

République Algérienne Démocratique Et Populaire
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
Ministère De L'enseignement Supérieure Et De Recherche Scientifique
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Université M'Hamed Bougera De Boumerdes
جامعة محمد بوقرة بومرداس



Faculté Des Sciences
Département de Biologie
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Biotechnologie
Spécialité : Biotechnologies et Pathologies Moléculaires
Mémoire de projet de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de MASTER
Thème

**Etude d'éventuelle association entre un polymorphisme génétique du
gène *eNOS* et l'insuffisance rénale**

Présenté par :

Melle **BOUCHEBRI Lynda** & Melle **DAGHBOUDJ Ibtihel**

Soutenu publiquement le 19 septembre 2024 devant le jury composé de :

Mr ZERGOUN A.A.
Mme CHAABANE I.
Mme AYATI H.
Mme BOULDJENNET F.

MCA (FSB/UMBB)
MAA (FSB/UMBB)
MAA (FSB/UMBB)
MCB (FSB/USTHB)

Président.
Examinatrice.
Promotrice.
Co-promotrice.

2023/2024

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions Allah, le Tout-Puissant, pour Sa guidance, Sa miséricorde et la force qu'Il nous a accordée tout au long de ce parcours.

*Toutes nos reconnaissances et gratitudes à notre promotrice Mme **AYATI H.** maître assistante classe A à l'université M'Hamed Bouggara de Boumerdes, Pour son suivi tout au long de ce travail, son aide précieuse, ses précieux conseils et ses orientations.*

*Nous tenons à remercier vivement notre Co-promotrice Mme **BOULDJENNET. F** maître de conférences classe B à l'université des sciences et de la technologie Houari Boumediene (USTHB) pour ses précieuses remarques son aide et ses orientations.*

Nous adressons nous sincères remerciements aussi aux membres de jury

*Mr **ZERGOUN.A.A.** maître de conférences classe A à l'université M'Hamed Bouggara de Boumerdes d'avoir accepté de présider notre jury et d'apporter son expertise qui va enrichir notre mémoire.*

*Mme **CHAABANNE I.** Maître assistante classe A à l'université M'Hamed Bouggara de Boumerdes Pour l'honneur et le temps qu'elle a consacré pour l'examination de notre mémoire, ses remarques pertinentes vont grandement contribuer à l'amélioration de notre travail.*

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à Mr **BAOUALI. S,** chef de service d'hémodialyse à l'hôpital de Bordj Menaiel, pour l'incalculable soutien apporté dans la collecte des échantillons.*

Nous remercions toute personne qui a participé de près ou loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Dédicace

*Je dédie ce travail à ma famille, source inépuisable de soutien et d'amour, en particulier à **mes parents** pour leur encouragement indéfectible, ainsi qu'à **mes frères** et ma sœur **IKBEL** pour leur présence constante à mes côtés.*

*À mon cher oncle maternel **Sofiane**, Je tiens à exprimer toute ma gratitude et mon affection pour ton soutien inconditionnel tout au long de mon parcours. Ton encouragement constant et ta sagesse m'ont aidé à surmonter les moments difficiles
Merci du fond du cœur.*

*À mes amis proches, **Dihia, Sonia et Ikram** merci pour votre compréhension, votre patience et votre amitié précieuse tout au long de ce parcours.*

Que cette réalisation soit aussi la vôtre.

*À ma binôme, **Lynda**, merci pour ta collaboration, ton soutien et ton engagement tout au long de ce parcours. Ce travail est aussi le fruit de notre effort commun*

Ibtihel

Dédicace

Je dédie mon travail à mes chers parents qui ont toujours crus en moi, encouragée et soutenue à chaque étape à chaque échelon gravit et qui ont mis tous les moyens nécessaires à ma disposition pour que je réussisse dans mes études, depuis le début vous êtes la raison de ma détermination

A mon frère **Samir**, ma petite sœur **Yasmine** pour avoir été patiente avec moi.

A un ami qui m'a toujours aidé et encouragé à avancer dans mes moments faibles du début à la fin de l'année ; merci beaucoup pour votre patience.

A mon oncle Hamid et sa femme Sarah qu'il mont toujours encouragé.

Et bien sûr à toute ma famille

A notre professeur madame Ayati, qui nous a toujours guidés, aidés et toujours à nos côtés, tout le mérite de ce mémoire lui revient

A ma binôme **Ibtihel** j'ai dit « Nous avons été très soudées tout au long de cette année et j'espère que cette entente perdure ».

Et sans oublier mes chers amies **Sarah** et **Hafida**

A toutes les personnes malades en particulier pour les insuffisant rénaux surtout d'hôpital de Bordj Menail

Et enfin à toutes personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Lynda

Sommaire

Introduction	01
I. Rappels bibliographiques	
1. Anatomie et physiologie du rein.....	02
1.1. Anatomie du rein.....	02
a. Structure macroscopique.....	02
b. Structure microscopique.....	03
1.2. Les principales fonctions du rein.....	05
1.2.1. La fonction exocrine.....	05
a. La filtration glomérulaire.....	05
b. Réabsorption tubulaire.....	06
c. Sécrétion tubulaire.....	06
1.2.2. La fonction endocrine.....	07
1.2.3. Fonctions métaboliques.....	07
2. L'insuffisance rénale.....	07
2.1. Les différents types d'insuffisance rénale.....	07
2.1.1. Insuffisance rénale aiguë.....	07
a. Etiologie.....	08
b. Symptômes.....	08
2.1.2. Insuffisance rénale chronique (IRC).....	08
a. Epidémiologie de l'insuffisance rénale chronique (IRC).....	09
2.1.3. Evaluation de la fonction rénale.....	09
2.1.4. Les différents stades d'insuffisance rénale chronique.....	11
2.1.5. Diagnostic.....	15
a. Symptômes de l'insuffisance rénale chronique.....	15
2.1.6. Facteurs de risque de l'insuffisance rénal chronique.....	15
a. Facteurs généraux.....	15

a.1. Le diabète.....	15
a.2. L'hypertension artérielle.....	16
a.3. Les glomérulonéphrites primaires (ou primitives).....	16
a. 4. La pyélonéphrite.....	16
a. 5. Les anomalies congénitales.....	16
a. 6. L'obésité.....	16
a .7. Le sexe.....	17
a. 8. L'âge.....	17
a.9. Le tabac.....	17
b. Facteurs génétiques.....	17
b.1.Polykystose rénale.....	17
b.2. Le syndrome d'Alport.....	17
2.1.7. Mode de vie des patients de l'IRC.....	17
2.1.8. Complications de l'IRC.....	18
2.1.9. Traitement de l'insuffisance rénale chronique et de ces pathologies associées.....	18
3. Le monoxyde d'azote (NO).....	22
3.1. Généralité.....	22
3.2. Biosynthèse du NO.....	22
3.3. Mode d'action du NO.....	23
3.4. Structure des enzymes NO synthases.....	23
a. NO synthase mitochondriale (mtNOS).....	24
b. NO synthase neuronale (nNOS).....	24
c. NO synthase inductible (iNOS).....	25
d. NO synthase endothélial (eNOS).....	25
3.5. Polymorphismes génétique du gène <i>eNOS</i>	26
3.6. Implication du polymorphisme du gène <i>eNOS</i> dans l'insuffisance rénale.....	28

II .Matériel et méthodes

Echantillonnage

1. Population d'étude.....	26
a. Critères d'inclusions et d'exclusions.....	26
2. Population témoins.....	26
3. Etude génétique.....	26
a. Prélèvement sanguin.....	26
b. Extraction de l'ADN (technique <i>salting out</i>).....	27
b.1. La lyse des globules rouges.....	27
b.2. La lyse des globules blancs.....	27
b.3. Précipitation de l'ADN.....	28
b.4. Qualité et quantification de l'ADN.....	28
b.4.1. Dosage spectrophotométrie de l'ADN.....	28
b.4.2. Electrophorèse de l'ADN génomique.....	28
4. Analyse du polymorphisme VNTR du gène <i>eNOS</i> par PCR.....	29
a. Amplification de l'ADN génomique (ADNg) par PCR.....	29
b. Visualisation des produits PCR par l'électrophorèse.....	30
c. Interprétation des résultats obtenus après l'électrophorèse.....	30
5. Etude statistique.....	31

III . Résultats et discussion

1. Caractéristiques générales de la population.....	32
a. Stratification des patients selon l'âge et le sexe.....	32
b. Stratification des patients selon le sexe.....	33
2. Comparaison des facteurs de risques de l'IRC	34
3. Résultats de l'analyse génétique.....	36
a. Evaluation de la qualité d'ADN extrait et sa concentration par spectrophotométrie.....	36

b. Contrôle de qualité d'ADN génomique par électrophorèse sur gel d'agarose à 0,8%.....	36
c. Profils électrophorétiques des amplicons.....	37
4. Comparaison des distributions alléliques et génotypiques.....	39

Conclusion et perspectives

Références

Annexes

Résumé

Liste de figures

Figure 01 : Coupe longitudinale du rein.....	03
Figure 02 : Structure d'un néphron	04
Figure 03 : Composition du néphron	05
Figure 04 : Vue d'ensemble des fonctions du néphron	06
Figure 05 : Schéma illustrant de façon générale le principe d'hémodialyse.....	18
Figure 06 : Le générateur et le principe d'hémodialyse	18
Figure 07 : Principe de la dialyse péritonéale	18
Figure 08 : Synthèse du NO.....	20
Figure 09 : Structure et fonctionnement générale des NOS.....	21
Figure 10 : Illustration du gène codant pour la synthèse du <i>eNOS</i>	22
Figure 11 : Un aperçu des polymorphismes de <i>NOS3</i>	23
Figure 12 : Fonctionnement du polymorphisme VNTR 4b/4a	24
Figure 13 : La voie NOS et les effets potentiels du NO sur les fonctions cardiovasculaires, rénales et métaboliques.....	25
Figure 14 : Représentation du nombre de patients en fonction de l'âge au diagnostic de la néphropathie.....	32
Figure 15 : Répartition des patients selon le sexe.....	34
Figure 16 : Profil de migration électrophorétique de l'ADN extrait par technique de <i>salting out</i> sur gel d'agarose à 0,8%.....	37
Figure 17 : profil d'électrophorèse des produits d'amplification des patients sur un gel d'agarose à 2,5%.....	38
Figure 18 : profil d'électrophorèse des produits d'amplification des témoins sur un gel d'agarose à 2.5%.....	38

Liste des tableaux

Tableau I: Classifications internationale des stades de l'insuffisance rénale chronique.....	11
Tableau II: Répartition des patients et témoins selon les facteurs de risques.....	34
Tableau III : Distribution allélique et génotypique du VNTR (4a/b) du gène <i>eNOS</i> dans la population d'étude.....	39

Liste des abréviations

AA : Acides aminés

ADMA : Diméthylarginine asymétrique

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ADPKD : polykystose rénale autosomique dominante

APOL1 : Apolipoprotéine L1.

ADH : Antidiurétique Hormone.

BET : Bromure d'ethidium

BH4 : Tétrahydrobiopterin

Ca²⁺ : Calcium

CKD-EPI : Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration

Clcr : Clairance de la Créatinine

DFG : Débit de Filtration Glomérulaire

dNTPs : Désoxyribonucléotides Triphosphates

DO : Densité Optique

DP : Dialyse Péritonéale

EDTA : Ethylenediaminetetraacetic Acid

eNOS : Nitric Oxide Synthase endothéliale

FMN: Flavine Mononucléotide.

FAD: Flavine Adénine Dinucléotide

EPO: Érythropoïétine

Glu298Asp : Glutamine 298 Aspartate

GMPc : Guanosine Monophosphate Cyclique

GTP : Guanosine Triphosphate

HTA : Hypertension Artérielle

IMC : Indice de Masse Corporelle

IRCT : Insuffisance Rénale Chronique Terminale

IRC : Insuffisance Rénale Chronique

IRA : Insuffisance Rénale Aiguë

iNOS : inductible Nitrique Oxyde Synthase

IgA : Immunoglobuline A

K⁺ : Potassium

KDa: Kilodalton

MgCl₂ : Chlorure de Magnésium

MRC : Maladie Rénale Chronique

MDRD : Modification of Diet in Renal Disease

mtNOS: Mitochondrial Nitric oxide synthase

NaCl : Chlorure de Sodium

NADPH : β-Nicotinamide Adénine Dinucléotide Réduit

ND : néphropathie diabétique

NO : Oxyde nitrique

NOS : NO Synthase

NOS3 : Nitric Oxide Synthase 3

nNOS : Neuronal Nitrique Oxide Synthase

ONOO⁻ : Peroxynitrite

O₂⁻ : anion superoxyde

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PCR : Polymerase Chain Reaction (Réaction de Polymérisation en Chaîne)

PO₄³⁻ : Phosphate

PK : Proteinase K

PKG : Protéine Kinase G

PKD :Polycystic Kidney Disease.

PTH : Parathormone

Pb : Paires de Bases

SLB : Solution de Lyse des Globules Blancs

SDS : Sodium Dodecyl Sulfate

SRAA : Système Rénine-Angiotensine-Aldostérone

SLR : Solution de Lyse des Globules Rouges

SR: Sex Ratio

siARN: Small interfering RNA

TE : Tris-EDTA

TBE : Tris-Borate-EDTA

VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor.

VNTR : Variable Number Tandem Repeats (Répétitions en Tandem de Nombre Variable)

Vit D : Vitamine D

INTRODUCTION
GENERALE

L'insuffisance rénale (IR) est une pathologie courante et en particulier l'IR chronique (IRC) est devenue un véritable problème de santé publique. Un dysfonctionnement transitoire et réversible est caractéristique d'une insuffisance rénale aiguë (IRA), tandis que lorsqu'il est irréversible et installé depuis plus de trois mois, il est question d'insuffisance rénale chronique (Malbos et al., 2021). C'est une affection progressive caractérisée par des changements structurels et fonctionnels des reins dus à diverses causes. Les patients atteints d'une insuffisance rénale terminale présentent une morbidité et une mortalité considérablement accrues. (Kalantar-Zadeh et al., 2021).

Environ 10 % des adultes dans le monde souffrent de différentes formes de cette maladie, ce qui cause 1,2 million de décès et entraîne 28 millions d'années de vie perdues chaque année. (Kalantar-Zadeh et al., 2021). En général, la prévalence de la maladie rénale chronique augmente avec l'âge et, dans les pays à revenu élevé, elle est plus courante chez les personnes atteintes d'obésité, de diabète et d'hypertension (Kalantar-Zadeh et al., 2021).

L'oxyde nitrique (NO) dérivé des cellules endothéliales est étroitement lié au maintien du tonus vasculaire physiologique. L'altération de la production de NO endothélial provoquée par le polymorphisme génétique est considérée comme le principal facteur de détérioration de la maladie rénale progressive.

La présente étude vise à élucider le polymorphisme du nombre de répétition en tandem de 27pb du gène de la synthase endothéliale de NO (eNOS) chez les patients atteints d'insuffisance rénale terminale (IRT) et son rôle en tant que facteur prédisposant à l'insuffisance rénale.

Le VNTR 4a/4b gène eNOS a été déterminé par réaction en chaîne par polymérase, chez les patients atteints d'IRT et comparé à celui d'individus sains non apparentés

Pour atteindre notre objectif, nous avons structuré notre travail en deux parties. La première est consacrée à une synthèse bibliographique, où nous abordons les généralités sur le rein et la physiopathologie de l'insuffisance rénal, ainsi que les données concernant le polymorphisme de l'oxyde nitrique et son rôle dans le développement de cette pathologie.

La seconde partie présente la méthodologie employée pour la réalisation de l'étude. Les résultats obtenus ainsi que leur discussion sont développés dans le dernier chapitre. Enfin, nous concluons notre étude en proposant des perspectives pour de futures recherches.

Rappels
bibliographiques

1. Anatomie et physiologie du rein

1.1. Anatomie du rein

Le système urinaire est formé de deux reins, de deux uretères, d'une vessie et d'un urètre (Sanders et Scion, 2007).

Le rein est l'un des organes les plus complexes et les plus organisés du corps humain. Cet organe contient environ un million d'unités fonctionnelles appelées néphrons qui sont responsables de la filtration du sang. (LIAO *et al.*, 2020). C'est deux organes en forme d'haricot, situés dans la cavité abdominale supérieure de chaque côté de la colonne vertébrale, derrière le péritoine (rétropéritonéale). (Scanlon et Sanders, 2007). Ils jouent un rôle vital dans l'excrétion des déchets et des toxines tels que l'urée, la créatinine et l'acide urique, dans la régulation du volume de liquide extracellulaire, dans l'osmolarité sérique et les concentrations d'électrolytes, ainsi que dans la production d'hormones comme l'érythropoïétine et la vitamine D et rénine (GOUNDEN *et al.*, 2018).

a. Structure macroscopique

Chez l'adulte, le rein normal mesure de 10 à 12 cm de long, de 5 à 7 cm de large et 3 cm d'épaisseur et sa masse est de 135 à 150 g. (Cormier et Valeri, 2021).

Le bord concave et médial de chaque rein fait face à la colonne vertébrale. Près du centre du bord concave du rein, se trouve une échancrure verticale profonde, appelée hile rénal, par laquelle l'uretère, tout comme les vaisseaux sanguins et lymphatiques et les nerfs, quitte le rein. (Tortora et Derrickson, 2007).

Trois couches de tissus enveloppent chaque rein : (Tortora et Derrickson, 2007) :

- **La couche profonde** : nommée capsule fibreuse, c'est un feuillet lisse et transparent de tissu conjonctif dense et irrégulier, situé dans le prolongement de la couche externe d l'uretère. Elle sert de protection contre les traumatismes et contribue à maintenir la forme du rein.
- **La couche intermédiaire** : appelée capsule adipeuse, c'est une masse de tissu adipeux qui entoure la capsule fibreuse. Elle protège aussi le rein contre les traumatismes et le tient fermement en place dans la cavité abdominale.
- **La couche superficielle** : nommée fascia rénal, est aussi une fine couche de tissu conjonctif dense irrégulier, qui attache le rein aux structures avoisinantes et à la paroi abdominale. Sur la face antérieure du rein, le fascia rénal se trouve derrière le péritoine.

Une coupe frontale du rein révèle trois parties distinctes : le cortex, la médulla et le pelvis (Fig. 1).

- **Cortex rénal** : c'est la partie la plus externe, pâle et granuleuse. Elle recouvre la médulla rénale. Il est de couleur rougeâtre et de consistance friable, mesure 1cm d'épaisseur entre la base des pyramides rénales et la capsule. Le cortex rénal est constitué d'une portion contournée qui constitue le cortex superficiel au contact de la capsule et d'une portion radiée située au contact de la base des pyramides rénales (Elaine et Katja, 2015).

- **Médulla rénale** : Elle présente des masses de tissu coniques appelées pyramides rénales, ou Pyramides de Malpighi. La base de chaque pyramide est orientée vers le cortex, tandis que sa pointe, ou papille rénale est tournée vers l'intérieur du rein. Les pyramides semblent parcourues des rayures, car elles sont presque entièrement formées de faisceaux de tubules et de capillaires microscopiques parallèles. Les colonnes rénales ou de Bertin sont des prolongements du tissu cortical qui séparent les pyramides. Chaque pyramide rénale constitue avec le tissu cortical qui l'entoure un lobe rénal, les lobes rénaux sont au nombre de 8 à 18 par rein. (Elaine et Katja, 2015).

- **Pelvis rénal (ou bassinnet)** : est un tube en forme d'entonnoir qui communique avec l'uretère. Il se prolonge vers l'intérieur du rein par deux ou trois calices rénaux majeurs qui se ramifient chacun à leur tour en deux ou trois calices rénaux mineurs (Elaine et Katja, 2015).

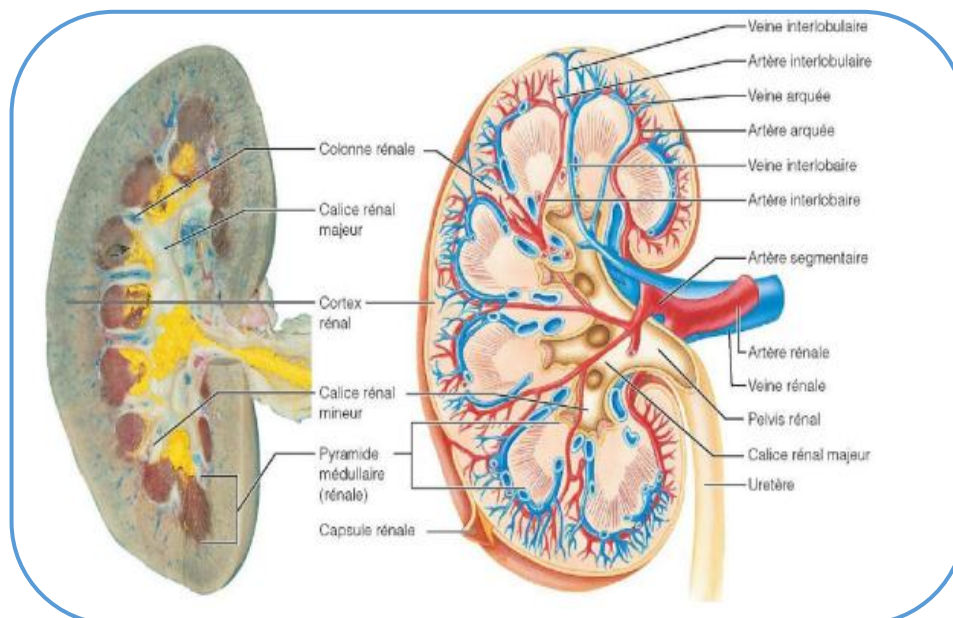


Figure 01 : Coupe longitudinale du rein (Derrickson et Tortora, 2016).

b. Structure microscopique

Le néphron est défini comme l'unité structurelle et fonctionnelle du rein. Chaque rein est composé de 1 à 1,3 million de néphrons. Chaque néphron comprend deux parties principales : un corpuscule de Malpighi et les tubules urinaires. (Sembulingam et Sembulingam, 2012 ; Scanlon et Sanders, 2007). (Fig.2).

Le nombre de néphrons peut varier selon l'âge et l'état de santé, mais leur nombre à la naissance est déterminé au cours de l'organogenèse rénale. Les maladies rénales sont associées à une perte irréversible de néphrons (KHOSHDEL-Rad *et al.*, 2022).

- **Le corpuscule de Malpighi** (corpuscule rénal) : composé de glomérule, des capillaires qui naissent d'une artériole afférente et se résolvent en une artériole efférente et une capsule de Bowman qui est une enveloppe épithéliale coiffant le peloton vasculaire.

- **Les tubules urinaires**, qui contiennent plusieurs segments ; le tubule proximal, l'anse de Henlé (l'anse médullaire), le tubule distal et le tubule connecteur ; ils permettent de transporter le liquide filtré du glomérule vers le tube collecteur et aussi la réabsorption et la sécrétion de certaines molécules (Moulin *et al.*, 2018).

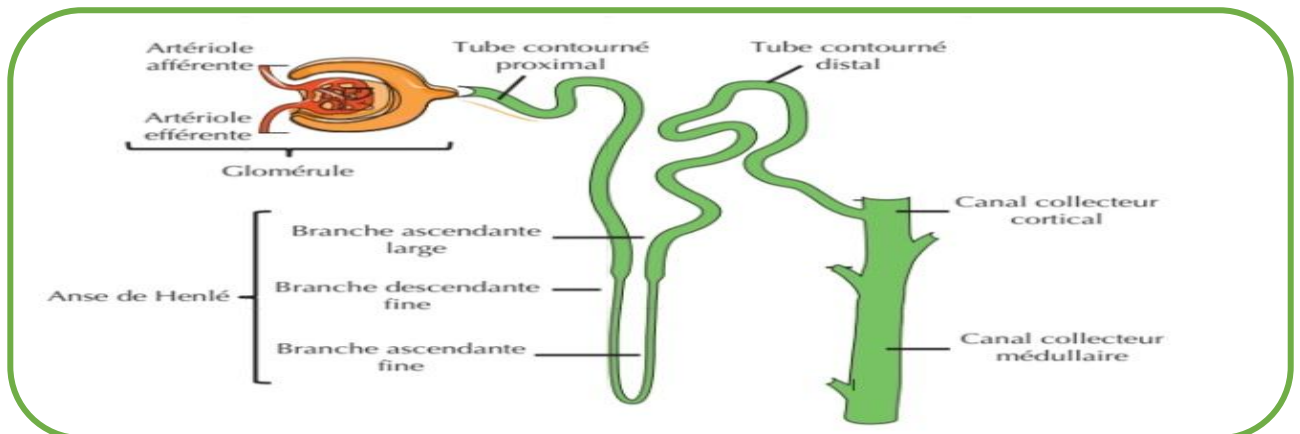


Figure 02 : Structure d'un néphron (Gueutin *et al.*, 2011).

Typiquement le néphron est classé en deux principaux groupes : les néphrons corticaux et les néphrons juxtaglomérulaires : (Ghomrani, 2017). (Fig.3).

-**Néphrons corticaux** : Représentent environ 85% des néphrons rénaux. À l'exception d'une petite partie de leurs anses qui pénètrent dans la médulla rénale externe, ces néphrons résident entièrement dans le cortex rénal.

-**Néphrons juxtaglomérulaires** : Ils sont localisés près de la jonction entre le cortex et la médulla rénale et jouent un rôle crucial dans la capacité des reins à produire de l'urine concentrée. Leurs anses longues s'enfoncent profondément dans la médulla rénale et leurs segments ascendants comprennent à la fois des segments grêles et des segments larges.

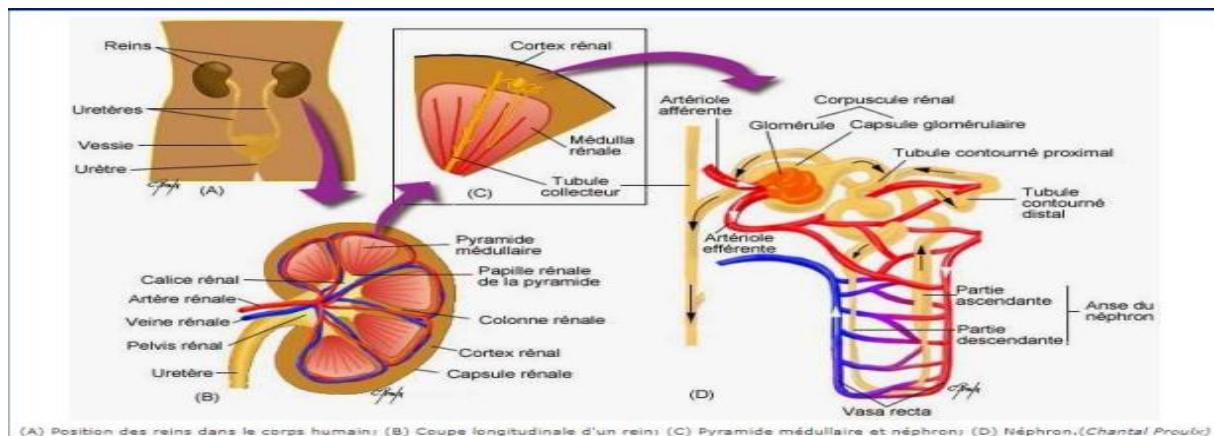


Figure 03 : Composition du néphron (Elaine et Katja, 2015).

a : position des reins dans le corps humain **B** : coupe longitudinale d'un rein **C** : pyramide médullaire et néphrons **D** : néphron

1.2. Les principales fonctions du rein

1.2.1. La fonction exocrine

La fonction principale du rein est de réguler la composition des liquides corporels et d'éliminer les produits cataboliques qui dérivent du métabolisme de tout l'organisme. Pour assumer cette tâche vitale, le rein reçoit environ 20-25% du sang pompé par le cœur en une minute, c'est à dire du débit cardiaque. Cette quantité correspond à environ 1000-1500 ml/min de sang. **(Catizone, 1999)**.

Le rein n'utilise qu'une petite partie de cette quantité pour ses besoins métaboliques, comme le prouve la différence minime de contenu en oxygène entre le sang artériel qui arrive au rein et le sang veineux qui en sort. Le sang afflue donc au rein en grande quantité pour être épuré. L'urine se forme au moyen de trois procédés : La filtration glomérulaire, la réabsorption tubulaire d'eau et de solutés et la sécrétion tubulaire de certains solutés. **(Catizone, 1999)**. **(Fig.4)**.

Le principe de cette fonction est de filtrer le plasma, de le modifier de façon sélective afin de récupérer les substances nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme et d'éliminer les substances indésirables ou en excès. **(Gougoux, 2009)**.

a. La filtration glomérulaire

La filtration glomérulaire est la première étape de l'élaboration de l'urine par les reins. C'est un processus passif. Le sang artériel qui pénètre les reins par l'artère rénale passe par l'artéριοle afférente pour finir par rejoindre l'unité élémentaire de la machinerie rénale : le glomérule. Le sang est filtré par un phénomène osmotique à travers la paroi vasculaire et la capsule de Bowman. **(Thervet, 2017)**. C'est une filtration peu sélective. Tous les éléments plasmatiques, eau, substances dissoutes (sauf les éléments figurés du sang et les grosses molécules) diffusent pour former l'urine primitive. Cette filtration est sous la dépendance de la tension artérielle car la pression de filtration est en fonction de la pression exercée sur les parois de la capsule par la pression artérielle. Lorsque la pression artérielle est élevée, le débit de filtration augmente (la diurèse est plus importante) et inversement lorsque la pression artérielle diminue, le débit de filtration diminue (la diurèse diminue). Le débit urinaire du glomérule est de 180 litres par jour **(Thervet, 2017)**.

b. Réabsorption tubulaire

La réabsorption tubulaire est le processus par lequel l'eau et d'autres substances sont transportées des tubules rénaux vers le sang. Lorsque le filtrat glomérulaire traverse la partie tubulaire du néphron, des changements quantitatifs et qualitatifs se produisent. Une grande quantité d'eau (plus de 99 %), d'électrolytes et d'autres substances sont réabsorbées par les cellules épithéliales tubulaires. Les substances réabsorbées se déplacent vers le liquide interstitiel de la médulla rénale. Et, de là, les substances se déplacent vers le sang dans les capillaires péri tubulaires.

Les substances sont réabsorbées dans le sang à partir du filtrat glomérulaire, l'ensemble du processus est appelé réabsorption tubulaire. **(Sembulingam et Sembulingam, 2012)**.

c. Sécrétion tubulaire

La sécrétion tubulaire est le processus par lequel les substances sont transportées du sang vers les tubules rénaux. On l'appelle également excrétion tubulaire. En plus de la réabsorption à partir des tubules rénaux, certaines substances sont également sécrétées dans la lumière des capillaires péri tubulaires par l'intermédiaire des cellules épithéliales tubulaires.

Le colorant rouge phénol a été la première substance dont la sécrétion dans les tubules rénaux a été observée dans des conditions expérimentales. Par la suite, de nombreuses autres substances ont été sécrétées. **(Sembulingam et Sembulingam, 2012)**

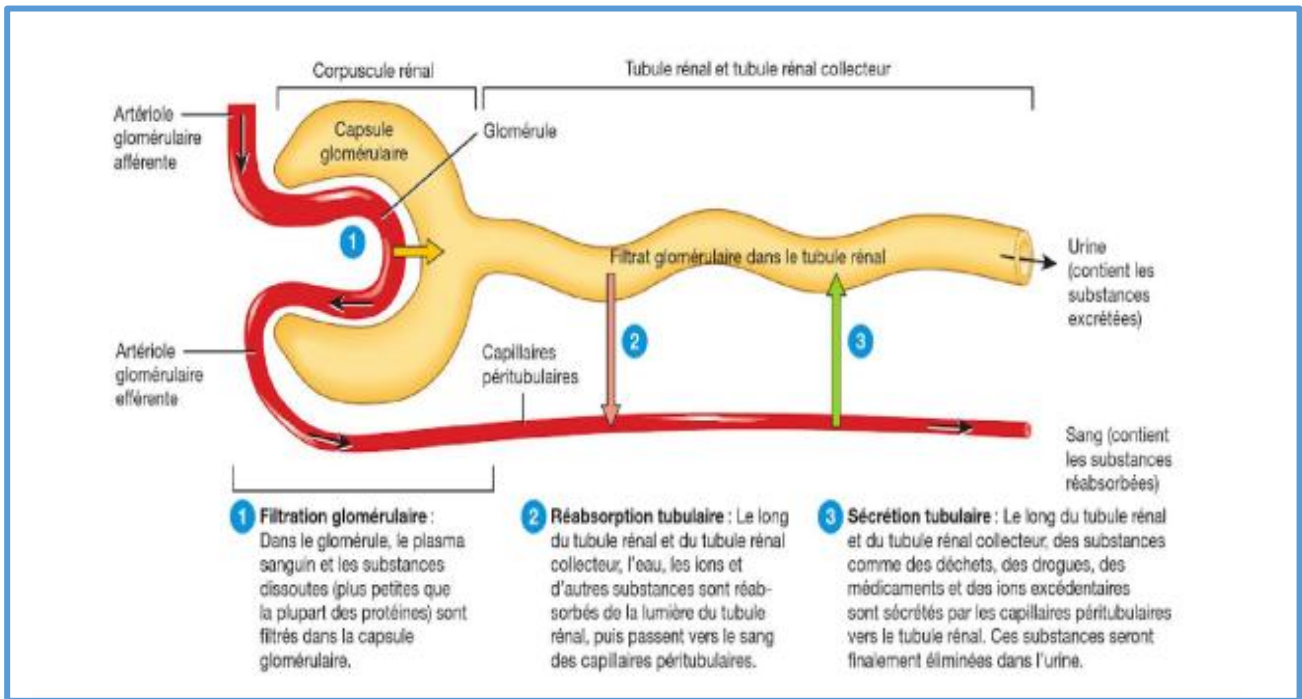


Figure 04 : Vue d'ensemble des fonctions du néphron (Derrickson et Tortora, 2016).

1.2.2. La fonction endocrine

Comprend la sécrétion de plusieurs hormones essentielles tel que :

- **Érythropoïétine (EPO) :** Elle stimule la production de globules rouges dans la moelle osseuse en réponse à une hypoxie (faible concentration d'oxygène dans le sang) pour compenser la baisse d'oxygène sanguin. (Bessagnet et Desmoulière, 2020).
- **La thrombopoïétine :** Est une glycoprotéine sécrétée par les reins et le foie. Elle stimule la production de plaquettes. (Sembulingam et Sembulingam, 2012).
- **La Vitamine D :** La vitamine D activée joue un rôle important dans le maintien du taux de calcium dans le sang. Elle agit sur l'épithélium intestinal et augmente l'absorption du calcium de l'intestin vers le sang. (Sembulingam et Sembulingam, 2012).
- **La rénine :** elle fait partie du système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA) qui régule la pression artérielle. (Bessagnet et Desmoulière, 2020).

1.2.2. Fonctions métaboliques

Le rein joue un rôle dans l'homéostasie glucidique et ce par un processus de néoglucogenèse à partir des acides aminés. La production rénale peut atteindre jusqu'à 70% du glucose total synthétisé. Cette implication montre l'étroite réciprocity avec les autres organes en particulier le foie (Ichai *et al.*, 2011).

2. L'insuffisance rénale

L'insuffisance rénale se caractérise par la détérioration partielle ou complète de la fonction rénale. Elle entraîne une diminution des capacités du rein à éliminer les déchets métaboliques et l'eau ainsi que des perturbations dans tous les systèmes de l'organisme. **(Boubchir, 2014)**. Un dysfonctionnement transitoire et réversible est caractéristique d'une insuffisance rénale aiguë (IRA), tandis que l'insuffisance rénale chronique (IRC) se manifeste par une diminution prolongée, souvent définitive, des fonctions rénales exocrines et endocrines **(Malbos *et al.*, 2021)**.

2.1. Les différents types d'insuffisance rénale

2.1.1. Insuffisance rénale aiguë

Une insuffisance rénale aiguë (IRA) est définie par une élévation soudaine de la créatinine sérique pouvant engager le pronostic vital à court terme. Cette situation clinique correspond donc à une diminution brutale de l'épuration rénale et débit de filtration glomérulaire (DFG) avec accumulation de toxines « urémiques » et de produits azotés (urée, créatinine, acide urique) provoquant une altération des fonctions de l'organisme se mettant en place sur une durée maximale de 7 jours **(Orieux *et al.*, 2022 ; De la Fuente *et al.*, 2014)**.

L'insuffisance rénale aiguës est divisées en IRA fonctionnelle ou pré-rénale, organique ou parenchymateuse et obstructive ou post-rénale **(Haymann *et al.*, 2017)**.

a. Etiologie

L'IRA peut survenir dans différents contextes cliniques par exemple : un sepsis, une chirurgie lourde, un choc cardiogénique, des états inflammatoires sévères (pancréatites) ou bien, elle peut provenir d'une insuffisance en aldostérone, d'un traumatisme, une grossesse ou une hémorragie. **(Orieux *et al.*, 2022)**.

b. Symptômes

Plusieurs symptômes peuvent être associés à une IRA dont une anurie (arrêt de la sécrétion d'urine par les reins), anorexie, des troubles cardio-vasculaires avec une hypertension artérielle, des céphalées, des diarrhées, des douleurs abdominales, des nausées, des vomissements, une agitation, confusion et coma **(Lyonel, 2004)**.

2.1.2. Insuffisance rénale chronique (IRC)

L'insuffisance rénale chronique (IRC) est une maladie non transmissible qui touche environ 10 % de la population adulte mondiale (**Voicehovska et al., 2021**). Elle est caractérisée par une perte progressive et irréversible des fonctions rénales qui affecte la capacité des reins à gérer plusieurs fonctions vitales. C'est la conséquence de la diminution du nombre de néphrons fonctionnel au cours des maladies variées affectant les reins ou les voies urinaires. (**Jungers et al., 2011 ; Gondran-Tellier et al., 2020**).

L'IRC est le plus souvent silencieuse pendant de nombreuses années. (**kovesdy, 2022**) et la plus répandue chez les personnes âgées (de plus de 60 ans) atteints de l'hypertension artérielle, maladie cardiovasculaire, diabète, obésité, syndrome métabolique, le tabagisme et l'exposition à des substances néphrotoxiques (**Lidsky Haziza et al., 2017**).

a. Epidémiologie de l'insuffisance rénale chronique (IRC)

➤ Au niveau mondial

Selon l'étude sur la charge mondiale de morbidité en 2015, la maladie rénale chronique (**MRC**) est devenue la 17^{ème} cause de décès la plus fréquente dans le monde avec une augmentation de la mortalité globale de 31,7 % entre 2005 et 2015, ce qui en fait l'une des principales causes de décès à la croissance la plus rapide. (**Seid et al., 2024**).

En 2016, 276 millions de cas prévalant ont été enregistrés avec 21 millions de nouveaux cas de MRC à travers le monde. Dans les pays à revenu faible et intermédiaire inférieur, la MRC constitue environ 63% des cas. Les études montrent que, bien que la prévalence de la MRC varie d'un pays à l'autre, elle est plus fréquente chez les Amérindiens, les Afro-Américains et les Américains d'origine asiatique. (**Seid et al., 2024**).

Donc, au niveau mondial, 13,4 % de la population générale est atteinte de MRC. En comparaison, en Afrique, la MRC touche 10,1 % de la population générale, 24,7 % des personnes hypertendues et 16,6 % des personnes atteintes de diabète sucré. (**Seid et al., 2024**).

➤ En Algérie

Deux millions d'Algériens ont un problème rénal chronique, soit 10% de la population adulte âgée de plus de 18 ans. Pas moins de 2 500 nouveaux cas sont traités chaque année et plus de 24

000 insuffisants rénaux chroniques suivent des séances d'hémodialyse à travers 317 centres d'hémodialyse ouverts dans le secteur public et privé et on compte 5000 générateurs de dialyse (Meghani et Bendahou, 2019).

L'incidence de cette maladie en Algérie est estimée à 34 personnes par million par an, qui représente près de 1 000 nouveaux patients chaque année (Derouiche et al., 2020).

2.1.3. Evaluation de la fonction rénale

La fonction rénale peut être estimée soit par la clairance de la créatinine soit par le calcul du débit de filtration glomérulaire. Dans tous les cas, il s'agit d'équations dont la variable commune est la créatinémie (Bordage, 2015).

Il existe trois méthodes pour évaluer la fonction rénale :

- Formule de Cockcroft et Gault
- Formule CKD-EPI (*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*)
- Formule MDRD (*Modification of Diet in Renal Disease*)

Le calcul de la clairance de la créatinine est recommandé pour définir les stades de la maladie rénale chronique (Souissi et al., 2021). Elle est exprimée en unité de débit (ml/min) ; elle nécessite deux dosages (la créatinine plasmatique et la créatinine urinaire) et la mesure la diurèse, donc du recueil des urines de 24 h ou d'un échantillon sur un temps minuté (Baudin, 2013).

Elle s'exprime par cette formule :

$$\frac{\text{Créatininurie (mmoles/L)} \times \text{débit urinaire (ml/min)}}{\text{Créatininémie (mmoles/L)}}$$

- La formule Cockcroft et Gault :

Fournit une estimation de la clairance et non une estimation du DFG. Elle tient compte de l'âge, du sexe, du poids et de la créatininémie. Mais elle n'est pas valable chez les sujets âgés de plus de 65 ans, chez les sujets dont l'indice de masse corporelle (IMC) est supérieur à 30 kg/m² et inférieur à 18,5 kg/m². Une surestimation de la filtration glomérulaire est donc possible. Les

recommandations internationales préconisent depuis plusieurs années l'utilisation de la formule (MDRD) et (CKD-EPI), plus précise que la formule de Cockcroft et Gault (Aloy *et al.* , 2021).

$$\text{Clcr (chez l'Homme)} = (140 - \text{âge (année)}) \times \text{poids} \times 1,23 / \text{Pcréat } (\mu\text{moles/L})$$

- **La formule MDRD** : elle a été mise au point en 1999 et réactualisée en 2006, elle estime directement le débit de filtration glomérulaire indexé sur la surface corporelle : le résultat s'exprime en ml/min/1,73 m² (Brun, 2019).

$$\text{Clcr} = 186 \times (\text{Créat} / 88.4) - 1.154 \times \text{Age (année)} - 0.203$$

X (0.742 si sexe féminin)

X (1.212 si sujet noir)

- **La formule CKD-EPI**, mise au point en 2009, elle estime également directement le débit de filtration glomérulaire indexé sur la surface corporelle. Elle exploite les mêmes paramètres que la formule MDRD simplifiée (Brun, 2019).

$$\text{Clcr} = 141 \times \min (\text{Créat} / k)^\alpha \times \text{Max} (\text{Créat} / k) - 1.209 \times 0.993 \text{ Age}$$

X (1.018 si sexe féminin)

X (1.159 si sujet noir)

Avec : - k= 0.7 pour les femmes et 0.9 pour les hommes ;

- α =-0.329 pour les femmes et -0.411 pour les hommes.

2.1.4. Les différents stades d'insuffisance rénale chronique

Stades	Débit de filtration glomérulaire (DFG) (ml /min/1,73 m ²)	Descriptions	Terminologie
01	> 90	Maladie rénale chronique avec DFG normal ou augmenté.	Maladie rénale sans insuffisance rénale
02	60-89	Maladie rénale chronique avec DFG légèrement diminué.	Insuffisance rénale débutante
03	30_59	Une diminution modérée du DFG.	Insuffisance rénale modérée
04	15-29	Une diminution sévère du DFG.	Insuffisance rénale sévère
05	< 15	Défaillance rénale.	Insuffisance rénale terminale

L'IRC est caractérisée par la perte progressive, permanente et irréversible des fonctions rénales.

Tableau I : Classifications internationale des stades de l'insuffisance rénal chronique (**Rabiller et Faure, 2019**).

La maladie rénale chronique est définie par la présence pendant plus de 3 mois, d'anomalies rénales biologiques, morphologiques ou histologiques et d'une insuffisance rénale (**Krummel et al., 2006**).

Selon la classification nationale Américaine de la fondation rénale, l'insuffisance rénale chronique est classée en 5 stades selon le niveau de débit de filtration glomérulaire (DFG) (**Bibata, 2006**). (**Tableau I**).

L'insuffisance rénale terminale est définie par un DFG <15 ml/min/1,73 m². C'est un synonyme de « mort rénale » avec la nécessité vitale de recourir à une technique de suppléance de

la fonction rénale. Ainsi, la dialyse et la transplantation sont les interventions médicales les plus apparentes de l'insuffisance rénale chronique terminale (IRCT) (Levey *et al.*, 2011).

2.1.5. Diagnostic

Un diagnostic précoce peut conduire à la prévention de l'insuffisance rénale. Comme l'IRC est souvent diagnostiquée à des stades ultérieurs, lorsque la dialyse ou la greffe de rein sont les seules options qui restent pour sauver la vie du patient. (Cavanaugh et Perazella, 2019).

La meilleure façon de mesurer la fonction rénale ou de prédire les stades de la maladie rénale est de surveiller régulièrement le taux de filtration glomérulaire (DFG). (Senan *et al.*, 2021).

Le fonctionnement des reins est jugé par des analyses de sang et d'urine, ainsi que l'examen des sédiments urinaires ; ce test fonctionne très bien en tant que « biomarqueur » urinaire pour un certain nombre de maladies rénales. Les résultats des sédiments urinaires alertent les médecins de la présence d'une maladie rénale. (Cavanaugh et Perazella, 2019 ; Senan *et al.*, 2021).

a. Symptômes de l'insuffisance rénale chronique

Les personnes vivant avec une affection de longue durée, telle que l'insuffisance rénale chronique (IRC) souffrent souvent de plusieurs symptômes (Moore *et al.*, 2022), tels qu'une hématurie macroscopique, une « urine mousseuse » (un signe d'albuminurie), une douleur au flanc ou une diminution du débit urinaire. Si l'IRC est avancée, les patients peuvent signaler de la fatigue, un manque d'appétit, des nausées, des vomissements, un goût métallique, une perte de poids involontaire, un prurit, des modifications de l'état mental, une dyspnée ou un œdème périphérique (Chen *et al.*, 2019).

Il existe une forte prévalence de plusieurs troubles du sommeil chez les patients atteints d'IRC comme l'apnée du sommeil, l'insomnie, la somnolence diurne excessive et le syndrome des jambes sans repos, chez les patients non dialysés. (Ruszkowski *et al.*, 2021).

2.1.6. Facteurs de risque de l'insuffisance rénal chronique

L'identification des causes de l'insuffisance rénale est très importante car certaines d'entre elles sont réversibles lorsqu'elles sont identifiées et traitées en temps opportun et correctement.

a. Facteurs généraux

a.1. Le diabète

Le diabète est devenu la cause la plus fréquente d'insuffisance rénale chronique. Il représente environ 30% des formes d'insuffisance rénale terminale. Les patients avec un diabète de type 2 représentent la plupart des patients arrivant au stade terminal de l'insuffisance rénale chronique. **(Olmer, 2007; Furuichi *et al.*, 2018)**. L'insuffisance rénale chronique (IRC) causée par le diabète sucré est diagnostiquée comme une néphropathie diabétique. La maladie rénale diabétique (MRD) est définie comme une IRC car le diabète étant partiellement impliqué dans la pathogenèse de l'insuffisance rénale. **(Yamazaki *et al.*, 2021)**.

a.2. L'hypertension artérielle

L'hypertension artérielle est la deuxième cause reportée à l'insuffisance rénale chronique. L'hypertension est à la fois une cause et un effet de l'IRC, elle affecte la grande majorité des patients atteints d'IRC où elle touche 15 à 20 % des adultes. Le contrôle de l'hypertension est important chez les personnes atteintes d'IRC car il entraîne un ralentissement de la progression de la maladie **(Pugh *et al.*, 2019 ; Mok *et al.*, 2021)**.

a.3. Les glomérulonéphrites primaires (ou primitives)

Certains types de glomérulonéphrites sont relativement bénins et d'autres ont une évolution lentement progressive et sont souvent associés à une hypertension artérielle et une insuffisance rénale chronique progressive. Ils représentent 11% des patients souffrent d'IRC. La réduction de la fonction rénale aboutit à une adaptation des néphrons restants qui contribue à son tour à l'installation d'une hyper filtration avec hyperpression intra glomérulaire. Cette dernière aboutit à la perte des néphrons restants et à la progression de l'IRC. **(Monbet, 2014)**.

a.4. La pyélonéphrite

Les pyélonéphrites récidivantes (une cause infectieuse de néphropathie interstitielle chronique) sont à l'origine d'environ 4% des IRCT surtout chez la femme. **(Traore, 2006)**.

La pyélonéphrite se manifeste souvent par des poussées fébriles à répétition dès l'enfance, la répétition dans le temps de ces accès infectieux entraîne au fil des années la destruction des reins et peut évoluer vers une insuffisance rénale chronique. **(Traore, 2006)**.

Un obstacle sur les voies excrétrices du rein peut aussi être en cause, comme des calculs, une tuberculose urinaire, une grosse prostate etc. (Traore, 2006).

a.5. Les anomalies congénitales

Les anomalies congénitales des reins et des voies urinaires constituent la cause la plus fréquente d'IRC pédiatrique avec l'évolution de l'IRC. Diverses complications surviennent et leur fréquence dépend du stade de l'IRC (Masalskiene *et al.*, 2021).

a.6. L'obésité : La compression physique des reins à partir du tissu adipeux viscéral excédentaire a également un impact sur la santé et la fonction rénales. (Steele et Nowak, 2022).

a.7. Le sexe : la prévalence de l'IR est plus élevée chez les Hommes que chez les femmes. Cette différence peut être expliquée par plusieurs facteurs, tel que, les hormones sexuelles, comme la testostérone et les œstrogènes qui peuvent influencer la fonction rénale (Hegazy, 2021).

a.8. L'âge : Une diminution du DFG et une augmentation de l'albuminurie sont associées à un risque accru à tous les âges, mais les associations de risque diffèrent chez les personnes âgées par rapport aux personnes plus jeunes. L'excès de risque est plus élevé à un âge plus avancé qu'à un âge plus jeune pour la mortalité en raison d'une diminution du DFG estimé (DFGe) ou d'une augmentation du rapport albumine/créatinine dans l'urine (Rosansky, 2016).

a.9. Le tabac : Le tabac favorise la progression de l'insuffisance rénale chez les patients atteints de maladies rénales primaire. Les effets délétères du tabagisme ont également été évoqués chez les dialysés et les transplantés rénaux. (El housseini *et al.*, 2009).

b. Facteurs génétiques

b.1. Polykystose rénale

La polykystose rénale autosomique dominante (PKRAD) est la maladie héréditaire la plus fréquente, caractérisée par de nombreux kystes au niveau des reins, elle est responsable de 6% des cas d'IRCT. (Levy *et al.*, 2001).

La formation des kystes est due à une protéine impliquée dans la différenciation des cellules de l'épithélium tubulaire. Cette maladie se caractérise par une période de plusieurs décennies sans aucune anomalie clinique. Une hypertension artérielle (HTA) apparaît vers 30 à 40 ans, puis survient une insuffisance rénale chronique. (Grünfeld, 1997 ; Levy *et al.*, 2001).

b.2. Le syndrome d'Alport

Cette maladie héréditaire est marquée par des anomalies dans la composition biochimique de la membrane basale du glomérule, ce qui provoque un défaut de filtration rénale. Elle est observée dans environ un cas sur 10 000. La présence de troubles auditifs parfois accompagnés de troubles oculaires particulièrement chez les garçons apparaît généralement de façon précoce, entre 15 et 30 ans. **(Maziers *et al.*, 2005).**

2.1.7. Mode de vie des patients de l'IRC

Il existe de nombreuses preuves d'une association entre les habitudes alimentaires et une progression plus lente de la maladie rénale chronique **(Bakis *et al.*, 2022)**. Le régime alimentaire entièrement à base de plantes peut offrir des avantages qui ralentissent la progression de l'IRC, diminuent l'incidence des maladies cardiovasculaires, les taux de diabète et d'obésité et réduisent l'inflammation et le cholestérol, qui à leur tour peuvent retarder l'insuffisance rénale. L'ingestion de protéines d'origine animale favorise un environnement acide, une inflammation et une hyperfiltration rénale. Il est rapporté que les protéines végétales peuvent être alcalinisantes, anti-inflammatoires et peuvent contenir des propriétés Réno protectrices **(Adair et Bowden, 2020)**.

2.1.8. Complications de l'IRC

Les reins jouent un rôle crucial, et leur défaillance dans l'insuffisance rénale chronique (IRC) entraîne diverses complications. Ces dernières résultent de l'accumulation de déchets métaboliques (acide urique, urée, créatinine) dans le sang, provoquant nausées, vomissements, perte d'appétit et troubles du pH sanguin pouvant mener à des complications neurologiques et même au coma **(Levy *et al.*, 2010)**.

L'IRC est associée à plusieurs complications cliniques, notamment l'anémie, l'hyperparathyroïdie, la résistance à l'insuline, l'anorexie-cachexie, l'infertilité, les troubles osseux et les maladies cardiovasculaires, qui dégradent la qualité de vie et le pronostic des patients. **(Mahmoud et Borgi, 2021)**.

Les déséquilibres métaboliques fréquents incluent l'hyperkaliémie, l'hypocalcémie, l'acidose métabolique, l'hyperphosphatémie et l'hyperuricémie. **(Verma, 2020)**. En outre, les patients souffrent souvent de malnutrition due à une carence en micronutriments et à un gaspillage des réserves protéiques. **(Iorember, 2018)**.

Les patients atteints d'insuffisance rénale chronique (IRC) ont un risque accru de fracture en raison d'une altération de la qualité des os. Une faible densité minérale osseuse prédit le risque de fracture à tous les stades de l'IRC, y compris l'IRC avancée (**Haarhaus et Evenepoel, 2021**).

2.1.9. Traitement de l'insuffisance rénale chronique et de ces pathologies associées

Le traitement de l'IRC doit être avant tout préventif. Il repose sur l'identification précoce des néphropathies causales pour y apporter un traitement étiopathogénie.

Le traitement est subdivisé en deux, en fonction du stade de l'IRC. On distingue ainsi le traitement conservateur et le traitement de suppléance.

➤ Traitement conservateur

On désigne sous le terme traitement conservateur, le traitement médical des pathologies associées à l'IRC au stade pré dialytique (**Jungers, 2004**).

- **Anémie** : Due à un déficit en érythropoïétine rénale, elle impacte la qualité de vie et augmente le risque cardiovasculaire. Le traitement vise à améliorer la qualité de vie, les performances physiques et cognitives des patients. (**Haymann, 2002**).

- **L'hypertension artérielle** : Toutes les classes d'antihypertenseurs peuvent être utilisées, mais les inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC) nécessitent une adaptation posologique. Seuls les diurétiques de l'anse sont efficaces à un stade avancé de l'IRC, tandis que les thiazidiques sont contre-indiqués. (**Boubchir, 2002**).

- **Les troubles phosphocalciques**: La prévention inclut un apport suffisant en calcium, en vitamine D3 et des agents complexant le phosphore. Ces traitements sont rarement nécessaires avant le stade 5 de l'IRC. (**Moulin et al., 2014**).

- **Troubles de l'équilibre acido-basique** : L'acidose métabolique est fréquente dans l'IRC en raison d'une réduction de l'élimination des ions H⁺. Une supplémentation en bicarbonate de sodium est recommandée pour maintenir un taux de bicarbonates sanguins supérieur à 22 mmol/l. (**Haymann et al., 2002**).

➤ Traitement de suppléance

Il est possible de ralentir ou stabiliser l'insuffisance rénale chronique par différentes stratégies jusqu'à un certain stade, au-delà duquel elles ne suffisent plus à elles seules. Il faut alors recourir à un traitement de suppléance afin de palier la fonction rénale défaillante.

A partir du stade 4 (stade précédent le stade terminal) il faut commencer à préparer et informer le patient des différents traitements de suppléance qui existent et de mettre en place celui qui est le plus adapté lorsque le DFG est inférieur à 10ml /min/ 1,73m² ou lorsque les complications métaboliques et leurs signes cliniques commencent à apparaître. Les différents traitements de suppléance proposés sont au nombre de trois : l'hémodialyse, la dialyse péritonéale et la transplantation (**Jungers, 2011**).

- **L'hémodialyse** : C'est la méthode de dialyse la plus courante sur le territoire national ; elle consiste en 3 à 4 séances hebdomadaires de 4 à 6 heures en centre ou des séances quotidiennes à domicile permettant de rétablir l'équilibre sanguin par une circulation extracorporelle. (**Lesourd, 2023**).

C'est une technique de purification extrarénale du sang destinée aux patients atteints d'insuffisance rénale chronique au stade terminal. Elle prend la fonction de filtration du sang habituellement effectuée par les reins. (**El Marnissi et al., 2020**).

L'hémodialyse est réalisée de manière discontinue avec des séances programmées plusieurs fois par semaine. Cette méthode nécessite un point d'accès généralement une fistule artérioveineuse situé dans une partie du corps comme le bras pour connecter le patient à l'appareil d'hémodialyse. Ce point d'accès est créé par un chirurgien plusieurs semaines ou mois avant le début des séances. L'appareil filtre le sang et le réinjecte dans le corps après purification, tandis que le liquide de dialyse contenant les déchets et l'excès d'eau est évacué. (**Aguilera et al., 2022**). (**Fig. 5 et 6**).

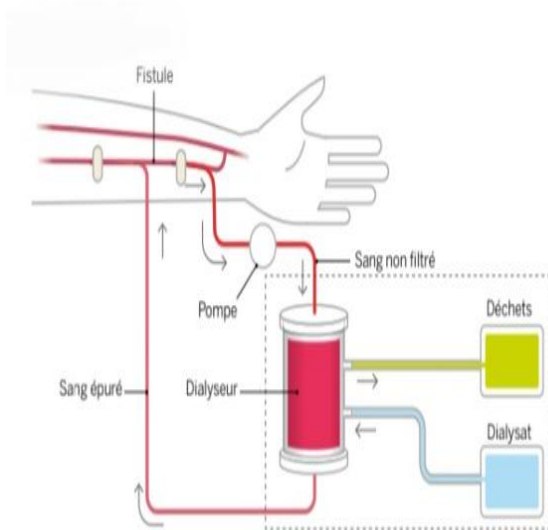


Figure 05 : Schéma illustrant de façon générale de principe d'hémodialyse. (Aguilera et al ;2022)

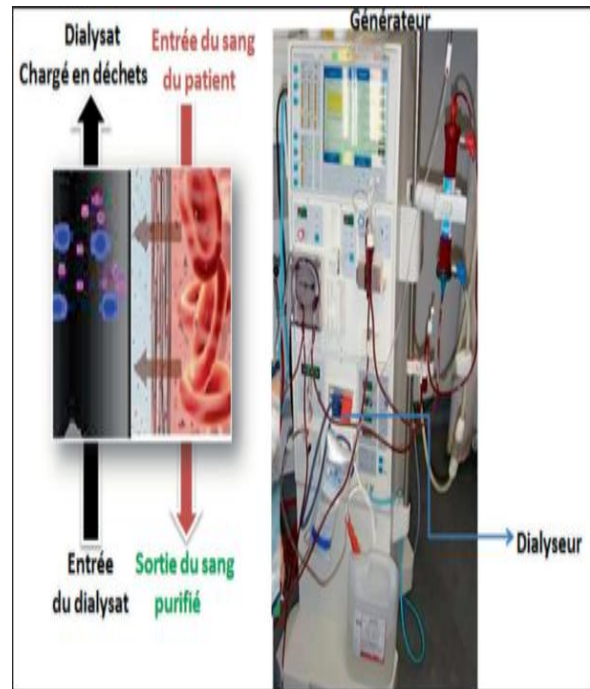


Figure 06 : Le générateur et le principe d'hémodialyse

(Belaïch et Boujraf, 2016).

- Dialyse péritonéale (DP) :

C'est une méthode ambulatoire qui consiste à introduire du liquide de dialyse dans la cavité abdominale à travers un cathéter permanent. Ce liquide traverse la membrane péritonéale qui agit comme un filtre permettant l'élimination des déchets et de l'excès d'eau du sang. Après un certain temps, le liquide, désormais chargé de déchets, est évacué et remplacé par du nouveau liquide. (Aguilera et al., 2022). (Fig 7).

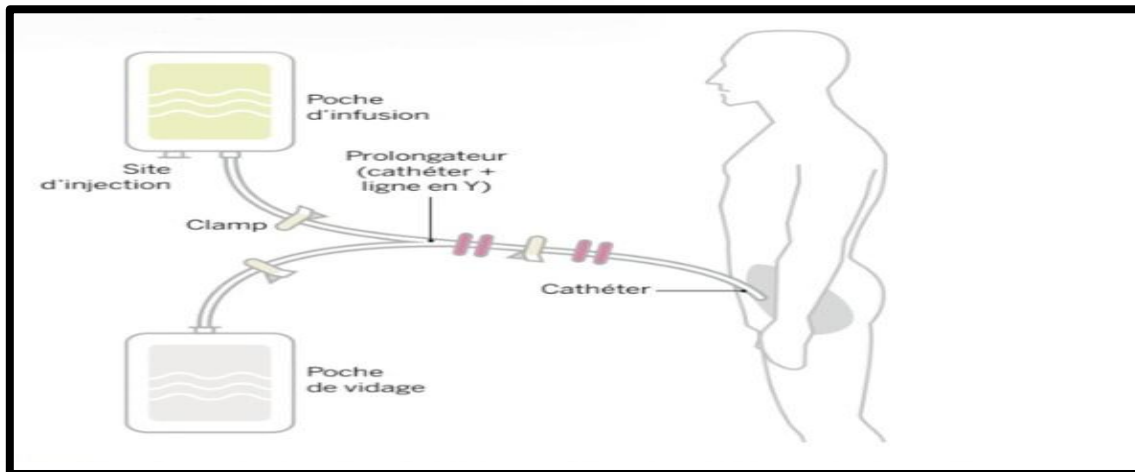


Figure 07 : Principe de la dialyse péritonéale (Aguilera et al., 2022).

- **La transplantation rénale** : La transplantation rénale lorsqu'elle est possible, est le seul traitement permettant à l'insuffisant rénal chronique de retrouver une vie pratiquement normale.

Il s'agit d'une intervention chirurgicale consistant à remplacer un rein déficient par un rein sain, prélevé sur un donneur. Selon la pathologie initiale, le greffon peut être posé sans que le rein ou les reins malades n'aient été retirés. Le rein transplanté est généralement greffé plus bas que la position anatomique normale, notamment dans la fosse iliaque. Il s'agit de la greffe la plus courante, elle possède un taux de réussite élevée (Fitsum, 2005).

3. Le monoxyde d'azote (NO)

3.1. Généralité

C'est au cours des années 1980 que les recherches collaboratives de R.F. Furchgott, R.M. Rapoport et L.J. Ignarro ont conduit à l'identification du monoxyde d'azote (NO) en tant que facteur relaxant dérivé de l'endothélium (*EDRF, endothelium-derived relaxing factor*). (Billaud et Straub, 2013).

Le monoxyde d'azote (NO) est la plus petite molécule de signalisation connue, présent sous forme gazeuse est synthétisé à partir de la L-arginine par l'enzyme NO synthase (NOS). Bien qu'il ait une demi-vie très courte, de moins de 5 secondes, le NO joue un rôle crucial dans la régulation de la pression artérielle, la vasodilatation des vaisseaux sanguins, la neurotransmission, l'inflammation et la réponse immunitaire. (Förstermann et Sessa, 2012 ; Billaud et Straub, 2013 ; Besnier et al., 2015 ; Lundberg et Weitzberg, 2022).

Il est produit dans un nombre important de types cellulaires, telles que les cellules du système immunitaire (leucocytes, macrophages, lymphocytes et cellules dendritiques) les neurones, les hépatocytes, les cardiomyocytes, les cellules musculaires squelettiques. Etc. (**Besnier et al., 2015**).

3.2. Biosynthèse du NO

Le monoxyde d'azote (NO) est synthétisé biologiquement par des enzymes appelées NO synthases (NOS). Ces enzymes utilisent du β -nicotinamide adénine dinucléotide réduit (NADPH) et de l'oxygène (O_2) pour oxyder la L-arginine en citrulline et NO (**Fig.8**). Les NOS nécessitent plusieurs cofacteurs pour fonctionner, tels que la tétrahydrobioptérine (BH4), impliquée dans des hydroxylations aromatiques, la flavine adénine dinucléotide (FAD), la flavine mononucléotide (FMN). (**Sennequier et Vadon- Le Goff, 1998 ; Ahmad et al., 2018**).

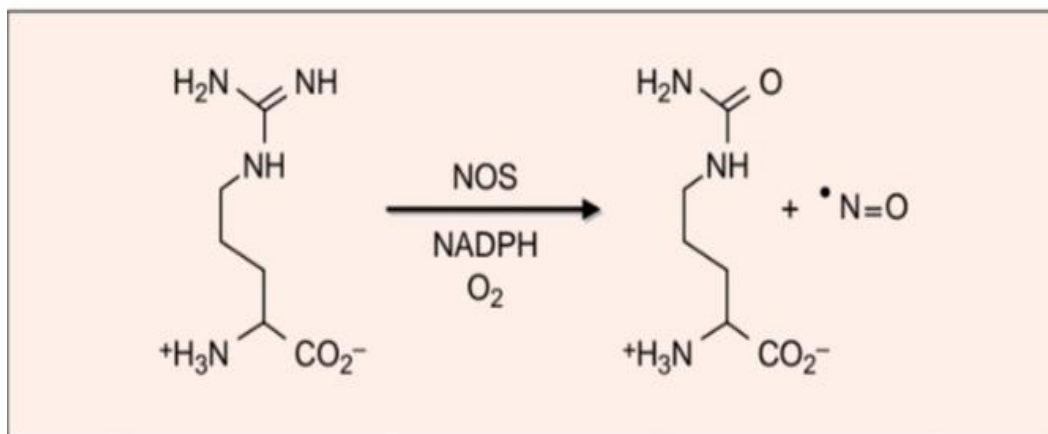


Figure 08 : Synthèse du NO (Sennequier et Vadon- Le Goff, 1998).

3.3. Mode d'action du NO

La majorité des effets cellulaires du NO passent par l'activation de la guanylate cyclase soluble, située dans le cytosol. Cette enzyme convertit le GTP en GMPc. L'augmentation des niveaux de GMPc active ensuite la protéine kinase G, qui phosphoryle des protéines responsables de divers processus, tels que la relaxation musculaire, la prolifération cellulaire, l'agrégation plaquettaire, et l'expression de molécules d'adhésion. (**Savard, 2005**).

S-nitrosylation I: Le NO peut modifier directement certaines protéines en s'y liant de manière covalente à des résidus cystéine. Ce processus est appelé S-nitrosylation. Cette modification post-traductionnelle des protéines peut moduler leur fonction, influençant divers processus cellulaires comme la signalisation cellulaire, et la régulation de l'apoptose. (**Tadie, 2012**)

Formation de peroxynitrite (ONOO⁻): Le NO peut réagir avec l'anion superoxyde (O₂⁻), la forme réactive de l'oxygène pour former du peroxynitrite (ONOO⁻), un puissant oxydant. Ce mécanisme est particulièrement important dans le cadre des processus inflammatoires et des maladies liées au stress oxydatif. (Tadie, 2012).

3.4. Structure des enzymes NO synthases

Les NO synthases (NOS) sont des enzymes à structure complexe jouant un rôle clé dans la production de monoxyde d'azote (NO). Elles possèdent deux domaines principaux : le **domaine réductase** qui est responsable du transfert d'électrons du NADPH vers des protéines hémiques et le **domaine oxygénase** impliqué dans la formation du produit final, le NO. (Sennequier et Vadon-Le Goff, 1998). (Fig.09).

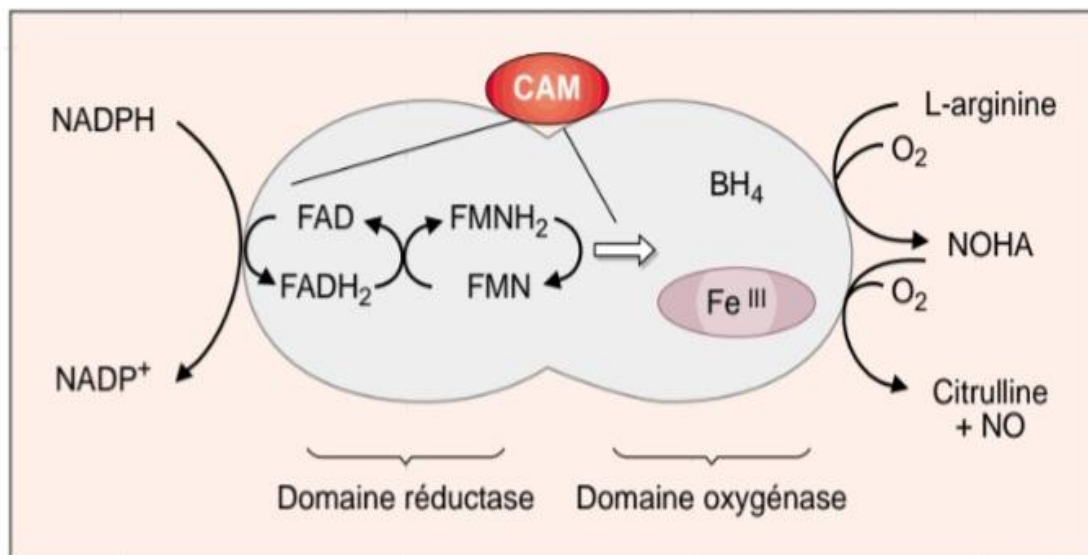


Figure 09 : Structure et fonctionnement générale de NOS (Sennequier et Vadon- Le Goff, 1998).

Les NOS comprennent trois isoformes codées par différents gènes : **nNOS** (*neuronal Nitric Oxide Synthase*), **iNOS** (*inducible Nitric Oxide Synthase*), **eNOS** : (*endothelial Nitric Oxide Synthase*), avec une autre isoforme peu décrite appelée (mtNOS) (*mitochondrial Nitric Oxide Synthase*) (Huang *et al.*, 2023).

a. NO synthase mitochondriale (mtNOS)

La mtNOS est une forme peu courante de la nitric oxide synthase (NOS) c'est la dernière NOS découverte, cependant, son existence n'est pas encore totalement confirmée. Certaines recherches la considèrent comme un isoforme de la iNOS (inducible NOS). La séquence du gène qui code pour la mtNOS n'est pas encore identifiée (Nikolaev, 2022). La protéine mtNOS a une taille d'environ 130 kDa et peut se trouver soit dans la membrane mitochondriale, soit dans la matrice interne des mitochondries. Le NO produit par la mtNOS module la respiration mitochondriale, régulant ainsi la bioénergétique mitochondriale. (Ghafourifar et Cadenas, 2005 ; Lacza *et al.*, 2009).

b. NO synthase neuronale (nNOS)

La NOS1 ou nNOS humaine a un poids moléculaire de 160,8 kDa et est composée de 1434 aa. Elle est codée par le gène *NOS1*, situé sur le chromosome 12q24.2 et comprenant 29 exons et 28 introns (Zhou et Zhu, 2009 ; Costa *et al.*, 2016 ; Solanki *et al.*, 2022).

Le NO généré par la nNOS assure la signalisation neuronale dans le système nerveux central (SNC) et participe à la relaxation des muscles lisses qu'ils soient vasculaires ou non, dans le système nerveux périphérique. (Minhas *et al.*, 2019).

c. NO synthase inductible (iNOS)

La iNOS est une protéine de 131 kDa, composée de 1153 aa et codée par un gène situé sur le bras long du chromosome 17 à la position 11.2. (Król et Kepinska, 2021). La iNOS se retrouve dans divers types de cellules, notamment les macrophages et les granulocytes et son activité est indépendante du calcium cytoplasmique. Elle joue un rôle clé dans la réponse immunitaire via l'action des macrophages. (Minhas *et al.*, 2019 ; Vallance, 2003).

d. NO synthase endothelial (eNOS)

La NOS endothéliale est majoritairement exprimée dans les cellules endothéliales. (Förstermann et Sessa, 2012). Le gène codant pour l'eNOS est situé sur le chromosome 7q35–36 et comprend 25 introns et 26 exons, il code une protéine de 135 kDa composée de 1203 acides aminés. (Nassereddine *et al.*, 2018). Ce gène présente plusieurs polymorphismes. Les plus connus

sont : le Glu298Asp situé dans l'exon 7, le 786T/C situé dans la région promotrice, ainsi que le 4a/b VNTR situé dans l'intron 4. (Fig.10) (Dib et al., 2023).

Le NO produit par l'eNOS induit la relaxation des vaisseaux sanguins, inhibe l'adhésion des plaquettes et des leucocytes, empêche la prolifération des cellules musculaires lisses et régule l'expression du facteur de croissance vasculaire endothélial (VEGF). (Minhas et al., 2019).

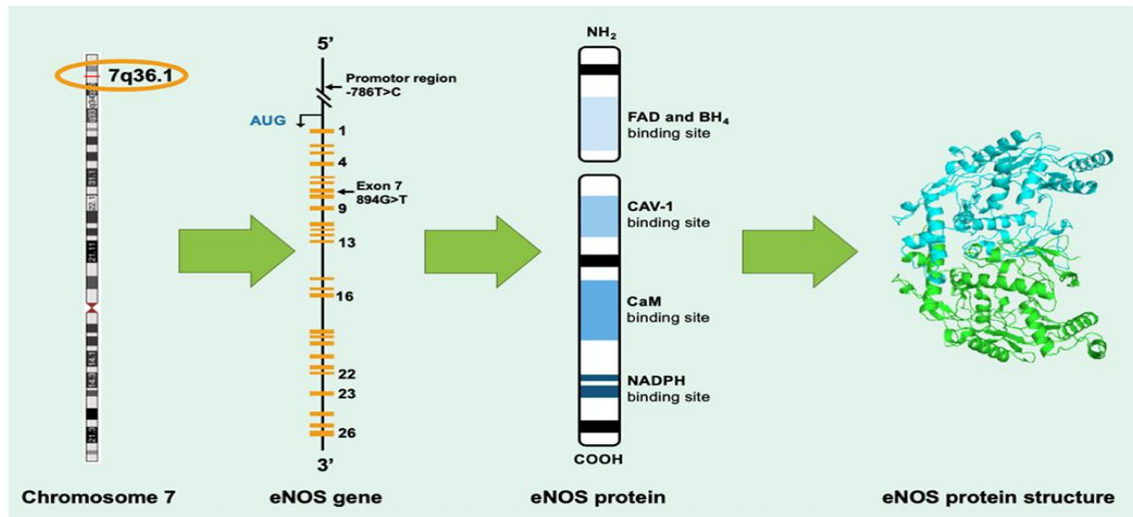


Figure 10 : Illustration du gène codant pour la synthèse du eNOS (Tran et al., 2022).

3.5. Polymorphismes génétiques du gène *eNOS*

Le gène *eNOS* ou *NOS3* présente plusieurs sites polymorphes, notamment des polymorphismes monos nucléotidiques (SNPs), des répétitions en tandem à nombre variable (VNTR), des microsatellites ainsi que des insertions-délétions. (Fig.11). (Luizon et al., 2018).

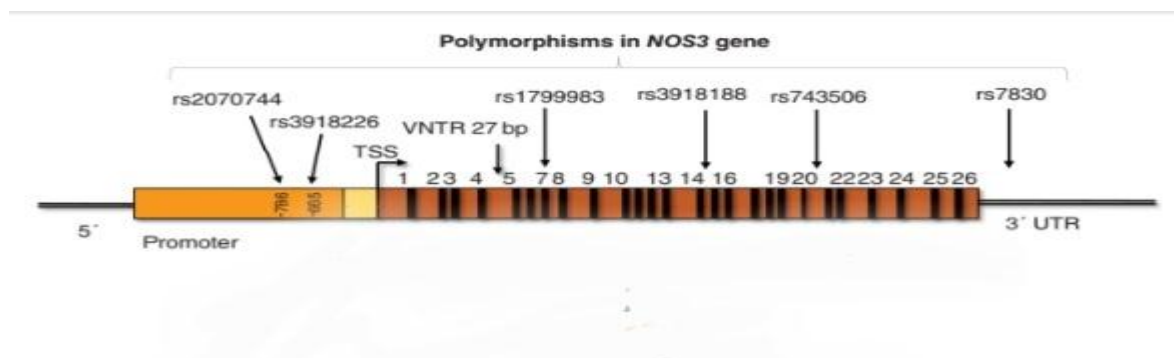


Figure 11: Un aperçu des polymorphismes du *NOS3* (Luizon et al., 2018).

a. Polymorphisme G894T (rs1799983)

Il est localisé dans l'exon 7 du gène *NOS3* et correspond à une substitution d'une guanine par une thymine à la position 894 provoquant ainsi un changement de glutamine en aspartate à la position 298 de la protéine, d'où le nom Glu298Asp. (Oliveira-Paula, 2015). Ce polymorphisme est associé à différentes maladies, tels que la maladie d'Alzheimer, l'hypertension induite par la

grossesse, le cancer de la vessie, le cancer de la prostate et la néphropathie diabétique. (Medina *et al.*, 2018).

b. Le polymorphisme T-786C (rs2070744)

Le polymorphisme T-786C (rs2070744) se trouve dans la région promotrice (5' flanquante) du gène *eNOS*. Ce polymorphisme correspond à un changement de base nucléotidique où une thymine (T) est remplacée par une cytosine (C) à la position -786. Ce changement réduit la production de monoxyde d'azote (NO). (Thameem *et al.*, 2008 ; Welkriana *et al.*, 2011).

c. Polymorphisme 4a/4b (rs61722709)

Ce polymorphisme comprend une séquence de 27 paires de bases (pb) répétée en tandem ; on distingue principalement l'allèle « a » présentant 4 répétitions de la séquence de 27pb et l'allèle « b » comportant 5 répétitions modifications. (Medina *et al.*, 2018). Deux allèles moins communs, appelés 4c et 4y (avec 6 et 3 répétitions respectivement) ont été rapportés (Ramírez-Patiño *et al.*, 2013).

Le polymorphisme VNTR 4b/4a influe sur la production de siRNA. Ces siARN réduisent la production de la protéine eNOS et diminuent la concentration plasmatique de monoxyde d'azote (NO). (Fig. 12). Les cellules endothéliales possédant l'allèle 4b (cinq répétitions de 27 paires de bases) présentent une augmentation du siRNA, ce qui réduit l'expression du gène *NOS3*, contrairement aux cellules ayant l'allèle 4a. (Oliveira-Paula *et al.*, 2017).

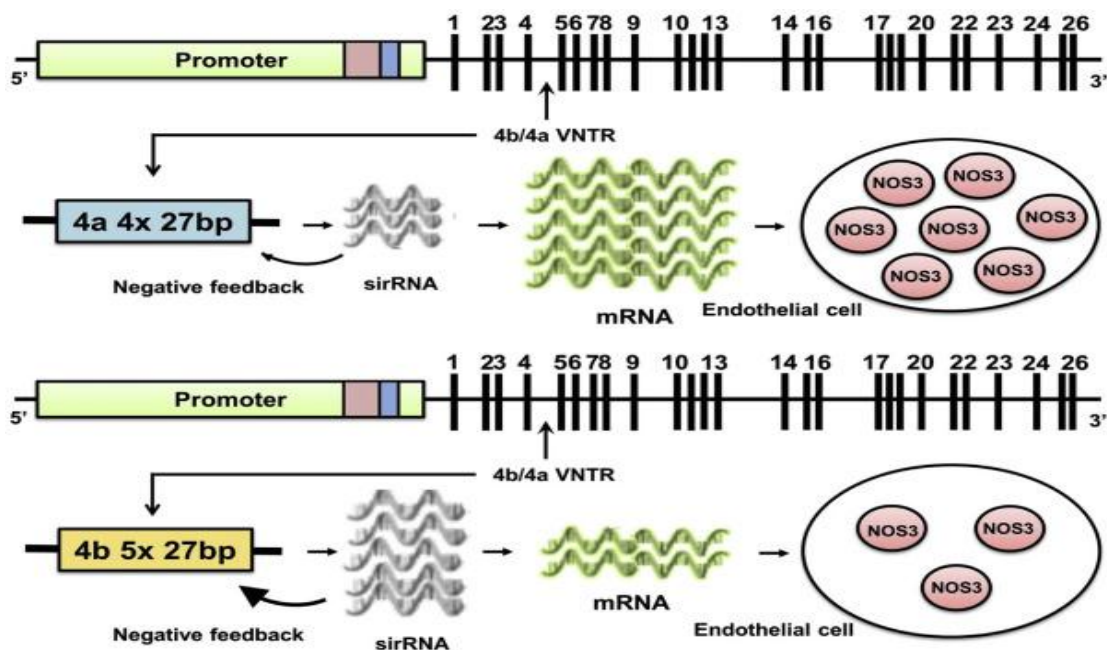


Figure 12 : Fonctionnement du polymorphisme VNTR 4b/4a (Oliveira-Paula *et al.*, 2017).

3.6. Implication du polymorphisme du gène *eNOS* dans l'insuffisance rénale

L'oxyde nitrique (NO) joue un rôle crucial dans les fonctions rénales, notamment en régulant la diurèse, la natriurèse et la sécrétion de rénine. Une altération de la production de NO, souvent observée dans les maladies rénales, peut résulter d'une diminution du substrat de l'enzyme, la L-arginine ou d'une augmentation des inhibiteurs de l'enzyme, tels que la diméthylarginine (ADMA). (Marín-Medina *et al.*, 2023).

Les polymorphismes du gène *eNOS3* qui code pour la synthase de l'oxyde nitrique endothéliale (eNOS) ont été associés à diverses pathologies dont les maladies rénales. Ces polymorphismes, peuvent réduire la biosynthèse de NO par différents mécanismes. (Marín-Medina *et al.*, 2023).

La dysfonction endothéliale résultante est un facteur clé dans le développement et la progression de la néphropathie diabétique et d'autres maladies rénales chroniques. (Marín-Medina *et al.*, 2023).

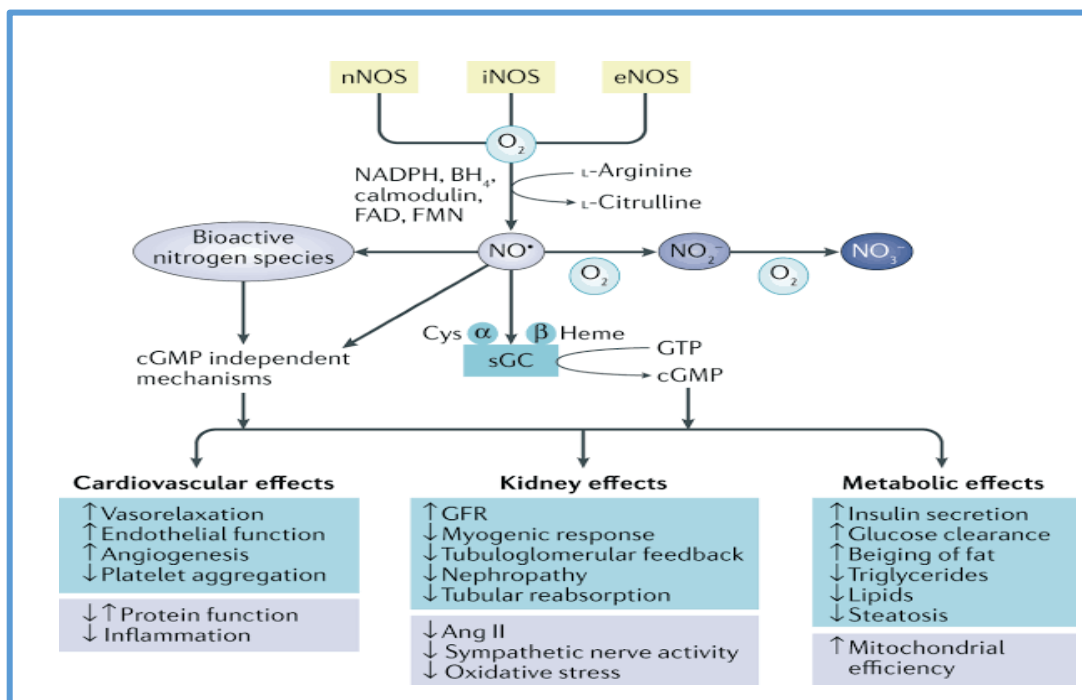


Figure 13 : La voie NOS et les effets potentiels du NO sur les fonctions cardiovasculaires, rénales et métaboliques. (Carlestrom, 2021)

Materiel et methodes

Cette étude est de type descriptive, transversale et analytique, réalisée dans le laboratoire de Biologie Moléculaire de l'université M'Hamed Bougara de Boumerdes, ainsi que dans le service d'hémodialyse de l'hôpital de Bordj Menaiel sur une période de 03 mois du (07/05/2024 au 07/07/2024). Elle avait pour objectif principal la recherche d'une éventuelle implication du VNTR 4a/4b du gène *eNOS* dans la survenue de l'insuffisance rénale terminal d'étiologie indéterminée.

Echantillonnage

1. Population d'étude

La population étudiée était composée de 22 patients qui présentent une insuffisance rénale terminale (au stade de dialyse), suivis au service d'hémodialyse. Ces patients ont l'habitude de recevoir régulièrement des séances de dialyse durant 3 à 4 heures répétées 3 fois dans la semaine. Les données ont été recueillies à partir des dossiers médicaux de suivi. Un questionnaire a permis de collecter beaucoup d'informations comme par exemple, celles portant sur le mode de vie et l'histoire de la maladie (**Annexe 1**). Une analyse biologique complète a été réalisée pour chaque patient.

a. Critères d'inclusions et d'exclusions

L'étude a inclus des patients adultes âgés de plus de 18 ans, atteints d'insuffisance rénale chronique (IRC) en phase terminale depuis plus de trois mois, avec une étiologie rénale indéterminé.

Les patients infectés par un virus (HCV, HBV ou VIH) ont été exclus de l'étude.

2. Population témoins

La population témoins était composée de 23 individus sains sans maladie rénale et qui ne présentent pas des maladies chroniques, auto-immune ou cardiovasculaires.

3. Etude génétique

a. Prélèvement sanguin

Les prélèvements ont été effectués avant la dialyse au moment du branchement au niveau de fistule artérioveineuse dans un tube contenant un anticoagulant de type EDTA (*Ethylene Diamine Tetra-acetic Acid*), puis conservé à -20°C jusqu'à utilisation.

b. Extraction de l'ADN (technique *salting out*)

La technique de relargage par les sels ou « *salting out* » est une technique classique où les protéines et d'autres contaminants sont précipités à partir du lysat cellulaire et ce, suite à une déshydratation suivie d'une précipitation des protéines par une solution saturée de chlorure de sodium. En effet, le NaCl provoque une déshydratation des protéines, entraînant une interaction hydrophobe entre elles et leur précipitation. Après précipitation des protéines, l'ADN est précipité par l'éthanol puis remis en suspension. (Jeannesson, 2007).

b.1. La lyse des globules rouges

Après décongélation, la lyse des globules rouges est réalisée en complétant le volume de sang avec une solution hypotonique (solution de lyse des globules rouges SLR) composée de (Tris base 10 mM, pH=7.6 ; MgCl₂ 5mM et NaCl 10mM).

Après lavage, les tubes sont déposés dans de la glace pendant 15 à 20 minutes avec mélange par retournement chaque 5 mn (l'action conjuguée du Tris et du froid provoque un choc hypotonique conduisant à l'éclatement des globules rouges ayant une membrane fragile), puis centrifugés à 4500 tours/min pendant 15min à 4°C. La centrifugation, quant à elle permet de séparer le surnageant qui contient les débris de globules rouges des globules blancs qui sont précipités au fond du tube formant un culot.

Cette opération de lavage est répétée plusieurs fois jusqu'à obtention d'un culot blanchâtre qui correspond aux globules blancs.

b.2. La lyse des globules blancs

Le culot de leucocytes est traité par une solution de lyse des globules blancs SLB (Tris-base 10mM pH=7.6 ; EDTA 10mM ; pH = 8 et NaCl 10mM), du SDS à 10% (*sodium dodecyl sulfate*, un puissant détergent, lysant les membranes cellulaires et dissociant les complexes d'acides nucléiques) et de la protéinase K a une concentration finale de 10µg/ml (elle permet de dégrader les protéines notamment, les histones).

Le mélange est mélangé par vortex et incubé au bain Marie à 56°C pendant 3 heures.

b.3. Précipitation des protéines

Après l'incubation des tubes, on procède à la déprotéinisation avec du chlorure de sodium NaCl 6M, une agitation vigoureuse suivi par une centrifugation à 6000rpm pendant 35min permet d'obtenir un culot contenant les débris cellulaires et un surnageant contenant de l'ADN génomique.

La précipitation des protéines se fait par l'ajout de deux volumes d'éthanol froid par volume d'échantillon. Des mouvements légers par retournement de tube permettent d'obtenir l'ADN sous forme d'une méduse qui est transférée dans un tube *Eppendorf*, puis séchée à l'étuve pour évaporer l'alcool. L'ajout du TE (Tris base 10mM- EDTA 1mM) permet la dissolution de l'ADN et sa conservation.

b.4. Qualité et quantification de l'ADN

b.4.1. Dosage spectrophotométrique d'ADN

La vérification du degré de pureté et la détermination de la concentration de l'ADN ont été réalisées par mesure des DO à 260 et 280 nm au spectrophotomètre. La pureté des échantillons est évaluée par des mesures d'absorbance à 280 nm et 260 nm. La mesure du rapport 260/280 permet de détecter une contamination des acides nucléiques par les protéines ou l'ARN. Pour l'ADN, ce rapport doit être compris entre 1,8 et 2,0. (**Gallagher, 2017**).

La concentration d'ADN peut être calculée à partir de l'absorbance mesurée à 260nm en utilisant la formule suivante :

$$\text{Concentration } (\mu\text{g/ml}) = \text{DO}_{260} \times \text{facteur de dilution} \times 50$$

b.4.2. Electrophorèse de l'ADN génomique

Avant toute utilisation, il est essentiel de s'assurer que l'ADN n'a pas subi de dégradation au cours des différentes étapes de l'extraction. Pour cela, l'ADN extrait est soumis à une migration sur un gel d'agarose.

L'électrophorèse sur gel d'agarose est une technique utilisée pour séparer les fragments d'ADN selon leur taille. Elle est réalisée sur un gel d'agarose préparé à 0,8% dans du tampon de migration TBE 1X (Tris-Borate-EDTA). Pour cela, 0,8g d'agarose est dissous dans 100ml du tampon TBE 1X en chauffant le mélange jusqu'à dissolution complète. Une fois le gel légèrement refroidi, l'ajout du bromure d'éthidium (BET), à une concentration finale de 0,5µg/ml, à la solution permet la visualisation des fragments d'ADN sous lumière UV après la migration. Les échantillons d'ADN sont ensuite préparés en y ajoutant un tampon de charge, ce qui facilite leur dépôt dans les puits du gel et permet de suivre leur progression pendant la migration.

Une fois le gel solidifié dans la cuve de migration, les échantillons d'ADN, ainsi qu'un marqueur de taille sont déposés dans les puits. La migration est effectuée sous l'influence d'un champ électrique de 110 volts pendant environ 35 minutes, ce qui permet aux fragments d'ADN de se séparer selon leur taille. Sous l'effet du champ électrique, les molécules d'ADN migrent de la cathode (-) vers l'anode (+).

4. Analyse du polymorphisme VNTR du gène *eNOS* par PCR

L'analyse du polymorphisme VNTR (*Variable Number Tandem Repeat*) du gène *eNOS* a été réalisée par la technique PCR (*Polymerase Chain Reaction*).

La PCR (*Polymerase Chain Reaction*) est une technique qui permet d'obtenir par réplication *in vitro*, des multiples copies d'un fragment d'ADN à partir d'un échantillon. Elle se déroule en trois phases : dénaturation (séparation des brins d'ADN), hybridation (association des amorces avec les brins cibles) et élongation (synthèse de nouveaux brins d'ADN). Le processus utilise un mélange réactionnel comprenant l'ADN modèle, la Taq polymérase, des amorces et des dNTPs. (Kadri, 2019).

a. Amplification de l'ADN génomique (ADNg) par PCR

L'amplification du polymorphisme VNTR (*Variable Number Tandem Repeat*) situé dans l'intron 4 du gène *eNOS* (*endothelial Nitric Oxide Synthase*) a été réalisée par PCR à partir d'ADN génomique. Pour cela, des amorces spécifiques orientées aux extrémités 5' et 3' de la séquence à amplifier ont été utilisées. L'amplification est effectuée dans un volume total de réaction de 13 µL, comprenant 1.5 µL d'ADN génomique, 11.5 µl du Master Mix IX (*Taq PCR Mater Mix, 2X red dye*), additionné des amorces [sens (*forward*) et antisens (*reverse*)] et de l'eau distillée stérile. Ce Master Mix contient les composants nécessaires à la PCR, dont la Taq polymérase, du MgCl₂, des nucléotides, des tampons et un colorant rouge (tartrazine et rouge de crésol). Un témoin négatif a également été inclus pour vérifier l'absence de contamination lors de la manipulation. Ce témoin est constitué de 11,5 µl de Master Mix et de 1,5 µl d'eau distillé stérile, sans ADN.

L'absence de produit amplifié dans le témoin négatif garantit que la réaction PCR n'a pas été contaminée.

Les amorces utilisées pour l'identification de polymorphismes VNTR 4a/4b sont indiquées ci-dessous :

- **Amorce forward** : 5'- AGG CCC TAT GGT AGT GCC TTT -3'
- **Amorce reverse** : 5'- TCT CTT AGT GCT GTG GTC AC -3'

La séquence de la région amplifiée à l'aide de ces amorces est illustrée dans la figure 6.

```
AGGCCCTATGGTAGTGCCTTggctggaggaggggaaagaagtctagacctgctgcaggggtgaggaagtctagacctgctg
caggggtgaggaagtctagacctgctgcaggggtgaggaagtctagacctgctgcgggggtgaggaagtctagacctgctgcgggggtgag
gacagctgagcggagcttccctgggcggtgctgtcagtagcaggagcagcctcctggaaaagcctgctgctgcttctccccaagagagaa
ggcttctccgccaggccagtccagtgcagcccctacccacaccaactgctaccccagttccctgcttcggcccgcacctcctcacacc
cagcccacagactcggggctggccttagttactggaacgcctGTGACCACAGCACTAAGAGA
```

Figure 6 : Séquence amplifiée contenant le VNTR 4b au niveau de l'intron 4 du gène *eNOS* (<https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgPcr>). La séquence répétée de 27pb délimitée dans l'allèle 4a est colorée en rouge (Sivri *et al.*, 2014).

La réaction PCR a été réalisée à l'aide d'un thermocycleur (*Biometra*), débutant par une dénaturation de 7 mn à 95°C, suivie de 35 cycles comprenant 30 sec à 94°C, 30 sec à 59°C et 30 sec à 72°C, pour finir par une étape d'élongation finale de 7 mn à 72°C.

b. Visualisation des produits PCR par l'électrophorèse

Les produits de la PCR sont visualisés en utilisant un gel d'agarose à 2,5%, préparé avec une solution de TBE 1X. Le bromure d'éthidium (BET) est ajouté à une concentration de 0,5 µg/ml. Ensuite, 5 µl de chaque produit PCR et 5 µl de témoin négatif sont chargés dans les puits du gel. Le marqueur de taille moléculaire utilisé à une échelle de 100 pb.

c. Interprétation des résultats obtenus après l'électrophorèse

- Un fragment de 393 pb indique un génotype polymorphe (4a/4a)
- La présence de fragments de 393 pb et 420 pb signale un génotype hétérozygote (a/b).
- Un fragment de 420 pb correspond au génotype (b/b)
- Un fragment de 447 pb représente un génotype polymorphe (c/c)

5. Etude statistique

L'analyse statistique des données a été réalisée à l'aide du logiciel Microsoft Excel 2010. Pour les variables continues des caractéristiques démographiques générales, les résultats ont été présentés sous forme de moyennes \pm écarts-types. Le logiciel Graph Pad Prism (version 6) a été utilisé pour la comparaison des variables quantitatives par le test t ou le test de Mann Whitney et les variables qualitatives par le test exact de Fisher. Une valeur de p inférieure à 0,05 a été retenue comme seuil de signification statistique.

Résultats et discussion

Notre étude s'est concentrée sur la recherche du polymorphisme génétique VNTR de l'intron 4 du gène *eNOS* chez des patients atteints d'insuffisance rénale terminale, dans le but de déterminer si ce polymorphisme de répétition pourrait représenter un facteur de risque contribuant à l'apparition et à l'évolution de cette maladie. Durant notre étude, sur 36 patients, 14 patients dont l'étiologie de la maladie rénale est connue ont été exclus. 22 patients ont répondu aux critères d'inclusions.

1. Caractéristiques générales de la population

a. Stratification des patients selon l'âge

L'étude a porté sur 22 patients, répartis en fonction de l'âge et du sexe avec un sexe -ratio SR H/F =1. L'âge moyen de l'ensemble des sujets est de $31,05 \pm 11,27$. (**Fig.14**).

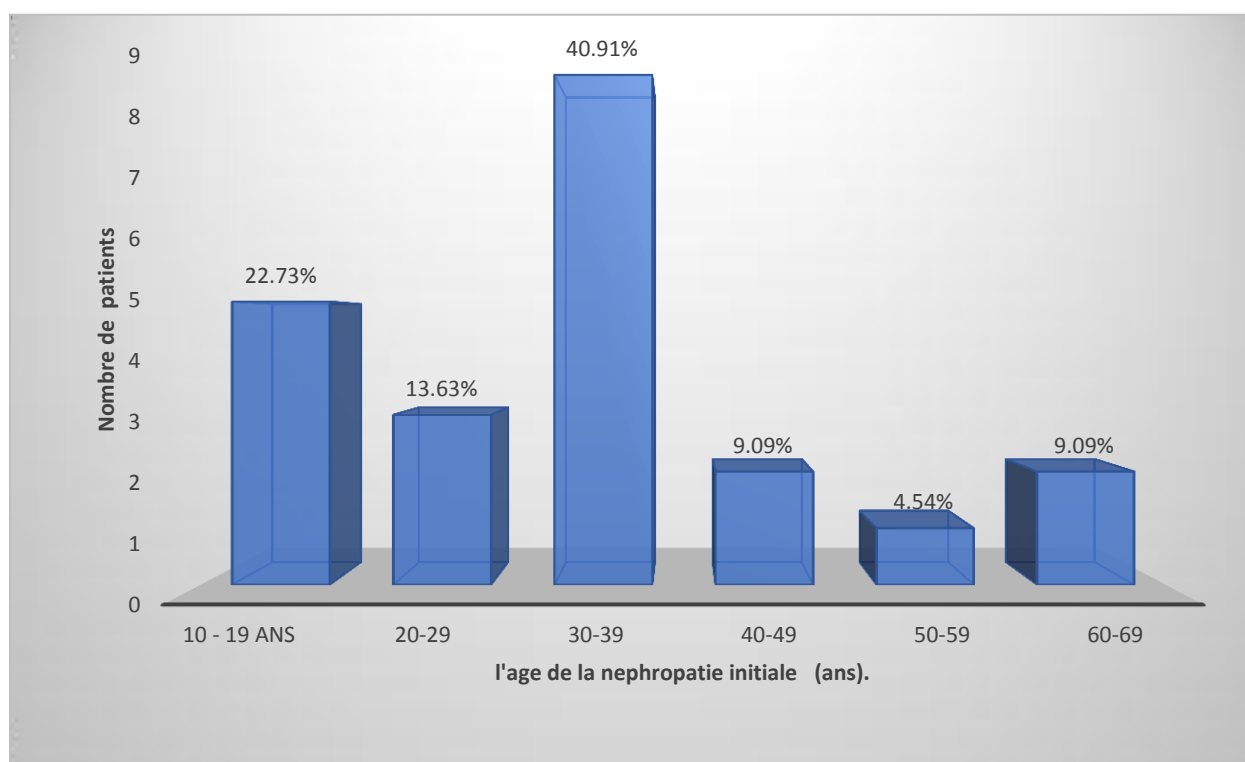


Figure 14 : Représentation du nombre de patients en fonction de l'âge au diagnostic de la néphropathie

En examinant les résultats obtenus, nous avons remarqué que le nombre de patients le plus élevé a été observé dans la tranche d'âges de 30-39 avec un pourcentage de 40.91%.

Ce résultat a été expliqué par les travaux de recherche de **De jaeger en 2017** qui a affirmé que la modification de la fonction rénale est étroitement liée à la diminution progressive du débit sanguin rénale à partir de 30 ans. Cette diminution s'accompagne d'une perte progressive de glomérules fonctionnels. L'étude réalisée au Togo, a mis en évidence que l'insuffisance rénale chronique et particulièrement en Afrique est une maladie des sujets jeunes. (**Sabi et al ., 2011**).

Une diminution du DFG et une augmentation de l'albuminurie sont associées à un risque accru à tous les âges, mais les associations de risque diffèrent chez les personnes âgées par rapport aux personnes plus jeunes. L'excès de risque est plus élevé à un âge plus avancé qu'à un âge plus jeune pour la mortalité en raison d'une diminution du DFG estimé (DFGe) ou d'une augmentation du rapport albumine/créatinine dans l'urine (**Rosansky, 2016**).

b. Stratification des patients selon le sexe

Nous avons noté une répartition équilibrée entre les hommes et les femmes dans notre étude, ceci pourrait indiquer que le nombre de femmes souffrant d'IRC et le même que le nombre d'homme. (**Fig. 15**).

Cependant, la différence d'atteinte de la maladie rénale avant dialyse entre les sexes a été observée dans des études. Comme par exemple l'étude réalisée dans la willaya de Batna, 54% des hémodialysés étaient des hommes (**Chinar, 2015**).

Au Maroc, selon (**Asseraji et al., 2015**), 64% d'hommes vs 36% femmes souffrent d'IRCT.

La prévalence de l'IR est plus élevée chez les Hommes que chez les femmes. Cette différence peut être expliquée par plusieurs facteurs, tel que, les hormones sexuelles comme la testostérone et les œstrogènes qui peuvent influencer la fonction rénale et selon le mode de vie, la fumée du tabac détériore la fonction rénale (**Collins et al., 2010 ; Carrero et al., 2018 ; Neugarten et Golestaneh, 2019 ; Hegazy, 2021**).

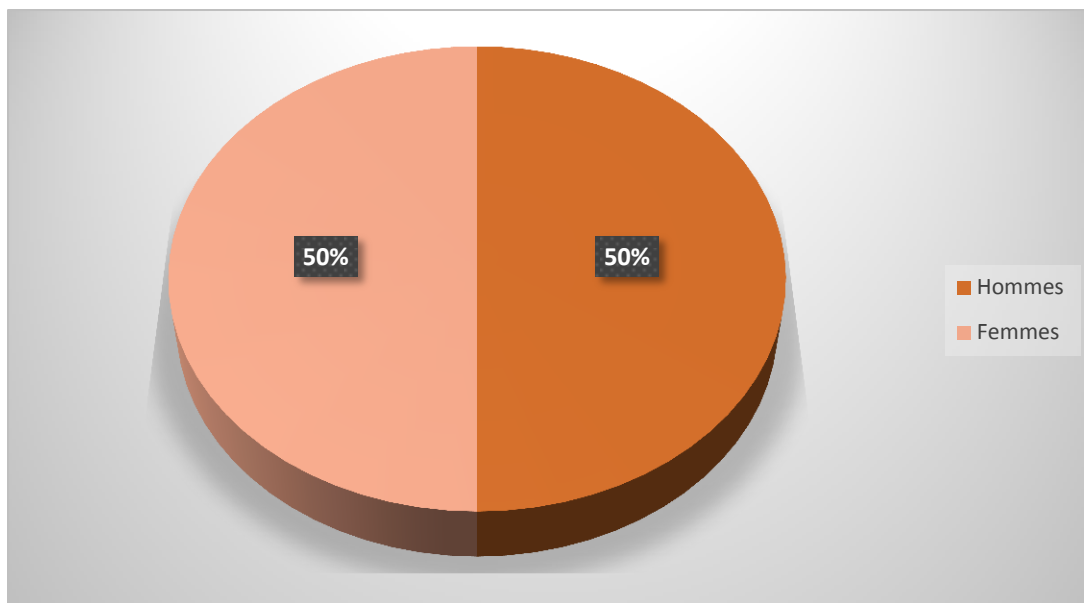


Figure 15 : Répartition des patients selon le sexe

3. Comparaison des facteurs de risques de l'IRC

L'insuffisance rénale chronique est une diminution du fonctionnement des reins qui ne filtrent plus correctement le sang . Beaucoup des facteurs de risques sont en causent. (**Tableau III**).

Tableau II : Répartition des patients et témoins selon les facteurs de risques d'IRC

	Cas (Dialysés) (N=22)	Témoins (normaux) (N=23)	<i>P</i>
L'âge ** (ans)	42,27± 11,27	47,39 ± 18,92	0,1329
Diabète	(3/22)	0	0,1085
HTA	(5/22)	0	0,0216*
Tabagisme	(02/22)	0	0,2333
Sexe (H/F)	(11/ 11)	(7 / 16)	0,2307

**L'âge de la néphropathie initial (ans) chez les dialysés $p < 0.05$ indique une différence significative.

*test de Mann Whitney

Nos résultats mettent en évidence une prévalence significativement plus élevée de l'hypertension artérielle chez les atteints d'IRC (5/22 patients) comparé aux témoins ($p=0,0216$). La valeur d'OR =14,8 indique que l'HTA serait capable d'augmenter le risque de la survenue de l'IRC chez cette cohorte d'un facteur d'environ 14,8 fois, cependant ce risque n'était pas significatif (IC 95% :0,765 - 285). L'HTA est bien connue pour être une cause fréquente d'IRC, elle est à la fois une cause et un effet de l'IRC. Plusieurs études, comme celle de **Madore ; 2004, Asserraji et al ;2015 et Ramilitiana et al ; 2016** ont démontré que l'hypertension est parmi les premières causes d'IRC.

Le diabète ($p=0,1085$) n'a pas été significativement associés à l'IRC dans notre étude. Cependant, la néphropathie diabétique est une cause fréquente d'IRC. En effet, les patients avec un diabète de type 2 représentent la plupart des patients arrivant au stade terminal d'insuffisance rénale chronique. (**Olmer, 2007 ; Furuichi et al., 2018**). L'insuffisance rénale chronique (IRC) causée par le diabète sucré est diagnostiquée comme une néphropathie diabétique.

Aucune différence significative n'a été obtenu concernant le tabagisme ($p=0,2333$), le tabac est un facteur de risque fréquent mais dans notre cohorte, uniquement 2/22 étaient fumeurs. Le tabac favorise la progression de l'insuffisance rénale chez les patients atteints de maladies rénales primaire. Les effets délétères du tabagisme ont également été évoqués chez les dialysés et les transplantés rénaux. (**El housseini et al., 2009**).

Une différence significative entre nos patients et les témoins a été notée concernant l'IMC. Dans votre cohorte se sont les témoins qui étaient e surpoids et non pas les malades car c'est la valeur de l'IMC après atteinte rénale.

4. Résultats de l'analyse génétique

L'étude génétique sur le polymorphisme VNTR4a/b du gène *eNOS* a été réalisée dans le but de déterminés l'association entre ce polymorphisme et le développement de l'insuffisance rénale.

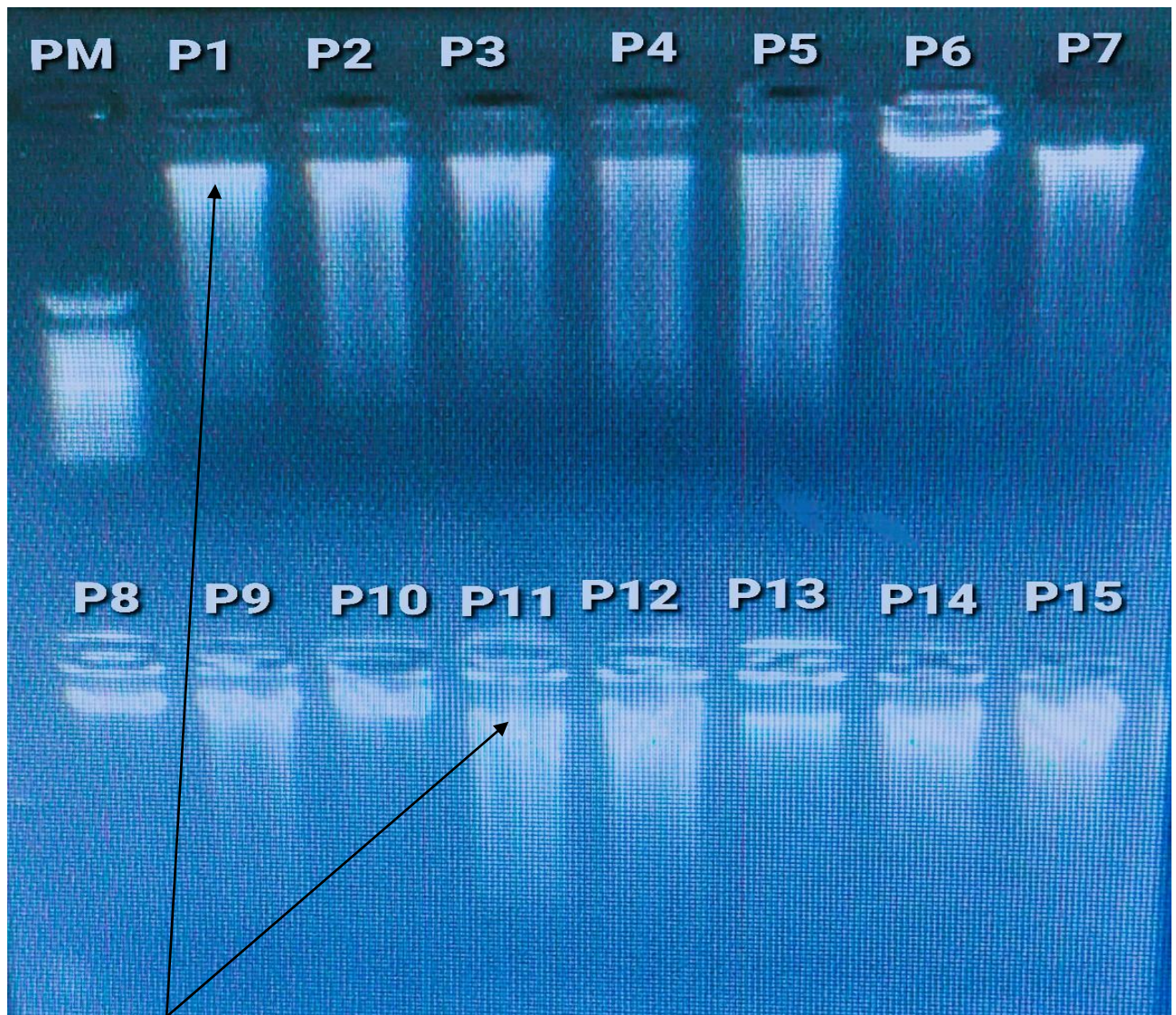
a. Evaluation de la qualité d'ADN extrait et sa concentration par spectrophotométrie

La technique de *salting out* permet d'obtenir des quantités d'ADN. Les concentrations d'ADN varient entre 36 µg/ml et 542 µg/ml .

b. Contrôle de qualité d'ADN génomique par électrophorèse sur gel d'agarose à 0,8%

La taille et la qualité de l'ADN et la détection d'éventuelles dégradations d'ADN qui survient au cours d'extraction ont été contrôlées par l'électrophorèse sur gel d'agarose à 0,8%.

Les résultats obtenus révèlent la présence d'une unique bande de poids moléculaire élevé, correspondante à l'ADN génomique dans chaque échantillon, ce qui confirme ainsi l'intégrité d'ADN. (Fig. 16).



Les bandes d'ADN génomiques

Figure 16 : Profil de migration électrophorétique de l'ADN extrait par technique de *salting out* sur gel d'agarose à 0,8%.

PM : marqueur de poids moléculaire (100 Pb).

P : patients hémodialysés

c. Profils électrophorétiques des amplicons

L'analyse des profils électrophorétiques des produits PCR sur gel d'agarose à 2,5% a révélé la présence de deux génotypes (**Fig. 17et 18**).

- Le génotype hétérozygote 4a/b caractérisé par la présence de deux bandes : une de 420pb et une bande de 393pb.
- Le génotype homozygote 4b/b caractérisé par la présence d'une seule bande de 420pb.

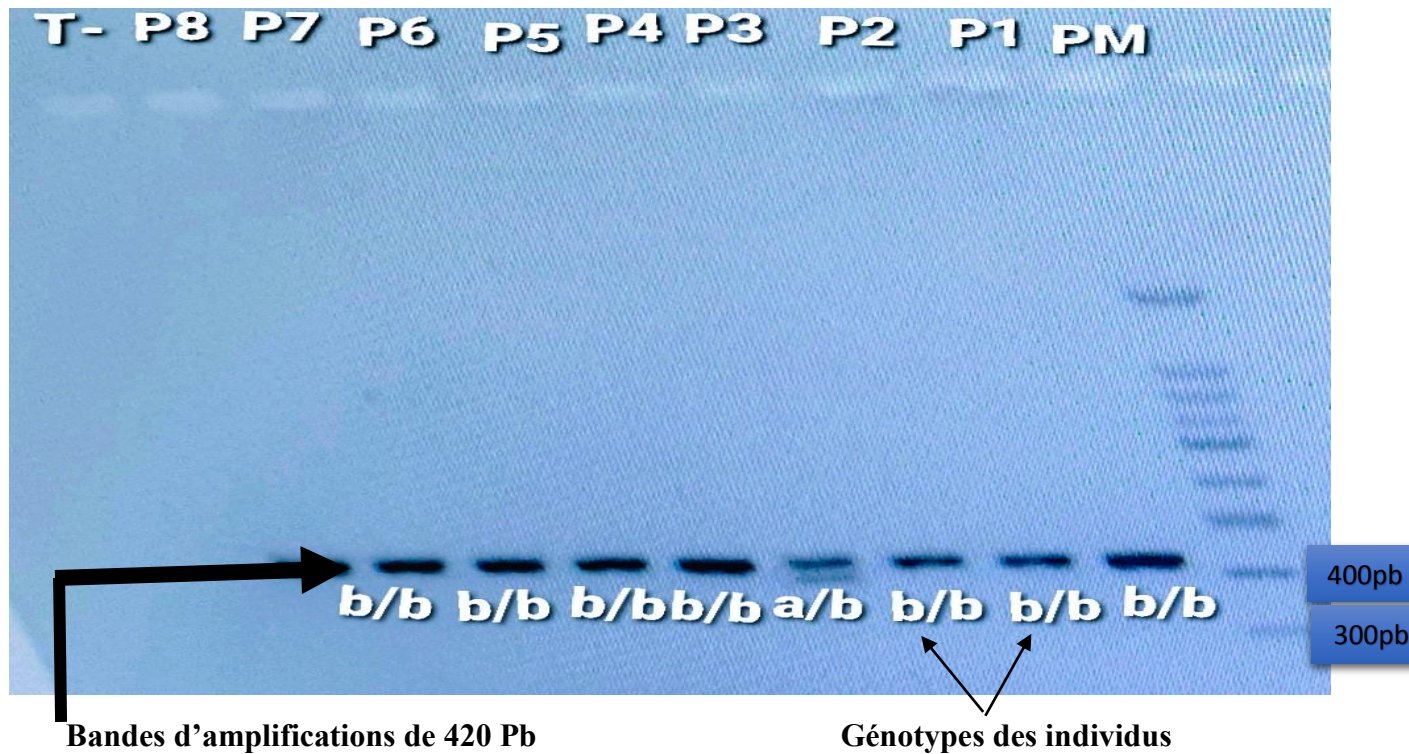


Figure 17 : profil d'électrophorèse des produits d'amplification des patients sur un gel d'agarose à 2,5%.

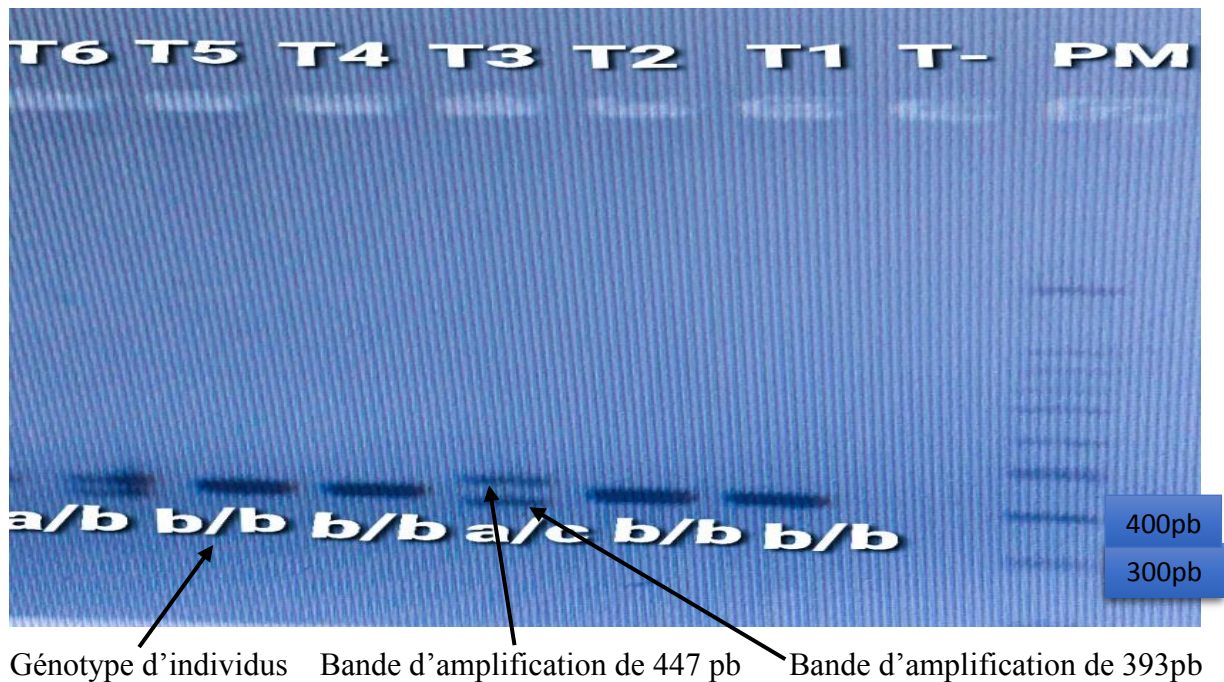


Figure 18 : profil d'électrophorèse des produits d'amplification des témoins sur un gel d'agarose à 2,5%.

5. Comparaison des distributions allélique et génotypique

Tableau III : Distribution allélique et génotypique du VNTR (4a/b) du gène *eNOS* dans la population d'étude

Polymorphisme	Patients N=22	Témoins N=23	<i>P</i>	OR	IC à 95%
Allèles					
4a , n (%)	4 (18.18)	1 (4.35)	0,1980	4,50	[0,482 - 42,0]
4b , n (%)	40 (81.82)	44 (91.30)	0,4292	0,455	[0,0789 - 2,62]
4c , n (%)	0 (0)	1 (4.35)	1,000	0,341	[0,0135 - 8,60]
Génotypes					
4b/b , n (%)	18(81.82%)	21 (91.30%)	0,4140	0,429	[0,0701 - 2,62]

4a/b , n (%)	4 (18.18%)	1 (4.35%)	0,1868	4,89	[0,501 - 47,7]
4b/c , n (%)	0 (0)	1 (4.35%)	1,000	0,333	[0,0129 - 8,63]

Les résultats de la comparaison des fréquences allélique et génotypique du polymorphisme de type VNTR (4a/b) entre les patients et les témoins représentés dans le **Tableau V** ont montré qu'il n'existe aucune différence significative entre nos patients et les témoins. Cependant la prédominance de l'allèle 4b a été remarquable dans les deux populations (81.82% chez les patients vs 91.30%chez les témoins). De même, une prédominance du génotype homozygote 4b/b est également retrouvée chez nos patients 81.82%) et témoins (91.30%).

Le monoxyde d'azote (NO), est un composé diatomique labile possédant une action paracrine, produit par l'enzyme nitrique oxide synthase (NOS). La eNOS eNOS est codée par un gène localisée chromosome 7 et se trouve ancrée à la membrane des cellules endothéliales des vaisseaux de gros et de moyen calibre (**Sébastien, 2005**). C'est un vasodilatateur, intervenant dans le contrôle l'hémodynamique rénale.

Certains polymorphismes du gène *eNOS* influencent l'expression ou l'activité de la protéine eNOS et par conséquent la production de NO. Pour cela, nous nous sommes intéressés à examiner l'éventuelle implication d'un variant de type minisatellite VNTR situé sur l'intron 4 du gène *eNOS* dans l'induction de la maladie rénale.

Notre étude cas-témoins n'a trouvé aucune relation significative entre le VNTR 4a/b et le risque d'insuffisance rénale chronique. Toutefois, il est important de noter que les résultats concernant l'association entre le polymorphisme VNTR a/b et les maladies rénales chroniques ne sont pas toujours concordants. Certaines études ont observé une association significative, tandis que d'autres n'ont pas trouvé de corrélation claire.

Plusieurs études sur diverses populations ont étudié l'association entre les polymorphismes du gène *eNOS*, en particulier le VNTR 4a/b et l'insuffisance rénale. Ils ont observé dans une étude chez les patients atteints de la polykystose rénale autosomique dominante (ADPKD), que le polymorphisme *NOS3* intron 4 VNTR a/b est associé à un risque accru d'insuffisance rénale terminale. En d'autres

termes, le polymorphisme du gène *eNOS3* pourrait influencer la progression de la maladie et la gravité de l'insuffisance rénale chez ces patients. (**Padhi et al., 2022**).

Le polymorphisme VNTR 4b/4a influe sur la production de siRNA. Ces siARN réduisent la production de la protéine eNOS et diminuent la concentration plasmatique de monoxyde d'azote (NO). (**Fig. 13**). Les cellules endothéliales possédant l'allèle 4b (cinq répétitions de 27 paires de bases) présentent une augmentation du siRNA, ce qui réduit l'expression du gène *NOS3*, contrairement aux cellules ayant l'allèle 4a. (**Oliveira-Paula et al., 2017**).

Certains polymorphismes, notamment, le Glu298Asp et -786T>C ont été associé à la détérioration rapide de la fonction rénale chez les patients atteints de la maladie rénale.

Une étude du polymorphisme du gène *eNOS* Glu298Asp a montré que les individus porteurs de l'allèle Asp298 avaient un risque accru de développer une IRC par rapport à ceux ne le possédant pas. Cela suggère un rôle important du gène *eNOS* dans la pathogenèse des maladies rénales et cardiovasculaires. (**Noiri et al., 2000**).

Des résultats similaires ont été obtenus lorsque la cause de la dialyse était divisée en néphropathie diabétique ou en maladie rénale non diabétique. Le mécanisme possible est que la mutation de l'allèle C au locus T-786C provoque une hypertension systémique ou intra glomérulaire et une augmentation de la pression glomérulaire, ce qui est un fait essentiel pour la glomérulosclérose. Dans cette étude, les patients atteints d'IRT ont été divisés en fonction de différentes étiologies, et nous avons examiné la présence de différences dans les fréquences génétiques entre les groupes d'IRT et les groupes témoins sains. Les résultats n'ont révélé aucune différence significative dans la distribution (**P. Hsiao et al ;2021**)

D'autres études ont souligné que le T 786C est associé à un risque d'IRT. Ahluwalia et coll, ont montré que le génotype C/C est un facteur de risque de néphropathie diabétique de type 2. Le mécanisme possible est que le génotype C/C chez les diabétiques affectera l'activité du promoteur eNOS, ce qui entraînera une expression plus faible de l'ARNm de l'eNOS et réduira considérablement les concentrations de NO.

Notre étude est la première en son genre d'après notre connaissance à s'intéresser au variant VNTR 4a4b chez les hémodialysés Algériens, ce point constitue le point fort de notre travail. Les

limites de notre étude sont principalement l'effectif réduit et l'impossibilité de recrutement de nouveaux patients.

Conclusion et perspectives

L'insuffisance rénale chronique est un sérieux problème de santé publique dans le monde, dans la mesure où ses étiologies les plus fréquentes, diabète sucré et l'hypertension artérielle, sont en nette augmentation.

Ce travail a eu pour objectifs d'étudier l'implication du polymorphisme du gène *eNOS* dans l'induction de la maladie rénale. Les résultats obtenus suggèrent que le variant génétiques VNTR4a/4b du gène *eNOS* pourrait n'est pas être impliqué dans la susceptibilité à l'insuffisance rénale. Toutefois, la prédominance de l'allèle b dans notre population a été notée.

Ces résultats ouvrent la voie à une meilleure compréhension des mécanismes génétiques sous-jacents à cette pathologie et pourraient potentiellement conduire à de nouvelles approches pour le diagnostic précoce et la gestion personnalisée de l'insuffisance rénale.

Toutefois, il est essentiel de poursuivre les recherches pour affiner ces associations et évaluer leur applicabilité clinique dans des cohortes plus larges et diversifiées.

En perspectives de ce travail il serait intéressant à :

L'exploration des mécanismes moléculaires : Il serait intéressant d'approfondir les études sur les mécanismes moléculaires exacts reliant le polymorphisme du gène *eNOS* à la fonction rénale. Cela pourrait impliquer des études fonctionnelles pour déterminer comment les variants du gène influencent la production de NO.

L'étude de population élargie : Les résultats obtenus peuvent varier selon les populations étudiées, en fonction de facteurs ethniques et environnementaux. Il serait donc pertinent de mener des études supplémentaires dans différentes populations surtout les pays du bassin méditerranéen afin de confirmer l'association entre le polymorphisme du gène *eNOS* et l'insuffisance rénale.

Références

A

- ✚ Aguilera, D., Bataille, S., Béchade, C., Caillette-Beaudoin, A., Choukroun, G., Coulomb, M., Courivaud, C., Hourmant, M., Lobbedez, T., Seret, G., Touré, F., & Vrigneaud, L. (2022). *Ma Maladie Rénale Chronique : 10 propositions pour développer la dialyse à domicile*. Société Francophone de Néphrologie, Dialyse et Transplantation. Conception : Madis Phileo.
- ✚ ADAIR, K. E., & BOWDEN, R. G. (2020). Ameliorating chronic kidney disease using a whole food plant-based diet. *Nutrients*, 12(4), 8–18. <https://doi.org/10.3390/nu12041007>
- ✚ Alice LESOURD (08 septembre 2023). L'éducation thérapeutique du patient transplanté rénal université d'Aix-Marseille faculté de pharmacie – 27 bd Jean Moulin -CS 30064 - 13385 Marseille cedex 05- France. <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04203032>
- ✚ Asakimori, Y., Yorioka, N., Tanaka, J., Takasugi, N., Harada, S., Shigemoto, K., Yamashita, K., Usui, K., Arita, M., & Kohno, N. (2004). Association between ENOS gene polymorphism and cardiovascular events in nondiabetic hemodialysis patients: a prospective study. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*, 44(1), 112–120. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2004.03.034>

B

- ✚ Bessaguet, F., et Desmoulière, A. (2020). Les reins. *Actualités pharmaceutiques*, 60(595-596). Elsevier Masson.
- ✚ Besnier, E., Delile, E., Coquerel, D., & Tamion, F. (2015). Les voies du monoxyde d'azote dans le sepsis / Nitric oxide ways in sepsis. *Réanimation*, 24(3), 191–200.
- ✚ Billaud, M., & Straub, A. C. (2013). Un nouveau venu dans la régulation du monoxyde d'azote endothélial : L'hémoglobine alpha. *Med Sci (Paris)*, 29(5), 471–473.
- ✚ Boubchir M-A : Monographie sur l'insuffisance rénale chronique, Edition : OPU, Algérie, 2002, P14.
- ✚ BAKIS, H., Lasseur, C., Pfirmann, P., Combe, C., & Chauveau, P. (2022). Alimentation végétarienne, méditerranéenne et maladies rénales chroniques Vegetarian, Mediterranean diet and chronic kidney diseases. May, 22–24
- ✚ BelaïchR, S. BoujrafA. (2016). Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. *Méd. des Maladies Métaboliques*. 10 (1) ; 38-42.
- ✚ Bibata, M. B. B. (2006). Apport de l'échographie cardiaque dans le diagnostic de la péricardite urémique, Thèse de médecine ; Université de Bamako : PP : 87.

C

- ✚ Cangini, G., Rusolo, D., Cappuccilli, M., Donati, G. et Manna, G. (2019). Evolution of the concept of quality of life in the population in end stage renal disease. A systematic review of the literature. *La Clinica Terapeutica*, 170(4) :301–320.
- ✚ Cormier, L., & Valeri, A. (Eds.). (2021). *Reins et voies urinaires – Appareil génital masculin: Enseignement intégré*. Elsevier Masson
- ✚ Cinelli, M. A., Do, H. T., Miley, G. P., & Silverman, R. B. (2019). Inducible nitric oxide synthase: Regulation, structure, and inhibition. *Med Res Rev*, 39(3), 1-32.
<https://doi.org/10.1002/med.21599>
- ✚ Costa, E. D., Rezende, B. A., Cortes, S. F., & Lemos, V. S. (2016). Neuronal nitric oxide synthase in vascular physiology and diseases. *Frontiers in Physiology*, 7, 206.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00206>
- ✚ CHEN, T. K., Knicely, D. H., & Grams, M. E. (2019). Chronic Kidney Disease Diagnosis and Management: A Review. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 322(13), 1294–1304. <https://doi.org/10.1001/jama.2019.14745>
- ✚ CARRERO, J. J., Hecking, M., Chesnaye, N. C., & Jager, K. J. (2018). Sex and gender disparities in the epidemiology and outcomes of chronic kidney disease. *Nature Reviews Nephrology*, 14(3), 151–164. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2017.181>
- ✚ CAVANAUGH, C., et Perazella, M. A. (2019). Urine Sediment Examination in the Diagnosis and Management of Kidney Disease: Core Curriculum 2019. *American Journal of Kidney Diseases*, 73(2), 258–272. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2018.07.012>

D

- ✚ Dib, A., Obeid, Y., & Hammoud, H. (2023). L'association entre les majeurs polymorphismes du gène eNOS et la coronaropathie parmi la population libanaise. *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique*, 71(52), 101784.
<https://doi.org/10.1016/j.respe.2023.101806>
- ✚ Derrichson.B et Tortora.G.J, 2016. Manuel d'anatomie et de physiologie humaine. 2ème Édition, De Boeck Supérieur, P : 603-606-609. <http://books.google.fr/books?ISBN:2807302971>. (20:00). (20/05/2017)
- ✚ DEROUICHE S., TAISIR C., MESSAOUDA G.(2020).Assessment of Risk Factors for Chronic Kidney Disease in Djamaa (Eloued,Algeria) Population.Frontiers in Biomedicale Technologies,Vol.7,No.1(2020)14 21,<https://dio.org/10.18502/fbt.v7i1.2721>

E

- ✚ Elaine.N-M et Katja.H.(2015). Anatomie et physiologie humaines. 5e éd. Canada.P :1129-1130-1132.
- ✚ EricT. 2017.Traite de néphrologie. (Médecine Sciences Publications).

F

- ✚ Förstermann, U., & Sessa, W. C. (2012). Nitric oxide synthases: Regulation and function. *European Heart Journal*, 33(6), 829–837. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehr304>
- ✚ FURUICHI, K., Shimizu, M., Okada, H., Narita, I., & Wada, T. (2018). Clinicopathological features of kidney disease in diabetic cases. *Clinical and Experimental Nephrology*, 22(5), 1046–1051. <https://doi.org/10.1007/s10157-018-1556-4>
- ✚ Fuente de la V, Stucker F, Saudan P. Epidémiologie de l'insuffisance rénale aiguë acquise dans la communauté. *Rev Med Suisse*. 26 févr 2014 ;419:470-3.
- ✚ Fitsum. G. (2005); Insuffisance rénale chronique. *Néphrologie*.

G

- ✚ Gallagher, S. R. (2017). Quantitation of DNA and RNA with absorption and fluorescence spectroscopy. *Current Protocols in Immunology*, 116, A.3L.1–A.3L.14.
- ✚ Gounden V1, Bhatt H2, Jialal I3. (2018). Renal Function Tests, Europe PMC plus, https://europepmc.org/article/NBK/nbk507821?fbclid=IwAR36OSXwoTUDneBoHfxtxyemYV83XDgkxEnq--0RdoA6UEk3eBMH1-1nF_U
- ✚ Gueutin, V., Deray, G., & Isnard-Bagnis, C. (2012). Physiologie rénale. *Bulletin du Cancer*, 99(3), 237-249.
- ✚ Ghomrani, R., Ferrad, K., & Hammoudi, F. (2017). Insuffisance rénale chronique et traitement. Thèse de de master. Toxicologie et santé. Université des frères mentouri constantine p22.

H

- ✚ Huang, J.-B., Chen, Z.-R., Yang, S.-L., & Hong, F.-F. (2023). Nitric oxide synthases in rheumatoid arthritis. *Molecules*, 28(11), 4414. <https://doi.org/10.3390/molecules28114414>
- ✚ HALL, J. E., do Carmo, J. M., da Silva, A. A., Wang, Z., & Hall, M. E. (2019). Obesity, kidney dysfunction and hypertension: mechanistic links. *Nature Reviews Nephrology*, 15(6), 367–385. <https://doi.org/10.1038/s41581-019-0145-4>

- ✚ Haymann, J. P., Vinsonneau, C., Girshovich, A., & Daudon, M. (2017). Insuffisance rénale aiguë obstructive : une lecture physiopathologique. *Néphrologie & Thérapeutique*, 13, S1-S5
- ✚ HAARHAUS, M., Evenepoel, P. (2021). Differentiating the causes of adynamic bone in advanced chronic kidney disease informs osteoporosis treatment. *Kidney International*, 100(3), 546–558. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2021.04.043>

I

- ✚ IOREMBER, F. M. (2018). Malnutrition in chronic kidney disease. *Frontiers in Pediatrics*, 6(June). <https://doi.org/10.3389/fped.2018.00161>

J

- ✚ Jungers, P., Joly, D., Man, N. K., & Legendre, C. (2011). *L'insuffisance rénale chronique : Prévention et traitement* (4^e éd.). Lavoisier.

K

- ✚ Król, M., & Kepinska, M. (2021). Human nitric oxide synthase—Its functions, polymorphisms, and inhibitors in the context of inflammation, diabetes, and cardiovascular diseases. *Molecules*, 22(1), 56. <https://doi.org/10.3390/ijms22010056>
- ✚ Krummel, T., Bazin, D., Faller, A.L. et Hannedouche, T. (2006). Diagnostic, facteurs de risque et traitement de l'insuffisance rénale chronique de l'adulte. *Encyclopédie médico-chirurgicale Néphrologie* : 23 (1) : 1-15.
- ✚ KOVESDY, C. P. (2022). Epidemiology of chronic kidney disease: an update 2022. *Kidney International Supplements*, 12(1), 7–11. <https://doi.org/10.1016/j.kisu.2021.11.003>
- ✚ KHOSHDEL-RAD, N., Ahmadi, A., & Moghadasali, R. (2022). Kidney organoids: current knowledge and future directions. *Cell and Tissue Research*, 387(2), 207–224. <https://doi.org/10.1007/s00441-021-03565-x>
- ✚ Kessler M, Frimat L, Panescu V, Briançon S. Impact of nephrology referral on early and mid-term outcomes in ESRD: Épidémiologie de l'Insuffisance Rénale chronique terminale

L

- ✚ Lorraine (Epirel): Results of a 2-year prospective, community-based study. *Am J Kidney Dis*. 2003; 42:474-8
- ✚ Lucking, S. E., Mafei, F. A., Tamburro, R. F., & Zaritsky, A. (Eds.). (2021). *Pediatric critical care: Text and study guide* (2nd ed.). Springer Nature Switzerland AG.

- ✚ Lyonel, AL., (2004). Insuffisance rénale aiguë en préopératoire et en préanimation. P : 4
- ✚ Luizon, M. R., Pereira, D. A., & Tanus-Santos, J. E. (2018). Pharmacogenetic relevance of endothelial nitric oxide synthase polymorphisms and gene interactions. *Pharmacogenomics. Advance online publication*. <https://doi.org/10.2217/pgs-2018-0098>
- ✚ Levey, A. S, Jong, P-E, Coresh, J, El Nahas, M, Astor, B-C, Matsushita, K. (2011).The definition, classification, and prognosis of chronic kidney disease: a KDIGO Controversies Conference report.Kidney, Int, Vol 80 (1) : 17-28.
- ✚ Liao J, Yu Z, Chen Y et al (2020) Single-cell RNA sequencing of human kidney. Sci Data 7:1–9. <https://doi.org/10.1038/s41597-019-0351-8>
- ✚ Levey A. S., de Jong P. E., Coresh J., Nahas, M. E., Astor B. C., Matsushita K., Ron T. G., Bertram L. K., and Kai-Uwe E. 2011. The definition, classification, and prognosis of chronic kidney disease. a KDIGO Controversies Conference report. *Kidney International* 80(1) : 17– 28
- ✚ Levy A, Housset P, Estournet C. Néphrologie. Issy-Les-Moulineaux : Elsevier Masson ; (2010).

M

- ✚ Malbos, D., Maisons, V., & Fougere, É. (2021). L'insuffisance rénale. *Actualités Pharmaceutiques*, 60(611), P : 41-44.
- ✚ Minhas, R., Bansal, Y., & Bansal, G. (2019). Inducible nitric oxide synthase inhibitors: A comprehensive update. *Medicinal Research Reviews*, 39(1), 1–33. <https://doi.org/10.1002/med.21546>
- ✚ Marín-Medina, A., Gómez-Ramos, J. J., Mendoza-Morales, N., & Figuera-Villanueva, L. E. (2023). Association between the polymorphisms rs2070744, 4b/a and rs1799983 of the NOS3 gene with chronic kidney disease of uncertain or non-traditional etiology in Mexican patients. *Medicina*, 59(5), 829. <https://doi.org/10.3390/medicina59050829>
- ✚ Medina, A. M., Zuberó, E. E., Jiménez, M. A. A., Barragan, S. A. A., García, C. A. L., Ramos, J. J. G., Gutierrez, J. F. S., & Castillo, Z. G. (2018). NOS3 Polymorphisms and Chronic Kidney Disease. *Jornal brasileiro de nefrologia*, 40(3), 273–277. <https://doi.org/10.1590/2175-8239-JBN-3824>
- ✚ Med trop ;insuffisance rénale chronique au Togo ,aspects cliniques, paracliniques et étiologiques ;médecine tropicale 71 ,74-76,2011 .

- ✚ MAHMOUD, T., & Borgi, L. (2021). The Interplay Between Nutrition, Metabolic, and Endocrine Disorders in Chronic Kidney Disease. *Seminars in Nephrology*, 41(2), 180– 188. <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2021.03.012>
- ✚ MOORE, C., Santhakumaran, S., Martin, G. P., Wilkinson, T. J., Caskey, F. J., Magadi, W., Gair, R., Smith, A. C., Wellsted, D., & Van der Veer, S. N. (2022). Symptom clusters in chronic kidney disease and their association with people’s ability to perform usual activities. *PLoS ONE*, 17(3 March), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0264312>
- ✚ MAZIERS N, DAHAN K, PIRSON Y et al. 2005. Du syndrome d'Alport à l'hématurie familiale bénigne : aspects cliniques et génétiques. *Néphrologie & thérapeutique*. 1(2) : 90-100.
- ✚ Meghani, kh & Bendahou, I. (2019). Profil clinico-biologique de l’insuffisance rénale Chronique terminale. Thèse pour l’obtention du diplôme de docteur en médecine, 94p.
- ✚ MOK, Y., Ballew, S. H., & Matsushita, K. (2021). Chronic kidney disease measures for cardiovascular risk prediction. *Atherosclerosis*, 335, 110–118. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2021.09.007>
- ✚ MASALSKIENE, J., Rudaitis, Š., Vitkevič, R., Čerkauskienė, R., Dobilienė, D., & Jankauskienė, A. (2021). Epidemiology of Chronic Kidney Disease in Children: A Report from Lithuania. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 57(2). <https://doi.org/10.3390/medicina57020112>

N

- ✚ Nassereddine, S., Hassani Idrissi, H., Habbal, R., Abouelfath, R., Korch, F., Haraka, M., Karkar, A., & Nadifi, S. (2018). The polymorphism G894 T of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene is associated with susceptibility to essential hypertension (EH) in Morocco. *BMC Medical Genetics*, 19(1), 127. <https://doi.org/10.1186/s12881-018-0638-1>
- ✚ Noiri, E., Satoh, H., Taguchi, J., Brodsky, S. V., Nakao, A., Ogawa, Y., Nishijima, S., Yokomizo, T., Tokunaga, K., & Fujita, T. (2000). Association of eNOS Glu298Asp polymorphism with end-stage renal disease. *Clinical Chemistry*, 46(11), 1858-1860.
- ✚ NEUGARTEN, J., et Golestaneh, L. (2019). Influence of Sex on the Progression of Chronic Kidney Disease. *Mayo Clinic Proceedings*, 94(7), 1339–1356. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2018.12.024>

O

- ✚ Okamura, M., Inoue, T., Ogawa, M., Shirado, K., Shirai, N., Yagi, T., Momosaki, R., & Kokura, Y. (2022). Rehabilitation nutrition in patients with chronic kidney disease and cachexia. *Nutrients*, *14*(4722).
- ✚ Oliveira-Paula, G. H., Lacchini, R., & Tanus-Santos, J. E. (2015). Endothelial nitric oxide synthase: From biochemistry and gene structure to clinical implications of NOS3 polymorphisms. *Gene*. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.09.061>
- ✚ Orieux, A., Boyer, A., Dewitte, A., Combe, C., & Rubin, S. (2022). Insuffisance rénale aiguë en soins intensifs-réanimation et ses conséquences : mise au point. *Néphrologie & Thérapeutique*, *18*(1), P :07-20.
- ✚ OLMER M. Vivre avec une maladie des reins. 3^{ème} édition. Liaison Information en Néphrologie 2007, P58.
- ✚ Obeid, Y., & Hammoud, H. (2023). Association entre les majeurs polymorphismes du gène eNOS et la coronaropathie parmi la population libanaise. *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique*, *71*(3), 101807. <https://doi.org/10.1016/j.respe.2023.101807>

P

- ✚ PUGH, D., Gallacher, P. J., & Dhaun, N. (2019). Management of Hypertension in Chronic Kidney Disease. *Drugs*, *79*(4), 365–379. <https://doi.org/10.1007/s40265-019-1064-1>
- ✚ Padhi, U. N., Mulkalwar, M., Saikrishna, L., Verma, H. K., & Bhaskar, L. V. K. S. (2022). NOS3 gene intron 4 a/b polymorphism is associated with ESRD in autosomal dominant polycystic kidney disease patients. *Jornal Brasileiro de Nefrologia*, *44*(2), 224–231. <https://doi.org/10.1590/2175-8239-JBN-2021-0089>

R

- ✚ Rabillera, J., & Faure, S. (2019). De la maladie rénale chronique à la transplantation rénale. *Pharmacie Gambart-Dhaine*.
- ✚ ROSANSKY, S. J. (2016). Managing chronic kidney disease in older people. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, *315*(3), 306–307. References bibliographies 39 <https://doi.org/10.1001/jama.2015.15993>
- ✚ Raache, R., Mihoubi, E., Benhalilou, N., & Nabila, A., et al. (2022). Recherche d'une association entre le polymorphisme -786 T>C de l'eNOS et la néphropathie du diabète de type 1 chez la population algérienne. *Néphrologie & Thérapeutique*, *18*(5), 386. <https://doi.org/10.1016/j.nephro.2022.07.306>

S

- ✚ Scanlon, V. C., & Sanders, T. (2007). *Essentials of anatomy and physiology* (5th ed.). F. A. Davis Company.
- ✚ SENAN, E. M., Al-Adhaileh, M. H., Alsaade, F. W., Aldhyani, T. H. H., Alqarni, A. A., Alsharif, N., Uddin, M. I., Alahmadi, A. H., Jadhav, M. E., & Alzahrani, M. Y. (2021). Diagnosis of Chronic Kidney Disease Using Effective Classification Algorithms and Recursive Feature Elimination Techniques. *Journal of Healthcare Engineering*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/1004767>
- ✚ STEELE, C., & NOWAK, K. (2022). Obesity, Weight Loss, Lifestyle Interventions, and Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. *Kidney and Dialysis*, 2(1), 106–122. <https://doi.org/10.3390/kidneydial2010013>
- ✚ Seid, K., Lakew, G., Bogale, S. K., Desalew, E. G., Yirsaw, A. N., Andarge, G. A., Belayneh, A. G., Berhie, A. Y., & Bogale, E. K. (2024). Prevalence of chronic kidney disease and associated factors among hypertensive patients in Ethiopia: A systematic review and meta-analysis. *Research Square*
- ✚ Sembulingam, K., & Sembulingam, P. (2012). *Essentials of medical physiology* (6th ed.). Jaypee Brothers Medical Publishers.
- ✚ Solanki, K., Rajpoot, S., Bezsonov, E. E., Orekhov, A. N., Saluja, R., Wary, A., Axen, C., Wary, K., & Baig, M. S. (2022). The expanding roles of neuronal nitric oxide synthase (NOS1). *PeerJ*, 10, e13651. <https://doi.org/10.7717/peerj.13651>
- ✚ Sennequier, N., & Vadon-Le Goff, S. (1998). Biosynthèse du monoxyde d'azote (NO) : Mécanisme, régulation et contrôle. *Médecine/Sciences*, 14(11), 1185-1198.
- ✚ RUSZKOWSKI, J., Heleniak, Z., Król, E., Tarasewicz, A., Witkowski, J. M., & DębskaŚlizień, A. (2021). Associations between symptoms of constipation and sleep quality in patients with nondialysis chronic kidney disease: A cross-sectional study. *Polish Archives of Internal Medicine*, 131(6), 512–519. <https://doi.org/10.20452/pamw.15974>

T

- ✚ Thameem, F., Puppala, S., Arar, N. H., Stern, M. P., Blangero, J., Duggirala, R., & Abboud, H. E. (2008). Endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene polymorphisms and their association with type 2 diabetes-related traits in Mexican Americans. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 5(2), 109

- ✚ Tran, N., Garcia, T., Aniq, M., Ali, S., Ally, A., & Nauli, S. M. (2022). Endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) and the Cardiovascular System: in Physiology and in Disease States. *American journal of biomedical science & research*, 15(2), 153–177.
- ✚ Thervet É., Grünfeld J.P. 2017. Traité de néphrologie. Paris : Lavoisier, 2017
- ✚ TRAORE H. 2006. Les infections urinaires dans le service de néphrologie et d'hémodialyse de l'hôpital du point Thèse de Doctorat en ligne. Université Bamako - Mali.
- ✚ Tortora, G et Derrickson, B. (2007). Principe d'anatomie et de physiologie. 4^{ème} éd. Canada. Boeck, Pp 1076-1077

V

- ✚ Vallance, P. (2003). Nitric oxide: Therapeutic opportunities. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 17(1), 1-10.
- ✚ VOICEHOVSKA, J. G., Bormane, E., Grigane, A., Moisejevs, G., Moreino, E., Trumpika, D., et Voicehovskis, V. V. (2021). Association of Arterial Stiffness with Chronic Kidney Disease Progression and Mortality. *Heart Lung and Circulation*, 30(11), 1694–1701. <https://doi.org/10.1016/j.hlc.2021.08.011>
- ✚ V. MONBET, Analyse des données : Master statistique et économétrie (note de cours), 2013-2014, P55-59.
- ✚ VERMA, A. K. (2020). Assessment of metabolic complications of chronic kidney disease. 2(2), 1–3.

W

- ✚ Welkriana, P. W., Sunarti, & Hastuti, P. (2011). T-786C Polymorphism in nitric oxide synthase 3 gene and Nitric Oxide Level of Diabetic Retinopathy in Javanese Population. *Indonesian Journal of Biotechnology*, 16(2), 126-131.

Y

- ✚ YAMAZAKI, T., Mimura, I., Tanaka, T., & Nangaku, M. (2021). Treatment of diabetic kidney disease: Current and future. *Diabetes and Metabolism Journal*, 45(1), 11–26. <https://doi.org/10.4093/DMJ.2020.0217>
- ✚ Y EL Housseini, O Pan, M Burnier ,B Vogt ,Tabagismet rein ;rev Med Suisse 5,457-62 ,2009

Z

- ✚ Zhou, L., & Zhu, D.-Y. (2009). Neuronal nitric oxide synthase: Structure, subcellular localization, regulation, and clinical implications. *Nitric Oxide*, 20(3), 223–230. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2009.03.001>

Annexes

Annexe I : Fiche de renseignement

Nom et prénom :

Age :

Adresse :

Groupage sanguin :

Tél :

Tabagisme :

Fumeurs

Non-fumeur

Alcoolique :

Ethnicité :

Couleur de la peau :

Variables anthropométriques mesurée le jour du prélèvement :

Poids (Kg) :

Taille (m) :

IMC (P/T^2) :

Antécédents personnels :

HTA :

Oui

Non

Systolique

Diastolique

Ancienneté :

Age de survenu :

Traitement suivi :

Diabète :

Oui

Non

Ancienneté :

Type I

Type II

Stade de la maladie (néphropathie diabétique) :

Traitement suivi :

Insuline

ADO

Sédentarité Oui Non
Ménopause Oui Non
Hérédité coronaire Oui Non
Autre (Préciser) :

Antécédents familiaux :

HTA :
Diabète :
Cardiopathie :
Néphropathie :
Autres :

Caractéristiques des hémodialysés :

Date de découverte de la maladie :
Type : Hémodialyse Dialyse péritonéal
Ancienneté de la dialyse (mois) :
Nombre de séance /semaine : Durée de la séance (Heure) :
Dose de la dialyse estimée par l'indicateur Kt/V :

Classification de la maladie rénale chronique :

Débutante Insuffisance rénale modérée
Insuffisance rénale préterminale Insuffisance rénale terminale

L'établissement d'un diagnostic étiologique de l'insuffisance rénale chronique :

Glomérulonéphrite chronique Néphropathie vasculaire
Néphropathie tubulo-interstitielle chronique Néphropathie lupique
Syndrome d'Alport Néphropathie indéterminée
Autre :

Si la biopsie rénale est faite, rechercher le compte -rendu anatomopathologique pour étiqueter le type histologique :

Lésion glomérulaire minime (LGM)

Hyalinose segmentaire et focale (HSF)

Glomérulonéphrite extra membraneuse (GEM)

Glomérulonéphrite membrano proliférative (GNMP)

Néphropathie mésangiale à IgA GN extra capillaire

Le statut de la sérologie hépatique au moment de l'enquête (HVB, HCV)

ECG :

Rythme régulier Rythme irrégulier

Hypertrophie ventriculaire gauche Oui Non

Angine de poitrine Oui Non

Infarctus du myocarde Oui Non

Insuffisance cardiaque Oui Non

Horizon du risque (Entre 4 et 10 ans) :

Biologie :

Urée : Créatinine :

Clairance de la créatinine : Cockcroft : MDRD :

Protéinurie :

Albuminurie :

Cholestérol total : HDL : LDL :

Triglycéride :

PTH :

FNS : HB : GB : PLQ :

VGM : CCMH :

Ferritinémie :

EPO :

Dose d'attaque :

Dose d'entretien :

Transfusion :

Nombre de flacon/an :

Fer injectable :

Sur le plan cardiovasculaire :

Echocoeur :

Echodopler :

Protocole de dialyse :

La durée de dialyse :

Les abords vasculaire :

Médicaments de dialyse :

**Annexe II : Résultat du dosage spectrophotométrique des ADNs
génomiques extraits (ADN double brin).**

Tubes d'ADN	Codes des patients	Concentration (µg/ml)	DO 230/260	DO à 260/280
01	69	216	0.77	1.65
02	71	528	/	1.38
03	75	234	/	1.1
04	79	364	1.09	1.71
05	81	296	1.33	1.41
06	67	174	0.87	1.65
07	68	207	0.63	1.68
08	70	211	1.3	1.7
09	72	81	0.88	1.64
10	73	+++ 542	0.87	1.67
11	74	+++ 238	0.61	1.61
12	76	+++ 85	1.43	1.66
13	77	62	1.70	1.56
14	78	36	1.2	1.57

Résumé

L'insuffisance rénale chronique (IRC) est une maladie progressive touchant environ 10 % de la population adulte mondiale, entraînant une perte irréversible des fonctions rénales, souvent causée par l'hypertension artérielle (HTA), le diabète et des facteurs génétiques. Cette étude, menée sur 22 patients en insuffisance rénale terminale (IRT) sous dialyse et comparée à 23 témoins sains, visait à explorer l'association entre le polymorphisme VNTR 4a/4b du gène *eNOS* et l'IRT. Les analyses, utilisant la PCR pour identifier ce polymorphisme, n'ont révélé aucune différence significative entre les patients et les témoins, bien que l'allèle 4b et le génotype homozygote 4b/b aient prédominé dans les deux groupes. Nos résultats ont démontré qu'il n'existe aucune association entre ce polymorphisme et l'IRT, contrairement à certaines études qui suggèrent un lien avec la pathologie rénale.

Mots clés : Insuffisance rénale chronique, polymorphisme, VNTR 4a/b, génotype, gène *eNOS*, PCR.

Abstract

Chronic kidney disease (CKD) is a progressive disease affecting approximately 10% of the adult population worldwide, leading to irreversible loss of kidney function, often caused by high blood pressure (HBP), diabetes, and genetic factors. This study, conducted on 22 patients with end-stage renal disease (ESRD) on dialysis and compared to 23 healthy controls, aimed to explore the association between the VNTR 4a/4b polymorphism of the *eNOS* gene and ESRD. Analyses, using PCR to identify this polymorphism, revealed no significant difference between patients and controls, although the 4b allele and the homozygous 4b/b genotype predominated in both groups. Our results demonstrated that there is no association between this polymorphism and TKD, contrary to some studies which suggest a link with the renal pathology.

Keywords: chronic kidney failure, polymorphism, VNTR 4a/b, genotype, gene *eNOS*, PCR.

ملخص

مرض الكلى المزمن (CKD) هو مرض تدريجي يؤثر على ما يقرب من 10٪ من السكان البالغين في العالم، ويؤدي إلى فقدان وظائف الكلى بشكل لا رجعة فيه، وغالبًا ما يحدث بسبب ارتفاع ضغط الدم، والسكري، والعوامل الوراثية. تهدف هذه الدراسة، التي أجريت على 22 مريضًا يعانون من مرض الكلى في المرحلة النهائية على غسيل الكلى ومقارنتها بـ 23 من الأصحاء، إلى استكشاف العلاقة بين تعدد الأشكال VNTR 4a/4b لجين *eNOS* ومرض الكلى المزمن. كشفت التحليلات، باستخدام تفاعل البوليميراز المتسلسل لتحديد تعدد الأشكال هذا، عن عدم وجود فروق ذات دلالة إحصائية بين المرضى والضوابط، على الرغم من أن أليل 4b والنمط الجيني المتماثل b/b هو السائد في كلا المجموعتين. أظهرت نتائجنا أنه لا يوجد ارتباط بين تعدد الأشكال والداء الكلوي بمراحله الأخيرة، على عكس بعض الدراسات التي تشير إلى وجود صلة مع أمراض الكلى.

الكلمات المفتاحية: الفشل الكلوي المزمن، تعدد الأشكال الجيني VNTR 4a/b، الجين *eNOS*، تحليل تفاعل البوليميراز المتسلسل،

