are associated with susceptibility to ovarian cancer [MIM:604370]; also called susceptibility to familial breast-ovarian cancer type 1 (BROVCA1).
Sequence similarities	Belongs to the protein kinase superfamily. AGC Ser/Thr protein kinase family. RAC subfamily. Contains 1 AGC-kinase C-terminal domain.

2

	<p>Contains 1 PH domain.</p> <p>Contains 1 protein kinase domain.</p>
Domain	<p>Binding of the PH domain to the phosphatidylinositol 3-kinase alpha (PI(3)K) results in its targeting to the plasma membrane. The PH domain mediates interaction with TNK2 and Tyr-176 is also essential for this interaction.</p> <p>The AGC-kinase C-terminal mediates interaction with THEM4.</p>
Post-translational modifications	<p>Phosphorylation on Thr-308, Ser-473 and Tyr-474 is required for full activity. Activated TNK2 phosphorylates it on Tyr-176 resulting in its binding to the anionic plasma membrane phospholipid PA. This phosphorylated form localizes to the cell membrane, where it is targeted by PDPK1 and PDPK2 for further phosphorylations on Thr-308 and Ser-473 leading to its activation. Ser-473 phosphorylation by mTORC2 favors Thr-308 phosphorylation by PDPK1. Ser-473 phosphorylation is enhanced by interaction with AGAP2 isoform 2 (PIKE-A). Ser-473 phosphorylation is enhanced in focal cortical dysplasias with Taylor-type balloon cells.</p> <p>Ubiquitinated; undergoes both 'Lys-48'- and 'Lys-63'-linked polyubiquitination. TRAF6-induced 'Lys-63'-linked AKT1 ubiquitination is critical for phosphorylation and activation. When ubiquitinated, it translocates to the plasma membrane, where it becomes phosphorylated. When fully phosphorylated and translocated into the nucleus, undergoes 'Lys-48'-polyubiquitination catalyzed by TTC3, leading to its degradation by the proteasome.</p>
Cellular localization	<p>Cytoplasm. Nucleus. Cell membrane. Nucleus after activation by integrin-linked protein kinase 1 (ILK1). Nuclear translocation is enhanced by interaction with TCL1A. Phosphorylation on Tyr-176 by TNK2 results in its localization to the cell membrane where it is targeted for further phosphorylations on Thr-308 and Ser-473 leading to its activation and the activated form translocates to the nucleus.</p>

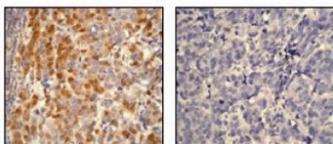
Anti-AKT1 (phospho S473) antibody [EP2109Y] images



Immunohistochemistry (Formalin/PFA-fixed paraffin-embedded sections) - Anti-AKT1 (phospho S473) antibody [EP2109Y] (ab81283)

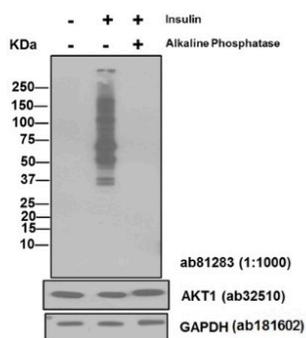
Image from Henken FE et al., *Mol Cancer*. 2011 Jun 10;10:71. Fig 7.; doi:10.1186/1476-4598-10-71; 10 June 2011, *Molecular Cancer* 2011, 10:71

Immunohistochemical analysis of Human HPV16 immortalized keratinocytes transfected with non-targeting siRNA, staining AKT1 (phospho S473) (green) with ab81283. Antigen retrieval was performed by heat mediation in citrate buffer (pH 6). Samples were blocked with 10% goat serum before incubating with primary antibody (1/100). Fluorescein-conjugated tyramide was used to detect staining.



Immunohistochemistry (Formalin/PFA-fixed paraffin-embedded sections) - Anti-AKT1 (phospho S473) antibody [EP2109Y] (ab81283)

ab81283, at 1/100 dilution, staining AKT1 in untreated (left panel) and Phosphatase-treated (right panel) cervical carcinoma by Immunohistochemistry using formalin-fixed, paraffin-embedded tissue



Western blot - Anti-AKT1 (phospho S473) antibody [EP2109Y] (ab81283)

All lanes : Anti-AKT1 (phospho S473) antibody [EP2109Y] (ab81283) at 1/1000 dilution

Lane 1 : HEK293 cell lysate

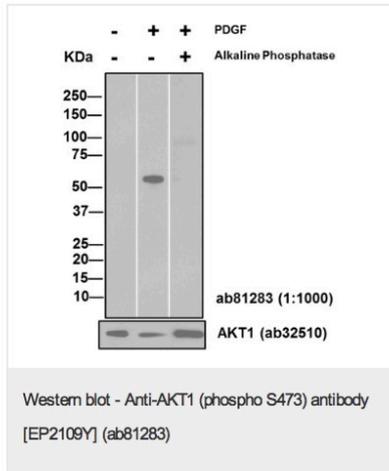
Lane 2 : HEK293 cell lysate

Lane 3 : HEK293 cell lysate

Predicted band size : 56 kDa

Insulin treatment: cells were starved overnight and then treated for 20 min (Insulin) at 100 ng/ml.

Phosphatase treatment: membrane strips were incubated with 200 ul of phosphatase (150 U/ml) at 37 degrees for 1 hour.



All lanes : Anti-AKT1 (phospho S473) antibody [EP2109Y] (ab81283) at 1/1000 dilution

Lane 1 : NIH/3T3 cell lysate

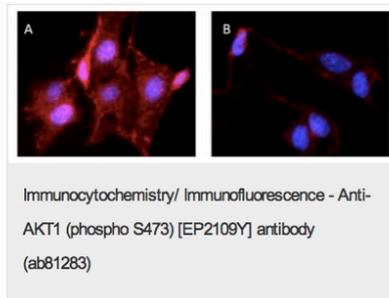
Lane 2 : NIH/3T3 cell lysate

Lane 3 : NIH/3T3 cell lysate

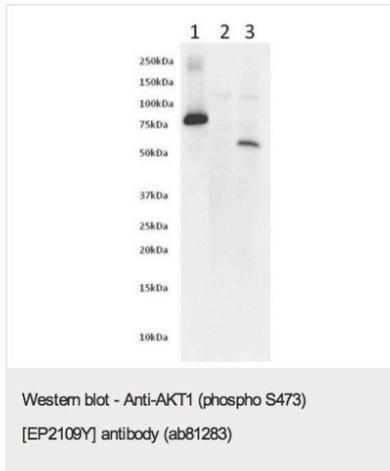
Predicted band size : 56 kDa

PDGF treatment: cells were starved overnight and then treated for 1 h with PDGF at 100 ng/ml.

Phosphatase treatment: membrane strips were incubated with 200 ul of phosphatase (150 U/ml) at 37 degrees for 1 hour.

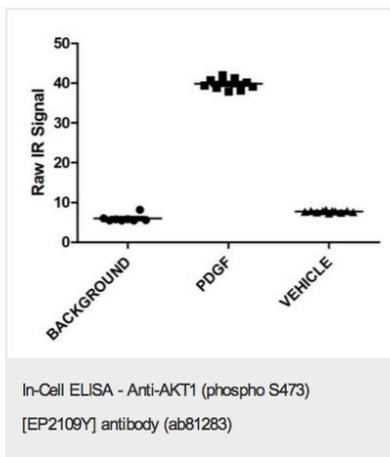


NIH3T3 cells starved overnight and treated with PDGF 50ng/mL for 1 hour (A) or vehicle (B). Cells were fixed in 4% paraformaldehyde and permeabilized with 0.1% Triton-X100. Primary antibody ab81283 was used at 1:4000 dilution and secondary antibody DyLight GAR594 (ab96897) at 1:1000 dilution.

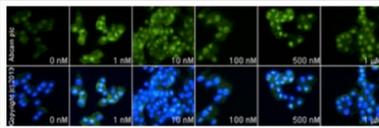


Predicted band size : 56 kDa

Primary : All Lanes : Anti AKT1 (phospho S473) antibody (ab81283) at 1:5000 dilution.
Lane 1 = AKT1 (His tag) full length recombinant protein ab62279 - 50ng. Lane 2 = NIH3T3 serum starved overnight ? 15ug. Lane 3 = NIH3T3 serum starved overnight and treated with PDGF-AB 50ng/mL for 1 hour ? 15ug. Secondary : Lanes 1-3 : Goat polyclonal to Rabbit IgG ? H&L ? Pre-Adsorbed (HRP) at 1:5000 developed using the ECL technique. Performed under reducing conditions (50mM DTT ? Sample heated at 60°C). Predicted band size : 56kDa. Observed band size : 56kDa. Blocking step: 5% Milk in 50mM Tris+0.05% Tween for 1 hour at RT. Primary antibody buffer: 5% BSA in 50mM Tris+0.05% Tween overnight. Secondary antibody buffer: 5% Milk in 50mM Tris+0.05% Tween for 2 hours at RT. Exposure time : 5 minutes

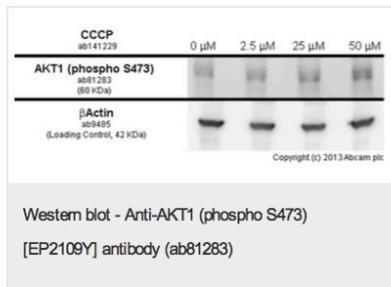


NIH3T3 cells were starved overnight and treated with PDGF 50ng/mL or vehicle control for 1 hour prior to fixation with 4% paraformaldehyde. Levels of total Akt were measured using antibody ab81283 on an infrared in cell ELISA assay platform.



Immunocytochemistry/ Immunofluorescence - Anti-AKT1 (phospho S473) antibody [EP2109Y] (ab81283)

[ab81283](#) staining AKT1 (phospho S473) in PC12 cells treated with galanin (1-29) (rat, mouse) ([ab141153](#)), by ICC/IF. Increase of AKT1 (phospho S473) expression correlates with increased concentration of galanin (1-29) (rat, mouse), as described in literature. The cells were incubated at 37°C for 24h in media containing different concentrations of [ab141153](#) (galanin (1-29) (rat, mouse)) in DMSO, fixed with 4% formaldehyde for 10 minutes at room temperature and blocked with PBS containing 10% goat serum, 0.3 M glycine, 1% BSA and 0.1% tween for 2h at room temperature. Staining of the treated cells with [ab81283](#) (1/100) dilution was performed overnight at 4°C in PBS containing 1% BSA and 0.1% tween. A DyLight 488 anti-rabbit polyclonal antibody ([ab96899](#)) at 1/250 dilution was used as the secondary antibody. Nuclei were counterstained with DAPI and are shown in blue.



Developed using the ECL technique

Performed under reducing conditions.

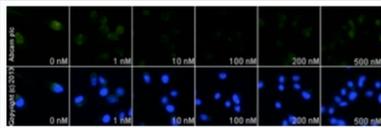
Predicted band size : 56 kDa

Observed band size : 60 kDa

Exposure time : 20 minutes

MCF7 cells were incubated at 37°C for 2 hours with vehicle control (0 μ M) and different concentrations of CCCP (ab 141229). Increased expression of AKT1 (phospho S473) (ab81283) in MCF7 cells correlates with an increase in CCCP concentration, as described in literature.

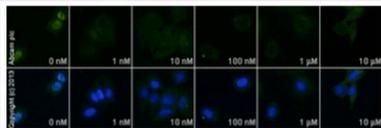
Whole cell lysates were prepared with RIPA buffer (containing protease inhibitors and sodium orthovanadate), 10 μ g of each were loaded on the gel and the WB was run under reducing conditions. After transfer the membrane was blocked for an hour using 5% BSA before being incubated with ab81283 at 2 μ g/ml and ab8227 at 1 μ g/ml overnight at 4°C. Antibody binding was detected using an anti-rabbit antibody conjugated to HRP (ab97051) at 1/10000 and visualised using ECL development solution.



Immunocytochemistry/ Immunofluorescence - Anti-AKT1 (phospho S473) antibody [EP2109Y] (ab81283)

ab81283 staining AKT1 (phospho S473) in PC3 cells treated with CAY10626 (ab120903), by ICC/IF. Decrease of AKT1 (phospho S473) expression correlates with increased concentration of CAY10626, as described in literature.

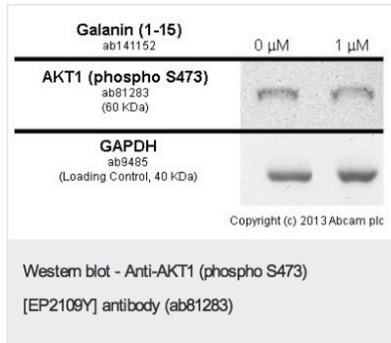
The cells were incubated at 37°C for 24h in media containing different concentrations of ab120903 (CAY10626) in DMSO, fixed with 4% formaldehyde for 10 minutes at room temperature and blocked with PBS containing 10% goat serum, 0.3 M glycine, 1% BSA and 0.1% tween for 2h at room temperature. Staining of the treated cells with ab81283 (1/100) dilution was performed overnight at 4°C in PBS containing 1% BSA and 0.1% tween. A DyLight 488 anti-rabbit polyclonal antibody (ab96899) at 1/250 dilution was used as the secondary antibody. Nuclei were counterstained with DAPI and are shown in blue.



Immunocytochemistry/ Immunofluorescence - Anti-AKT1 (phospho S473) antibody [EP2109Y] (ab81283)

ab81283 staining AKT1 (phospho S473) in MCF7 cells treated with DAPT (ab120633), by ICC/IF. Decrease in expression of AKT1 (phospho S473) correlates with increased concentration of DAPT, as described in literature.

The cells were incubated at 37°C for 24h in media containing different concentrations of ab120633 (DAPT) in DMSO, fixed with 4% formaldehyde for 10 minutes at room temperature and blocked with PBS containing 10% goat serum, 0.3 M glycine, 1% BSA and 0.1% tween for 2h at room temperature. Staining of the treated cells with ab81283 (1/200 dilution) was performed overnight at 4°C in PBS containing 1% BSA and 0.1% tween. A DyLight 488 goat anti-rabbit polyclonal antibody (ab96899) at 1/250 dilution was used as the secondary antibody. Nuclei were counterstained with DAPI and are shown in blue.



Developed using the ECL technique

Performed under reducing conditions.

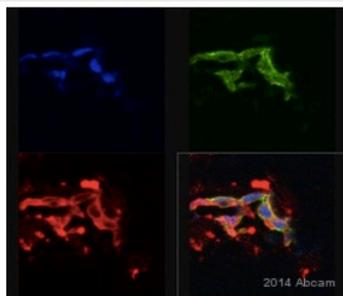
Predicted band size : 56 kDa

Observed band size : 60 kDa

Exposure time : 20 minutes

PC12 cells were incubated at 37°C for 24 hours with vehicle control (0 nM) and 1 μM of Galanin (1-15) (porcine, rat) (ab 141152). Decreased expression of AKT1 (phospho S473) (ab81283) in PC12 cells correlates with an increase in Galanin (1-15) (porcine, rat) concentration, as described in literature.

Whole cell lysates were prepared with RIPA buffer (containing protease inhibitors and sodium orthovanadate), 30 μg of each were loaded on the gel and the WB was run under reducing conditions. After transfer the membrane was blocked for an hour using 3% milk before being incubated with ab81283 at 1 μg/ml and ab8227 at 1 μg/ml overnight at 4°C. Antibody binding was detected using an anti-rabbit antibody conjugated to HRP (ab97051) at 1/10000 and visualised using ECL development solution.



Immunohistochemistry (Frozen sections) - Anti-AKT1 (phospho S473) antibody [EP2109Y] (ab81283)

This image is courtesy of an anonymous Abreview

ab81283 staining AKT1 (phospho S473) in Human peritoneal tumor tissue sections by Immunohistochemistry (IHC-Fr - frozen sections). Tissue was fixed with paraformaldehyde and blocked with 1% BSA for 1 hour at room temperature. Samples were incubated with primary antibody (1/500) for 2 hours. An Alexa Fluor® 647-conjugated Donkey anti-rabbit IgG polyclonal (1/1000) was used as the secondary antibody.

Please note: All products are "FOR RESEARCH USE ONLY AND ARE NOT INTENDED FOR DIAGNOSTIC OR THERAPEUTIC USE"

Our Abpromise to you: Quality guaranteed and expert technical support

- Replacement or refund for products not performing as stated on the datasheet
- Valid for 12 months from date of delivery
- Response to your inquiry within 24 hours

- We provide support in Chinese, English, French, German, Japanese and Spanish
- Extensive multi-media technical resources to help you
- We investigate all quality concerns to ensure our products perform to the highest standards

If the product does not perform as described on this datasheet, we will offer a refund or replacement. For full details of the Abpromise, please visit <http://www.abcam.com/abpromise> or contact our technical team.

Terms and conditions

- Guarantee only valid for products bought direct from Abcam or one of our authorized distributors

Store at -20°C
#2976**Phospho-mTOR (Ser2448) (49F9)
Rabbit mAb (IHC Specific)**

Orders ■ 877-616-CELL (2355)
orders@cellsignal.com

Support ■ 877-678-TECH (8324)
info@cellsignal.com

Web ■ www.cellsignal.com

rev. 01/04/16

For Research Use Only. Not For Use In Diagnostic Procedures.

Applications	Species Cross-Reactivity	Molecular Wt.	Isotype
IHC-P, IHC-F Endogenous	H, (M, R)	289 kDa	Rabbit IgG*

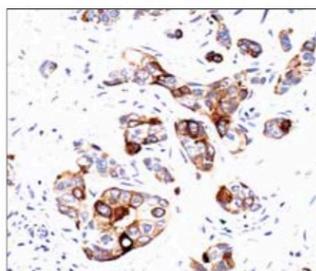
Background: The mammalian target of rapamycin, mTOR, also known as FRAP or RAFT (1-3), is a Ser/Thr protein kinase. mTOR acts as a sensor for ATP and amino acids, balancing the availability of nutrients and cell growth (4,5). When sufficient nutrients are available, mTOR responds to a phosphatidic acid-mediated signal (6), transmits a positive signal to p70 S6 kinase and participates in the inactivation of the eIF4E inhibitor, 4E-BP1. These events result in the translation of specific mRNA subpopulations. mTOR is phosphorylated at Ser2448 via the PI3 kinase/Akt signaling pathway and autophosphorylated at Ser2481 (7,8). mTOR plays a key role in cellular growth and homeostasis and its regulation is frequently altered in tumors. For these reasons, mTOR is currently under investigation as a potential target for anti-cancer therapy (9).

Specificity/Sensitivity: Phospho-mTOR (Ser2448) (49F9) Rabbit mAb detects endogenous levels of mTOR protein only when phosphorylated at Ser2448.

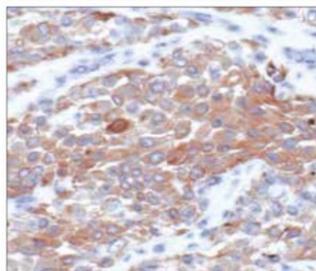
Source/Purification: Monoclonal antibody is produced by immunizing animals with a synthetic phosphopeptide corresponding to residues surrounding Ser2448 of human mTOR.

Background References:

- (1) Sabers, C.J. et al. (1995) *J. Biol. Chem.* 270, 815–822.
- (2) Brown, E.J. et al. (1994) *Nature* 369, 756–758.
- (3) Sabatini, D.M. et al. (1994) *Cell* 78, 35–43.
- (4) Gingras, A.C. et al. (2001) *Genes Dev.* 15, 807–826.
- (5) Dennis, P.B. et al. (2001) *Science* 294, 1102–1105.
- (6) Fang, Y. et al. (2001) *Science* 294, 1942–1945.
- (7) Navé, B.T. et al. (1999) *Biochem. J.* 344 Pt 2, 427–431.
- (8) Peterson, R.T. et al. (2000) *J. Biol. Chem.* 275, 7416–7423.
- (9) Huang, S. and Houghton, P.J. (2003) *Curr. Opin. Pharmacol.* 3, 371–377.



Immunohistochemical analysis of paraffin-embedded human breast carcinoma, using Phospho-mTOR (Ser2448) (49F9) Rabbit mAb (IHC Specific).



Immunohistochemical analysis of frozen H1650 xenograft, showing cytoplasmic localization, using Phospho-mTOR (Ser2448) (49F9) Rabbit mAb (IHC specific).

IMPORTANT: For western blots, incubate membrane with diluted antibody in 5% w/v BSA, 1X TBS, 0.1% Tween®20 at 4°C with gentle shaking, overnight.

Applications Key: W—Western IP—Immunoprecipitation IHC—Immunohistochemistry ChIP—Chromatin Immunoprecipitation IF—Immunofluorescence F—Flow cytometry E-P—ELISA-Peptide

Species Cross-Reactivity Key: H—human M—mouse R—rat Hm—hamster Mk—monkey Mi—mink C—chicken Dm—D. melanogaster X—Xenopus Z—zebrafish B—bovine

Dg—dog Pg—pig Sc—S. cerevisiae Ce—C. elegans Hr—Horse All—all species expected Species enclosed in parentheses are predicted to react based on 100% homology.

Entrez-Gene ID #2475
UniProt ID #P42345

Storage: Supplied in 10 mM sodium HEPES (pH 7.5), 150 mM NaCl, 100 µg/ml BSA, 50% glycerol and less than 0.02% sodium azide. Store at -20°C. Do not aliquot the antibody.

***Anti-rabbit secondary antibodies must be used to detect this antibody.**

Recommended Antibody Dilutions:

Immunohistochemistry (Paraffin) 1:100†
Unmasking buffer: Citrate
Antibody diluent: TBST-5%NGS
Detection reagent: SignalStain® Boost (HRP, Rabbit) #8114

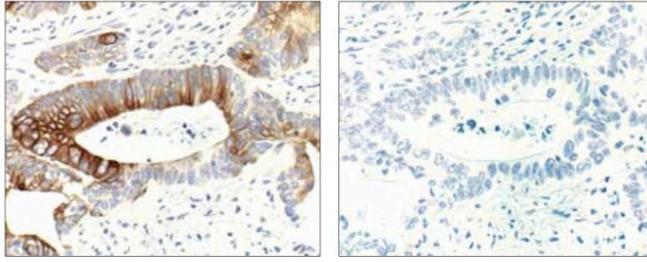
†Optimal IHC dilutions determined using SignalStain® Boost IHC Detection Reagent.

Immunohistochemistry (Frozen) 1:100
Fixative Acetone

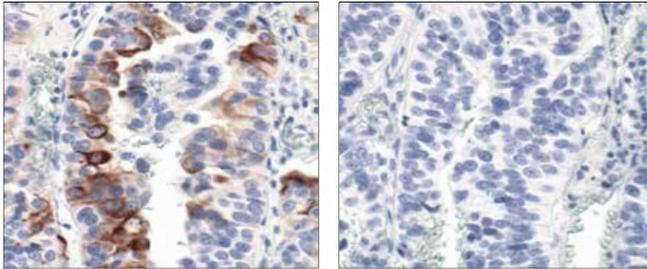
For application specific protocols please see the web page for this product at www.cellsignal.com.

Please visit www.cellsignal.com for a complete listing of recommended companion products.

Tween®20 is a registered trademark of ICI Americas, Inc.



Immunohistochemical analysis of paraffin-embedded human colon carcinoma untreated (left) or λ -phosphatase-treated (right), using Phospho-mTOR (Ser2448) (49F9) Rabbit mAb (IHC Specific).



Immunohistochemical analysis of paraffin-embedded human transitional epithelial carcinoma of the bladder using Phospho-mTOR (Ser2448) (49F9) Rabbit mAb (IHC Specific) in the presence of control peptide (left) or Phospho-mTOR (Ser 2448) Blocking Peptide #1230 (right).

BIBLIOGRAPHIE

1. Histologie de l'appareil urinaire. Université Montpellier 1. Disponible le 15/08/2017 sur : http://www.med.univ-montp1.fr/enseignement/cycle_1/PCEM2/mod-integres/MI4_milieu_interieur/Ressources_locales/histo/MI4_histologie_appareil_urinaire.pdf
2. Le système urinaire. [Image]. Disponible le 15/08/2017 sur : <http://www.isto.ucl.ac.be/safe/urinair1.htm>
3. Cours de Physiologie Rénale. [Image]. Disponible le 15/08/2017 sur : <http://slideplayer.fr/slide/9488266/>
4. NOEL Laure-Hélène. 2008. Atlas de pathologie rénale. Médecine-Sciences Flammarion. Paris. 1011 p.
5. Néphron. [Image]. Disponible le 15/08/2017 sur : <http://knoww.net/fr/sciences-terre-vie/biologie/nephron/>
6. Glomérule rénale. [Image]. Disponible le 15/08/2017 sur : <https://gecni.medixen.fr/images/glomerule-renale>
7. Publication du CUEN. Physiologie et physiopathologie rénales. Disponible le 15/08/2017 sur : <http://cuen.fr/lmd/spip.php?rubrique80>
8. Linda M. Ernst, Eduardo D. Ruchelli, Dale S. Huff. 2011. Color Atlas of Fetal and Neonatal Histology. Springer-Verlag. New York. 399 p.
9. DREWS Ulrich. 1994. Atlas de poche d'embryologie. Médecine-Sciences Flammarion. Paris. 385 p.
10. Embryogénèse - Les ressources en ligne de l'Université de Bordeaux [Image]. Disponible le 15/08/2017 sur : http://apprentoile.u-bordeaux.fr/securite/login.aspx?returnUrl=%2fRessources%2fMedecine%2fDivers%2fAutresRessources%2fWembryo%2fWemb_ico%2fFig027.htm
11. Early system embryology and relationship to developing. [Image]. Disponible le 15/08/2017 sur : https://www.researchgate.net/figure/51833421_fig1_FIGURE-1-Early-GU-system-embryology-and-relationship-to-developing-gynecologic-system
12. T. Yee Khong, Roger D.G. Malcomson. 2015. Keeling's Fetal and neonatal pathology. Springer International Publishing. New York. Cinquième édition. 882 p.
13. Mouse kidney development. [Image]. Disponible le 15/08/2017 sur : <http://www.stembook.org/node/532.html>
14. Néphronogénèse. [Image]. Disponible le 15/08/2017 sur : <https://www.yumpu.com/fr/document/view/17324267/developpement-de-lappareil-urinaire/16>

15. Renal System Development - Embryology. [Image]. Disponible le 15/08/2017 sur : https://embryology.med.unsw.edu.au/embryology/index.php/Renal_System_Development
16. Mathiot A, Liard A, Eurin D, Dacher JN. [Prenatally detected multicystic renal dysplasia and associated anomalies of the genito-urinary tract]. *J Radiol*. 2002 Jun;83(6 Pt 1):731–5.
17. Silva FG. *Non-neoplastic Kidney Diseases*. 1 edition. Washington, DC: American Registry of Pathology; 2005. 721 p.
18. RESERVES IU--TD. Orphanet: Syndrome rein colobome. Disponible le 15/08/2017 sur : http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=1475
19. RESERVES IU--TD. Orphanet: Syndrome de Kallmann. Disponible le 15/08/2017 sur : http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=478
20. Masyuk TV, Masyuk AI, La Russo NF. Therapeutic Targets In Polycystic Liver Disease. *Curr Drug Targets*. 2015 Apr 27;
21. BARDET-BIEDL SYNDROME 6; BBS6 - OMIM Entry - # 605231. Disponible le 15/08/2017 sur : <https://www.omim.org/entry/605231>
22. Slavotinek AM, Stone EM, Mykytyn K, Heckenlively JR, Green JS, Heon E, et al. Mutations in MKKS cause Bardet-Biedl syndrome. *Nat Genet*. 2000 Sep;26(1):15–6.
23. Le spectre des maladies par-mutations de HNF1-TCF2. Disponible le 15/08/2017 sur : <http://www.airg-france.fr/wp-content/uploads/2012/06/Le-spectre-des-maladies-par-mutations-de-HNF-1-TCF2.pdf>
24. Coutte L, Dreyer C, Sablin M-P, Faivre S, Raymond E. [PI3K-AKT-mTOR pathway and cancer]. *Bull Cancer (Paris)*. 2012 Feb 1;99(2):173–80.
25. Brotelle T, Bay J-O. 2016. La voie de signalisation PI3K-AKT-mTOR : description, développement thérapeutique, résistances, marqueurs prédictifs/pronostiques et applications thérapeutiques en cancérologie. Disponible le 15/08/2017 sur : <http://www.em-consulte.com/en/article/1029126>
26. Taha C, Liu Z, Jin J, Al-Hasani H, Sonenberg N, Klip A. Opposite translational control of GLUT1 and GLUT4 glucose transporter mRNAs in response to insulin. Role of mammalian target of rapamycin, protein kinase b, and phosphatidylinositol 3-kinase in GLUT1 mRNA translation. *J Biol Chem*. 1999 Nov 12;274(46):33085–91.
27. Brugarolas J. Renal-cell carcinoma--molecular pathways and therapies. *N Engl J Med*. 2007 Jan 11;356(2):185–7.
28. Gwinn DM, Shackelford DB, Egan DF, Mihaylova MM, Mery A, Vasquez DS, et al. AMPK phosphorylation of raptor mediates a metabolic checkpoint. *Mol Cell*. 2008 Apr 25;30(2):214–26.

29. Kim H-J, Edelstein CL. Mammalian target of rapamycin inhibition in polycystic kidney disease: From bench to bedside. *Kidney Res Clin Pract.* 2012 Sep;31(3):132.
30. Dameron F. [An experimental study of the organogenesis of the lung: the nature and specificity of the epithelio-mesenchymatous interactions]. *J Embryol Exp Morphol.* 1968 Sep;20(2):151–67.
31. Dony C, Gruss P. Specific expression of the Hox 1.3 homeo box gene in murine embryonic structures originating from or induced by the mesoderm. *EMBO J.* 1987 Oct;6(10):2965–75.
32. Land SC, Scott CL, Walker D. mTOR signalling, embryogenesis and the control of lung development. *Semin Cell Dev Biol.* 2014 Dec;36:68–78.
33. Metzger RJ, Klein OD, Martin GR, Krasnow MA. The branching programme of mouse lung development. *Nature.* 2008 Jun 5;453(7196):745–50.
34. Scott CL, Walker DJ, Cwiklinski E, Tait C, Tee AR, Land SC. Control of HIF-1 α and vascular signaling in fetal lung involves cross talk between mTORC1 and the FGF-10/FGFR2b/Spry2 airway branching periodicity clock. *Am J Physiol - Lung Cell Mol Physiol.* 2010 Oct;299(4):L455–71.
35. Kotch LE, Iyer NV, Laughner E, Semenza GL. Defective vascularization of HIF-1 α -null embryos is not associated with VEGF deficiency but with mesenchymal cell death. *Dev Biol.* 1999 May 15;209(2):254–67.
36. Bárdos JI, Ashcroft M. Negative and positive regulation of HIF-1: a complex network. *Biochim Biophys Acta.* 2005 Jul 25;1755(2):107–20.
37. Van Tuyl M, Liu J, Wang J, Kuliszewski M, Tibboel D, Post M. Role of oxygen and vascular development in epithelial branching morphogenesis of the developing mouse lung. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2005 Jan;288(1):L167-178.
38. Land SC. Oxygen-sensing pathways and the development of mammalian gas exchange. *Redox Rep Commun Free Radic Res.* 2003;8(6):325–40.
39. Olver RE, Ramsden CA, Strang LB, Walters DV. The role of amiloride-blockable sodium transport in adrenaline-induced lung liquid reabsorption in the fetal lamb. *J Physiol.* 1986 Jul;376:321–40.
40. Barker PM, Walters DV, Markiewicz M, Strang LB. Development of the lung liquid reabsorptive mechanism in fetal sheep: synergism of triiodothyronine and hydrocortisone. *J Physiol.* 1991 Feb;433:435–49.
41. Mansley MK, Wilson SM. Dysregulation of epithelial Na⁺ absorption induced by inhibition of the kinases TORC1 and TORC2. *Br J Pharmacol.* 2010 Dec;161(8):1778–92.
42. Wilson SM, Olver RE, Walters DV. Developmental regulation of luminal lung fluid and electrolyte transport. *Respir Physiol Neurobiol.* 2007 Dec 15;159(3):247–55.

43. Wang Y, Zhang L, Zhou G, Liao Z, Ahmad H, Liu W, et al. Dietary L-arginine supplementation improves the intestinal development through increasing mucosal Akt and mammalian target of rapamycin signals in intra-uterine growth retarded piglets. *Br J Nutr.* 2012 Oct 28;108(8):1371–81.
44. O'Connor PMJ, Kimball SR, Suryawan A, Bush JA, Nguyen HV, Jefferson LS, et al. Regulation of translation initiation by insulin and amino acids in skeletal muscle of neonatal pigs. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003 Jul;285(1):E40-53.
45. Marc Rhoads J, Wu G. Glutamine, arginine, and leucine signaling in the intestine. *Amino Acids.* 2009 May;37(1):111–22.
46. Kim SW, McPherson RL, Wu G. Dietary arginine supplementation enhances the growth of milk-fed young pigs. *J Nutr.* 2004 Mar;134(3):625–30.
47. Franke TF, Kaplan DR, Cantley LC. PI3K: downstream AKTion blocks apoptosis. *Cell.* 1997 Feb 21;88(4):435–7.
48. Ban H, Shigemitsu K, Yamatsuji T, Haisa M, Nakajo T, Takaoka M, et al. Arginine and Leucine regulate p70 S6 kinase and 4E-BP1 in intestinal epithelial cells. *Int J Mol Med.* 2004 Apr 1;13(4):537–43.
49. Belibi FA, Edelstein CL. Novel targets for the treatment of autosomal dominant polycystic kidney disease. *Expert Opin Investig Drugs.* 2010 Mar;19(3):315–28.
50. LoPiccolo J, Blumenthal GM, Bernstein WB, Dennis PA. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway: effective combinations and clinical considerations. *Drug Resist Updat Rev Comment Antimicrob Anticancer Chemother.* 2008;11(1–2):32.
51. Hudes G, Carducci M, Tomczak P, Dutcher J, Figlin R, Kapoor A, et al. Temsirolimus, interferon alfa, or both for advanced renal-cell carcinoma. *N Engl J Med.* 2007 May 31;356(22):2271–81.
52. Holz MK. The role of S6K1 in ER-positive breast cancer. *Cell Cycle.* 2012 Sep 1;11(17):3159–65.
53. Beaver JA, Park BH. The BOLERO-2 trial: the addition of everolimus to exemestane in the treatment of postmenopausal hormone receptor-positive advanced breast cancer. *Future Oncol Lond Engl.* 2012 Jun;8(6):651–7.
54. Tang J-M, He Q-Y, Guo R-X, Chang X-J. Phosphorylated Akt overexpression and loss of PTEN expression in non-small cell lung cancer confers poor prognosis. *Lung Cancer Amst Neth.* 2006 Feb;51(2):181–91.
55. Rabeyrin Maud-Anne. 2011. Étude du profil mutationnel K-RAS, EGFR, LKB1 et de la transition épithélio-mésenchymateuse dans une série de 22 carcinomes sarcomatoïdes pulmonaires. Thèse de doctorat : médecine. Grenoble : Université Joseph Fourier. Disponible le 15/08/2017 sur : <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-00637301/document>
56. Murakami M, Ichisaka T, Maeda M, Oshiro N, Hara K, Edenhofer F, et al. mTOR is essential for growth and proliferation in early mouse embryos and embryonic stem cells. *Mol Cell Biol.* 2004 Aug;24(15):6710–8.

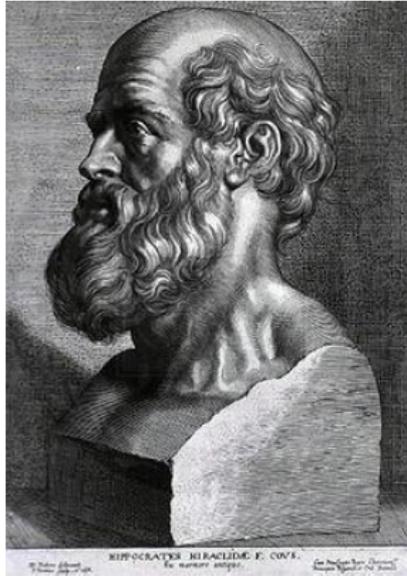
57. Lan A, Du J. Potential role of Akt signaling in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. 2015 Mar;30(3):385–94.
58. Fuentes-Calvo I, Crespo P, Santos E, López-Novoa JM, Martínez-Salgado C. The small GTPase N-Ras regulates extracellular matrix synthesis, proliferation and migration in fibroblasts. *Biochim Biophys Acta*. 2013 Dec;1833(12):2734–44.
59. Jain MV, Jangamreddy JR, Grabarek J, Schweizer F, Klonisch T, Cieślak-Pobuda A, et al. Nuclear localized Akt enhances breast cancer stem-like cells through counter-regulation of p21(Waf1/Cip1) and p27(kip1). *Cell Cycle Georget Tex*. 2015;14(13):2109–20.
60. Hentges KE, Sirry B, Gingeras A-C, Sarbassov D, Sonenberg N, Sabatini D, et al. FRAP/mTOR is required for proliferation and patterning during embryonic development in the mouse. *Proc Natl Acad Sci*. 2001 Nov 20;98(24):13796–801.
61. Costantini F. GDNF/Ret signaling and renal branching morphogenesis: From mesenchymal signals to epithelial cell behaviors. *Organogenesis*. 2010 Dec;6(4):252–62.
62. Porta C, Figlin RA. Phosphatidylinositol-3-kinase/Akt signaling pathway and kidney cancer, and the therapeutic potential of phosphatidylinositol-3-kinase/Akt inhibitors. *J Urol*. 2009 Dec;182(6):2569–77.
63. Boca M, Distefano G, Boletta A, Qian F, Bhunia AK, Germino GG. Polycystin-1 Induces Resistance to Apoptosis through the Phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt Signaling Pathway. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2006 Mar;17(3):637–47.
64. Hager M, Haufe H, Kemmerling R, Hitzl W, Mikuz G, Moser PL, et al. Increased activated Akt expression in renal cell carcinomas and prognosis. *J Cell Mol Med*. 2009 Aug;13(8B):2181–8.
65. Skolarikos AA, Papatsoris AG, Alivizatos G, Deliveliotis C. Molecular pathogenetics of renal cancer. *Am J Nephrol*. 2006;26(3):218–31.
66. Di Cristofano C, Minervini A, Menicagli M, Salintri G, Bertacca G, Pefanis G, et al. Nuclear expression of hypoxia-inducible factor-1alpha in clear cell renal cell carcinoma is involved in tumor progression. *Am J Surg Pathol*. 2007 Dec;31(12):1875–81.
67. Chaux A, Albadine R, Schultz L, Hicks J, Carducci MA, Argani P, et al. Dysregulation of the mammalian target of rapamycin pathway in chromophobe renal cell carcinomas. *Hum Pathol*. 2013 Oct 1;44(10):2323–30.
68. Guertin DA, Sabatini DM. Defining the role of mTOR in cancer. *Cancer Cell*. 2007 Jul;12(1):9–22.
69. Hartman TR, Nicolas E, Klein-Szanto A, Al-Saleem T, Cash TP, Simon MC, et al. The role of the Birt-Hogg-Dubé protein in mTOR activation and renal tumorigenesis. *Oncogene*. 2009 Apr 2;28(13):1594–604.

70. Pal SK, Choueiri TK, Wang K, Khaira D, Karam JA, Van Allen E, et al. Characterization of Clinical Cases of Collecting Duct Carcinoma of the Kidney Assessed by Comprehensive Genomic Profiling. *Eur Urol.* 2016 Sep;70(3):516–21.
71. Wang J, Papanicolau-Sengos A, Chintala S, Wei L, Liu B, Hu Q, et al. Collecting duct carcinoma of the kidney is associated with CDKN2A deletion and SLC family gene up-regulation. *Oncotarget.* 2016 May 24;7(21):29901–15.
72. D.Anglicheau, N.Pallet, D.Joly. 2007. Développements actuels des inhibiteurs de mTOR en néphrologie et en transplantation rénale. Disponible le 15/08/2017 sur : http://www.sfnfdt.org/sn/PDF/enephro/publications/actualites/2007/2007_12.pdf
73. Chatterjee R, Ramos E, Hoffman M, VanWinkle J, Martin DR, Davis TK, et al. Traditional and targeted exome sequencing reveals common, rare and novel functional deleterious variants in RET-signaling complex in a cohort of living US patients with urinary tract malformations. *Hum Genet.* 2012 Nov;131(11):1725–38.
74. Kissane JM. Renal cysts in pediatric patients. A classification and overview. *Pediatr Nephrol Berl Ger.* 1990 Jan;4(1):69–77.
75. Jeanpierre C, Macé G, Parisot M, Morinière V, Pawtowsky A, Benabou M, et al. RET and GDNF mutations are rare in fetuses with renal agenesis or other severe kidney development defects. *J Med Genet.* 2011 Jul;48(7):497–504.
76. Skinner MA, Safford SD, Reeves JG, Jackson ME, Freerman AJ. Renal aplasia in humans is associated with RET mutations. *Am J Hum Genet.* 2008 Feb;82(2):344–51.
77. Jain S. The many faces of RET dysfunction in kidney. *Organogenesis.* 2009;5(4):177–90.
78. Yosypiv IV. Congenital Anomalies of the Kidney and Urinary Tract: A Genetic Disorder? *Int J Nephrol.* 2012;909083 .
79. RESERVES IU--TD. Orphanet: Polykystose rénale autosomique dominante. Disponible le 15/08/2017 sur : http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=730
80. Rossetti S, Consugar MB, Chapman AB, Torres VE, Guay-Woodford LM, Grantham JJ, et al. Comprehensive molecular diagnostics in autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol JASN.* 2007 Jul;18(7):2143–60.
81. Shillingford JM, Murcia NS, Larson CH, Low SH, Hedgepeth R, Brown N, et al. The mTOR pathway is regulated by polycystin-1, and its inhibition reverses renal cystogenesis in polycystic kidney disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006 Apr 4;103(14):5466–71.
82. Kleymenova E, Ibraghimov-Beskrovnaya O, Kugoh H, Everitt J, Xu H, Kiguchi K, et al. Tuberin-dependent membrane localization of polycystin-1: a functional link between polycystic kidney disease and the TSC2 tumor suppressor gene. *Mol Cell.* 2001 Apr;7(4):823–32.

83. Zhou J, Brugarolas J, Parada LF. Loss of Tsc1, but not Pten, in renal tubular cells causes polycystic kidney disease by activating mTORC1. *Hum Mol Genet.* 2009 Nov 15;18(22):4428–41.
84. Shillingford JM, Piontek KB, Germino GG, Weimbs T. Rapamycin Ameliorates PKD Resulting from Conditional Inactivation of Pkd1. *J Am Soc Nephrol JASN.* 2010 Mar;21(3):489–97.
85. Zafar I, Ravichandran K, Belibi FA, Doctor RB, Edelstein CL. Sirolimus attenuates disease progression in an orthologous mouse model of human autosomal dominant polycystic kidney disease. *Kidney Int.* 2010 Oct;78(8):754–61.
86. Walz G. Therapeutic approaches in autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD): is there light at the end of the tunnel? *Nephrol Dial Transplant.* 2006 Jul 1;21(7):1752–7.
87. Serra AL, Poster D, Kistler AD, Krauer F, Raina S, Young J, et al. Sirolimus and kidney growth in autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med.* 2010 Aug 26;363(9):820–9.
88. Walz G, Budde K, Mannaa M, Nürnberger J, Wanner C, Sommerer C, et al. Everolimus in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med.* 2010 Aug 26;363(9):830–40.
89. Wu M, Wahl PR, Le Hir M, Wackerle-Men Y, Wuthrich RP, Serra AL. Everolimus retards cyst growth and preserves kidney function in a rodent model for polycystic kidney disease. *Kidney Blood Press Res.* 2007;30(4):253–9.
90. Peces R, Peces C, Pérez-Dueñas V, Cuesta-López E, Azorín S, Selgas R. Rapamycin reduces kidney volume and delays the loss of renal function in a patient with autosomal-dominant polycystic kidney disease. *NDT Plus.* 2009 Apr;2(2):133–5.
91. Becker JU, Opazo Saez A, Zerres K, Witzke O, Hoyer PF, Schmid KW, et al. The mTOR pathway is activated in human autosomal-recessive polycystic kidney disease. *Kidney Blood Press Res.* 2010;33(2):129–38.
92. Fischer D-C, Jacoby U, Pape L, Ward CJ, Kuwertz-Broeking E, Renken C, et al. Activation of the AKT/mTOR pathway in autosomal recessive polycystic kidney disease (ARPKD). *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 2009 Jun;24(6):1819–27.
93. Warner G, Hein KZ, Nin V, Edwards M, Chini CCS, Hopp K, et al. Food Restriction Ameliorates the Development of Polycystic Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol JASN.* 2016 May;27(5):1437–47.
94. Cardenas-Rodriguez M, Irigoien F, Osborn DPS, Gascue C, Katsanis N, Beales PL, et al. The Bardet-Biedl syndrome-related protein CCDC28B modulates mTORC2 function and interacts with SIN1 to control cilia length independently of the mTOR complex. *Hum Mol Genet.* 2013 Oct 15;22(20):4031–42.
95. Yu D-D, Guo S-W, Jing Y-Y, Dong Y-L, Wei L-X. A review on hepatocyte nuclear factor-1beta and tumor. *Cell Biosci.* 2015;5:58.

96. Nakanishi K, Yoshikawa N. Genetic disorders of human congenital anomalies of the kidney and urinary tract (CAKUT). *Pediatr Int Off J Jpn Pediatr Soc.* 2003 Oct;45(5):610–6.

SERMENT D'HIPPOCRATE



SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'HIPPOCRATE,

Je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerais mes soins gratuitement à l'indigent et n'exigerais jamais un salaire au dessus de mon travail. Je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admis dans l'intimité des maisons, mes yeux n'y verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.