



N° d'ordre :  
N° de série :

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE**  
**SCIENTIFIQUE**  
**UNIVERSITE ECHAHID HAMMA LAKHDAR EL-OUED**  
**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**  
**DEPARTEMENT DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE**

## **MEMOIRE DE FIN D'ETUDE**

En vue de l'obtention du diplôme de Licence Académique

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

### **THEME**

Effet du métabolisme du fer sur  
l'hémoglobine chez une population atteinte  
d'une insuffisance rénale dans la région  
d'El-Oued

Dirigé par:

M<sup>elle</sup> RAMDANE Farah

Présenté

FAREH Achouak

FAREH Insaf

KHOSSA Saoussan

MLIK Rania

Année universitaire : 2014/2015

## *Remerciements*

*Nous remercions DIEU tout puissant qui nous avons donné le courage, la volonté et la patience pour mener à bien ce travail.*

*Au terme de cette étude, nous tenons à adresser nos profondes reconnaissances à toutes les personnes*

*qui nous ont soutenue, aidée et encouragée tout au long de ce travail.*

*Nous avons l'honneur et le plaisir de présenter notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre encadreur M<sup>elle</sup> :*

***RAMDAN FARAH***

*, tout d'abord pour nous avoir fait confiance et pour nous avoir inspiré le sujet ensuite pour ses conseils précieux, ses orientations judicieuses et ses directives efficaces, ainsi que pour les réflexions avisées qu'elle nous a apportées.*

*Nous remercions également nos familles, nos amis, pour leur soutien et leur aide durant notre travail de recherche*

*Nous remercions profondément tous les enseignants qui nous ont encouragé et soutenu pendant notre cursus*

*Nous tenons enfin, à remercier tous ceux et celles qui se reconnaîtront, pour leur contribution à la réalisation de ce travail ; en particulier l'équipe de laboratoire de l'hôpital El Bachir Ben Nasser ; Ben Amor Djilani ; nous les adressons une pensée spéciale pour leur aide*

L'insuffisance rénale chronique représente un problème majeur de santé publique. Parmi les nombreuses maladies associées à l'insuffisance rénale chronique, les plus fréquemment rencontrées sont l'hypertension artérielle, le diabète, et les dyslipidémies. L'IRC provoque également de nombreuses complications au niveau de l'organisme telles l'anémie, l'hyperkaliémie, l'acidose métabolique.

Notre étude rétrospective, qui a concernée 160 personnes de différent âge (Homes et femmes) malades et saines dans le service de Néphrologie-Dialyse de l'hôpital d'El Oued, a pour objectif d'une part, l'évaluation de la proportion et de la nature des paramètres biochimiques dosés dans un échantillon de patients ont une insuffisance rénaux chroniques et d'autre part de développer la relation théorique entre le métabolisme du fer et celle de l'hémoglobine chez ces patients insuffisant rénaux. Les résultats obtenus montrent une augmentation du taux d'urée, créatinine et parfois la glycémie, cela est due à la déficience remarquable des fonctions des reins. Le traitement de l'insuffisance rénale chronique terminale est la dialyse rénale (hémodialyse et dialyse péritonéale) ou la transplantation rénale qui sont des moyens de prise en charge lourds et couteux.

**Mots clés:** insuffisance rénale, anémie, urée, créatinine, fer, hémoglobine.

<b>Sommaire</b>	
<b>Introduction générale</b>	
<b>PREMIERE PARTIE: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>Chapitre I: Généralité sur l'érythropoïèse et le métabolisme du fer</b>	
<b>I.1. Erythropoïèse</b> .....	<b>4</b>
<b>1.1. Définition</b> .....	<b>4</b>
<b>1.2. Stades de l'érythropoïèse</b> .....	<b>4</b>
<b>2. Déroulement de l'érythropoïèse</b> .....	<b>4</b>
<b>2.1. Différenciation et prolifération cellulaire</b> .....	<b>4</b>
<b>3. Métabolisme du fer</b> .....	<b>6</b>
<b>3.1. Absorption du fer</b> .....	<b>7</b>
<b>3.2. Réserves en fer de l'organisme</b> .....	<b>8</b>
<b>3.3. Transport sanguin et captation du fer par la cellule</b> .....	<b>9</b>
<b>3.4. Utilisation du fer lors de l'érythropoïèse</b> .....	<b>10</b>
<b>3.5. Synthèse de l'hémoglobine</b> .....	<b>11</b>
<b>3.6. Synthèse de l'hème</b> .....	<b>13</b>
<b>3.7. Réutilisation du fer des GR (recyclage) érythrophagocytose</b> .....	<b>15</b>
<b>3.8. Variations de la quantité en fer de l'organisme</b> .....	<b>17</b>
<b>Chapitre II: Généralités sur l'insuffisance rénale et son influence sur l'érythropoïèse</b>	
<b>II.1. Rappel sur les reins</b> .....	<b>20</b>
<b>1.1. Anatomie – Physiologie</b> .....	<b>20</b>
<b>1.2. Différentes fonctions du rein</b> .....	<b>21</b>
<b>2. Structure et fonction de l'érythropoïétine</b> .....	<b>23</b>
<b>2.1. Structure</b> .....	<b>23</b>
<b>2.2. Rôles physiologiques et utilisations de l'EPO</b> .....	<b>24</b>
<b>2.3. Récepteur</b> .....	<b>24</b>
<b>2.4. Régulation de la sécrétion d'EPO</b> .....	<b>25</b>
<b>2.5. Variations physiologiques et pathologiques de la synthèse d'EPO</b> .....	<b>27</b>
<b>2.5.1. Concentration physiologique en EPO</b> .....	<b>27</b>
<b>2.5.2. Variations physiologiques et pathologiques de la concentration</b> .....	<b>28</b>
<b>3. Insuffisance rénale</b> .....	<b>28</b>
<b>3.1. Définition biologique de l'insuffisance rénale</b> .....	<b>29</b>
<b>3.2. Différent types d'insuffisance rénale</b> .....	<b>29</b>

3.2.1. Insuffisance rénale aiguë (IRA).....	29
3.2.2. Insuffisance rénale chronique(IRC).....	29
3.3. Causes de l'insuffisance rénale.....	29
3.4. Symptômes de l'insuffisance rénale.....	30
4. L'anémie lors de l'insuffisance rénale.....	30
4.1. Déficit partiel ou total de synthèse d'EPO.....	31
4.2. La carence en fer.....	33
4.2.1. Fonctions du sang .....	34
4.2.2. Maladies inflammatoires chroniques.....	34
4.2.2.1. Anémie des maladies chroniques.....	34
4.2.2.2. Mécanismes responsables de l'anémie associée aux états inflammatoires chroniques .....	35
4.2.2.3. Métabolisme du fer et anémie des maladies inflammatoires chroniques.....	36
4.2.2.4. Anémie inflammatoire en stade terminal d'insuffisance rénale.....	38
<b>DEUXIEME PARTIE: PARTIE PRATIQUE</b>	
<b>Chapitre I: Matériel et Méthodes</b>	
I.1.Présentation de lieu d'étude .....	42
1.1. Analyse au laboratoire.....	42
2. Matériels de laboratoire.....	42
3. Méthodes.....	43
3.1. Prélèvements.....	43
3.2. Méthode biochimique.....	44
3.3. Dosage des paramètres biochimiques.....	45
3.3.1. L'acide urique.....	45
3.3.2. L'urée.....	48
3.3.3. la créatinine.....	50
3.3.4. La glycémie.....	53

3.3.5. Calcium.....	55
3.3.6. Phosphore.....	57
3.3.7. FNS (Hémogramme).....	60
3.3.7.1. Hemoglobine (Hb).....	61
3.3.7.2. Globules Rouges (GR).....	62
3.3.7.3. Globules blancs (GB).....	63
3.3.7.4. Plaquettes (Pq) .....	63
<b>Chapitre II : Résultats et discussion</b>	
II.1. Résultats.....	65
1.1. Présentation des populations étudiées.....	65
1.2. Etude des paramètres biochimiques chez les personnes de sexe masculin (saines et malades).....	65
1.3. Etude des paramètres biochimiques chez les personnes de sexe féminin (saines et malades).....	67
2. Discussion.....	69
Conclusion générale .....	72
Références bibliographiques.....	73
Résumé	

## Liste des tableaux

<b>Numéro</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Facteurs physiopathologiques intervenant dans l'anémie des maladies chroniques.	<b>36</b>
<b>2</b>	Nombre de groupes sains et malades.	<b>42</b>
<b>3</b>	Les différentes compositions des globules rouges.	<b>62</b>
<b>4</b>	Les différents types des globules blancs.	<b>63</b>
<b>5</b>	Paramètres biochimiques chez les personnes de sexe masculin (sains).	<b>65</b>
<b>6</b>	Paramètres biochimiques chez les personnes de sexe masculin (malades).	<b>66</b>
<b>7</b>	Paramètres biochimiques chez les personnes de sexe féminin (saines).	<b>67</b>
<b>8</b>	Les paramètres d'évaluation du statut en analyses biologiques chez les personnes de sexe féminin (femmes malades).	<b>67</b>
<b>9</b>	Paramètres hématologiques chez les personnes du deux sexe (20 masculins et 20 féminins malades).	<b>68</b>

## Liste de figures

Numéro	Titre de figure	Page
1	Les stades de l'érythropoïèse.	6
2	Absorption intestinale du fer.	8
3	Entrée et sortie du fer de l'hépatocyte.	8
4	Endocytose du fer lié à la TF par RTF.	10
5	Structure de l'hémoglobine humaine adulte ( $\alpha_2\beta_2$ ).	12
6	Synthèse des chaînes de globine.	12
7	Biosynthèse de l'hème.	14
8	Erythrophagocytose et recyclage du fer.	17
9	Shéma représente le métabolisme du fer.	18
10	Anatomie générale du système Urinaire.	20
11	Shéma du principe du fonctionnement des reins.	20
12	Anatomie d'un rein.	21
13	Représentation de la structure primaire de l'érythropoïétine.	23
14	Structure tridimensionnelle de l'EPO humaine.	23
15	Mécanisme général de l'érythropoïèse et rôle de l'EPO.	24
16	Représentation schématique des principales étapes de la régulation de de la synthèse rénale d'EPO.	26
17	Régulation endocrine de l'érythropoïèse.	27
18	Cascade d'effets résultants d'une diminution d'apport en oxygène, sur la synthèse d'EPO.	28

<b>19</b>	Schéma pathogénique de l'anémie induite par un déficit de synthèse d'érythropoïétine lors d'insuffisance rénale chronique.	<b>32</b>
<b>20</b>	Cycle du fer.	<b>33</b>
<b>21</b>	Rôle de l'IL-6 dans le développement de l'anémie des maladies chroniques.	<b>38</b>
<b>22</b>	Pathogénie de l'anémie lors d'insuffisance rénale chronique.	<b>39</b>
<b>23</b>	Bain-marie de type nûve bath.	<b>42</b>
<b>24</b>	Micropipette.	<b>42</b>
<b>25</b>	Prélèvement et centrifugation du sang.	<b>43</b>
<b>26</b>	Centrifugeuse.	<b>44</b>
<b>27</b>	Spectrophotométrie à transmission moléculaire de type UV- VIS 1240.	<b>45</b>
<b>28</b>	Automate.	<b>60</b>
<b>29</b>	Présentation de la population étudiée selon le sexe.	<b>65</b>
<b>30</b>	Evaluation des paramètres biochimiques chez les personnes de sexe masculin (hommes sains et malades).	<b>66</b>
<b>31</b>	Evaluation des paramètres biochimiques chez les personnes de sexes féminins (saines et malades).	<b>68</b>

- A:** Absorbance.
- ADN :** Acide désoxyribonucléique.
- ALA:**  $\delta$ -aminolevulinate.
- AP:** Aminophenazone.
- apoTf :** Apo-transferrine.
- ARN:** Acide ribonucléique.
- $\beta$ 2m:**  $\beta$ 2-microglobuline.
- BFU-E:** Blast-forming unit-erythroid.
- BFU-MEG:** Megakaryocyte burst-forming units.
- CCMHb:** Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine.
- CFU:** Colony-forming unit.
- CFU-E:** Colony forming unit-erythroid.
- CFU-GEMM:** Colony forming unit-granulocyte erythrocyte megacaryocyte.
- CO:** Monoxyde de carbone.
- CO<sub>2</sub>:** Dioxyde de carbone.
- CP:** Céruloplasmine.
- CRP:** Protéine c-réactive.
- CSH:** Cellule souche hématopoïétique.
- DCPS:** 2-4 Dichlorophénol sulfonate.
- DFG:** Débit de filtration glomérulaire.
- DMT1:** Divalent metal transporter 1.
- DO:** Longueur d'onde.
- DP:** Dialyse péritonéale.
- DPG:** Diphosphoglycérate.
- EDTA:** Acide éthylène diamine tétraacétique.
- EP:** Erythrophagocytose.
- EPO:** Erythropoïétine.
- Fe<sup>2</sup>-Tf:** L'holotransferrine.
- FLVCR:** Feline leukemia virus subgroup C.
- FNS:** Numération-formule sanguine.
- GB:** Leucocytes.
- G-CSF:** Granulocyte colony stimulating factor.
- GM-CSF:** Granulocyte macrophage-colony stimulating factor.
- GOD:** Glucose oxidase.

- GR:** Globule rouge.
- HCl:** Acide chlorhydrique.
- HD:** Hémodialyse.
- HFE:** Human hemochromatosis ou HFE protein ou HFE for High Fe (hemochromatosis); sa mutation provoque l'hémochromatose.
- HO:** Hème-oxygénase.
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** Peroxyde d'hydrogène.
- Ht:** Hématocrites.
- HTA:** Hypertension artérielle.
- IFN:** Interféron.
- IL:** Interleukine.
- IRA:** Insuffisance rénale aiguë.
- IRC:** Insuffisance rénale chronique.
- IRE:** Iron regulated element.
- IRP:** Iron regulatory protein.
- kDa:** Kilo-dalton.
- KO:** Knock-out.
- LCR:** Locus control region.
- M-CSF:** Macrophage colony stimulating factor.
- MRC:** Maladies rénales chroniques.
- NaCl:** Chlorure de sodium.
- NaClO:** Sodium hypochlorite.
- NGAL:** Neutrophil gelatinase associated.
- NH<sub>4</sub>:** Ammoniaque.
- NO:** Monoxyde d'azote.
- NTBI:** Non transferrin bound iron.
- O<sub>2</sub>:** Dioxygène.
- PA:** Pression artérielle.
- POD:** Peroxydase.
- Pq:** Plaquettes.
- PTH:** Pormone parathyroïdienne.
- R:** Réactif.
- RTf:** Récepteur transferrine.
- R-Tf2:** Récepteur transferrine 2.

**SCF:** Stem cell factor.

**SRE:** Système réticulo-endothélial.

**STEAP:** Six-transmembrane epithelial antigen of the prostate.

**TCMHb:** Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine.

**Tf :** Transferrine.

**Tf/RTf1:** Récepteur transferrine 1.

**TfR:** Recepteur transferrine.

**TNF:** Tumour necrosis factor.

**TRIS:** Trishydroxyméthylaminométhane.

**VGM:** Volume globulaire moyen.

**VMP:** Volume moyen plaquettaire.

**WHO:** La world health organisation.

Les affections rénales sont des affections fréquemment rencontrées chez les humains. Les diverses fonctions rénales s'en trouvent alors altérées, et cette perte de fonction peut être mise en évidence par un certain nombre d'examen, tels que la biochimie ou l'imagerie. Les humains souffrants de maladies rénales survivent la plupart du temps plusieurs mois à plusieurs années avec un niveau de vie très acceptable. Bien qu'actuellement aucun traitement ne permette de corriger les lésions irréversibles du rein, les conséquences cliniques et biochimiques découlant d'une diminution de la fonction rénale peuvent souvent être améliorées par un traitement symptomatique et de soutien.

Les maladies rénales peuvent dans certaines circonstances mener à l'apparition de deux types d'insuffisance rénale; aiguë et chronique, selon l'importance, la sévérité et la durée d'évolution des lésions. L'insuffisance rénale implique donc une perte des néphrons.

Les reins assurant de multiples fonctions, l'insuffisance rénale entraîne indéniablement une altération de l'élimination des déchets du métabolisme corporel, de l'homéostasie des équilibres acido-basique et hydro-électrique, de sa fonction de réabsorption, et enfin, de sa fonction endocrine.

Parmi les altérations de la fonction endocrine, l'anémie constitue une complication fréquente de l'insuffisance rénale. Chez l'homme, il a été démontré que l'anémie contribue à l'expression de signes cliniques et à l'altération de l'état général des patients insuffisants rénaux, et qu'elle influence le pronostic vital.

Le terme d'insuffisance rénale sera, dans ce manuscrit, utilisé afin de désigner l'ensemble des stades azotémiques des maladies rénales, cette notion se heurtant depuis plusieurs années, y compris en médecine humaine, à une multitude de définitions.

L'objectif de cette investigation est d'étudier l'effet du métabolisme du fer sur l'hémoglobine, ainsi d'évaluer l'importance de l'anémie au sein d'une population de humains insuffisants rénaux, et ce par l'intermédiaire d'une étude rétrospective. Ce travail sera précédé d'une partie bibliographique au sein de laquelle nous nous intéresserons d'abord à la définition d'érythropoïèse et le métabolisme du fer, aussi l'insuffisance rénale et son influence sur ce processus; puis à sa prise en charge diagnostique et thérapeutique par l'étude de sa nature et à la reliance sur les résultats des analyses biologiques (glycémie, urée, créatinine, l'acide urique ;et FNS).

# **PARTIE I**

## **Synthèse bibliographique**

# **CHAPITRE I**

## **Généralité sur l'érythropoïèse et le métabolisme du fer**

**I.1. Erythropoïèse****1.1. Définition**

L'érythropoïèse est un processus complexe qui aboutit à la formation de 100 milliards de globules rouges/jour. Elle a lieu chez l'adulte dans la moelle osseuse. Elle est finement régulée pour permettre d'adapter la production aux besoins en oxygène des tissus périphériques. La production doit être constante et suffisante. Cependant, elle ne doit pas être excessive comme dans les polyglobulies où elle aboutit à une augmentation du nombre des globules rouges qui augmente la viscosité sanguine diminuant la perfusion périphérique et pouvant ainsi provoquer des thromboses. Dans certaines pathologies, cet équilibre est rompu. L'objet de cette revue est de discuter à la lumière des mécanismes physiologiques les dérégulations de l'érythropoïèse, et en particulier celles associées à des désordres néphrologiques (Zermati Y., 2004).

**1.2. Stades de l'érythropoïèse**

On peut définir trois stades d'érythropoïèse au cours du développement:

- L'érythropoïèse primitive qui a lieu dans les îlots sanguins du sac vitellin. Cette érythropoïèse est indépendante d'un signal (EPO) et conduit à la formation de larges érythroblastes possédant un noyau, appelés mégaloïstes. .
- L'érythropoïèse définitive est marquée par une forte prolifération des progéniteurs érythroïdes dans le foie foetal.
- L'érythropoïèse adulte qui se caractérise par la migration des CSH du foie foetal vers la moelle osseuse (Sidani S., 2004).

**2. Déroulement de l'érythropoïèse****2.1. Différenciation et prolifération cellulaire**

Les cellules souches sont initialement totipotentes, et peuvent donc donner des cellules de la lignée myéloïde ou de la lignée lymphoïde. Elles sont stimulées par au moins 2 facteurs de croissance hématopoïétiques, l'interleukine-3 et le facteur de stimulation de la colonie granulocyte macrophage (GM-CSF). Elles se différencient ensuite en des progéniteurs appartenant à la (CFU) pouvant donner des granulocytes, des monocytes, des mégacaryocytes et des érythrocytes (CFU-GEMM). Les cellules de la CFU-GEMM se différencient ensuite pour donner les progéniteurs des érythrocytes de la (BFU-E), qui donneront elles-mêmes par différenciation des progéniteurs plus matures, tardifs et unipotents, appartenant à la (CFU-E).

Les deux derniers types de cellules sont sensibles à l'action de (EPO). Les cellules BFU-E sont modérément sensibles à l'érythropoïétine (voire pas du tout à leur stade précoce), et leur production dépend de nombreux autres facteurs de croissance (Giger U., 1992).

A l'opposé, les cellules CFU-E sont très sensibles à l'érythropoïétine, et cette hormone est même indispensable à leur différenciation et à leur survie (Murray R.K. *et al.* , 2006) .

De nombreux facteurs de croissance et de transcription sont désormais connus pour intervenir à différentes étapes de la maturation des cellules au cours de l'érythropoïèse. La plupart de ces facteurs de croissance agissent en synergie avec l'érythropoïétine, mais ils ne sont pas capables d'induire seuls une érythropoïèse suffisante. Les cellules CFU-E donnent ensuite par différenciation des érythroblastes qui se distinguent très bien morphologiquement par l'accumulation d'hémoglobine au sein de leur cytoplasme. L'érythropoïétine a encore une fois une action modérée au niveau des érythroblastes (Murray R.K. *et al.* , 2006).

Parmi les précurseurs érythroblastiques, différents stades morphologiques sont décrits dans la maturation de la lignée érythroblastique: le pro-érythroblaste, l'érythroblaste basophile, l'érythroblaste polychromatophile où apparaît l'hémoglobine, et l'érythroblaste acidophile. Le réticulocyte se différencie de l'érythroblaste acidophile par la perte du noyau: celui-ci devenu pycnotique et inutile est expulsé. Cette maturation des érythroblastes nécessite un apport en certains facteurs, dont la vitamine B12 et les folates pour la synthèse de l'ADN, le fer et la vitamine B6 pour la synthèse de l'hème. L'arrêt des divisions cellulaires est dû à l'obtention d'une concentration intracellulaire critique en hémoglobine (Sébahoun G., 2005).

En parallèle, les cellules de la CFU-GEMM peuvent se différencier non pas en BFU-E, mais en CFU-GM et BFU-MEG, qui donneront ensuite des monocytes sous l'action de la M-CSF des polynucléaires sous l'action de la G-CSF sous l'action de la thrombopoïétine (Hillman R.S. *et al.* , 2007).

Il est important de noter que les cytokines agissent non pas sur une seule étape de différenciation des progéniteurs, mais sur une période plus longue, et que plusieurs cytokines peuvent agir à une même étape de différenciation, ceci laissant suggérer l'existence d'effets alternatifs, séquentiels, synergiques ou additifs (Sébahoun G., 2005).

L'hématopoïèse est un processus ininterrompu tout au long de la vie de l'animal, sans modification liée au vieillissement. Même si la moelle osseuse est plus riche en tissu hématopoïétique qu'en adipocytes chez le jeune, ce rapport s'inversant avec l'âge, les capacités de production et de réponse à l'anémie ou à l'hypoxémie n'en sont pas modifiées. Quel que soit l'âge, une stimulation de l'érythropoïèse provoque une expansion du tissu hématopoïétique et une raréfaction adipocytaire (Hillman R.S. *et al.* , 2007) .

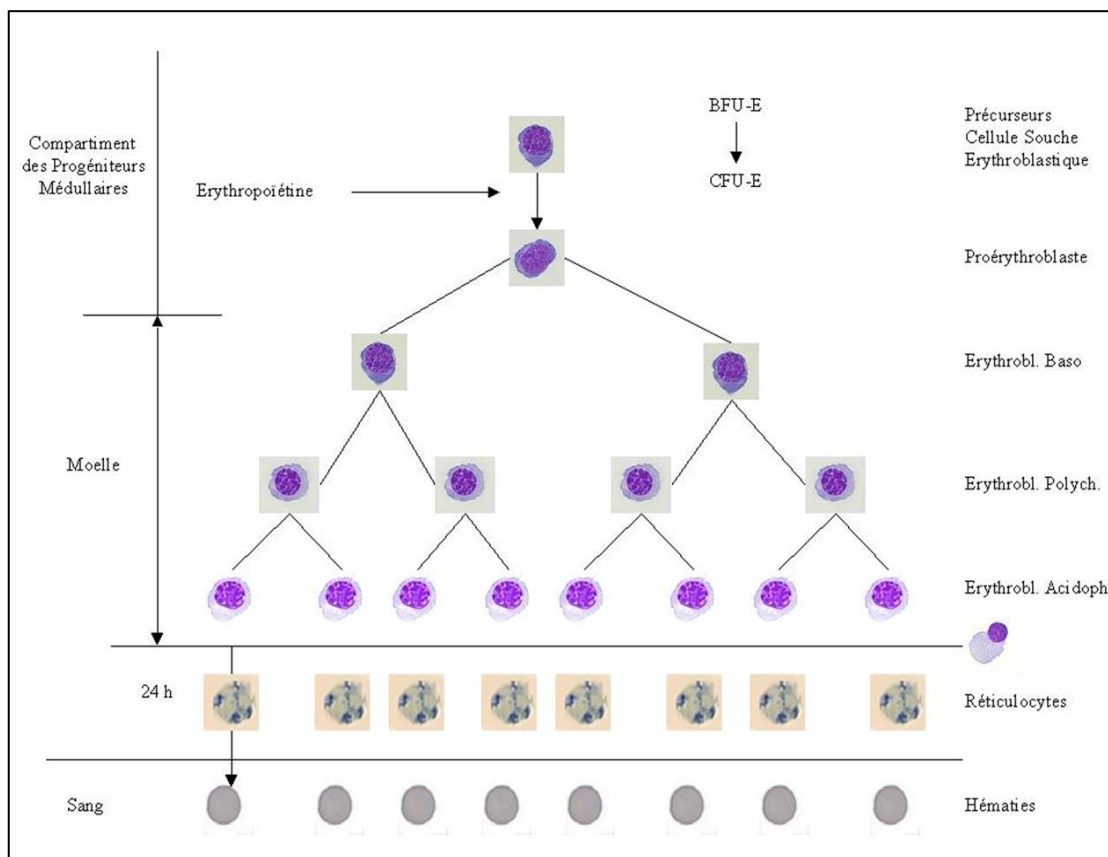


Figure 1: Les stades de l'érythropoïèse (Goasguen. *et al.* , 2003).

### 3. Métabolisme du fer

Le fer est essentiel à la synthèse de l'hémoglobine. Il provient de l'alimentation, et son absorption dans la circulation sanguine est régie de manière très précise par des cellules intestinales activées en réaction aux fluctuations des réserves en fer de l'organisme (Marieb E.N., 2005).

Environ 65% des réserves de l'organisme en fer se trouvent dans l'hémoglobine. La vitamine B12 et l'acide folique sont nécessaires à la synthèse physiologique de l'ADN, c'est pourquoi une carence même discrète peut avoir des répercussions sur la synthèse de l'hémoglobine et la production des hématies et de ses précurseurs (Guyton A.C *et al.* , 2003) .

### 3.1. Absorption du fer

Le fer est plus facilement absorbé à l'état ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ), mais la majorité du fer alimentaire est sous la forme ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ). Il y a très peu d'absorption de fer dans l'estomac, mais les sécrétions gastriques dissolvent le fer, lui permettant ainsi de former des complexes solubles avec des substances comme l'acide ascorbique qui facilite sa réduction en forme ferreuse  $\text{Fe}^{2+}$ . L'importance de cette fonction de l'estomac chez l'homme est illustrée par le fait que la gastrectomie partielle se complique souvent d'une anémie par déficience en fer (Sébahoun G *et al.* , 2005) .

La majeure partie de l'absorption du fer a lieu dans la partie proximale de l'intestin grêle. Le  $\text{Fe}^{2+}$  hème et le  $\text{Fe}^{2+}$  non hème sont tous deux absorbés. L'hème se lie à une protéine de transport encore non identifiée pour être transporté dans le cytoplasme, où l'enzyme hème oxygénase retire le  $\text{Fe}^{2+}$  de la porphyrine et l'ajoute au pool du  $\text{Fe}^{2+}$  libre dans l'entérocyte. Le  $\text{Fe}^{2+}$  non hème, pour sa part, est absorbé par d'autres protéines de transport. Plusieurs protéines de transport ont été isolées, mais le nombre et l'identité exactes de ces protéines, de même que leur rôle exact demeurent mal connus (Sébahoun G. *et al.* , 2005) .

Dans les entérocytes, une partie du fer  $\text{Fe}^{2+}$  cytoplasmique est oxydée en  $\text{Fe}^{3+}$  puis liée à l'apoferritine pour former la ferritine. Le fer emmagasiné sous cette forme n'est pas facilement libéré et, en général, la ferritine reste dans les entérocytes durant toute leur migration vers le sommet des villosités, et elle est éliminée dans les fèces lors de la desquamation de ces cellules. La majeure partie du  $\text{Fe}^{2+}$  cytoplasmique qui reste est transportée activement à travers la membrane base-latérale de l'entérocyte, et passe dans le sang, où elle se lie sous forme de  $\text{Fe}^{3+}$  à l'apotransferrine, formant la transferrine, qui est la protéine de transport du fer dans le plasma. Ce polypeptide possède deux sites de liaison pour le fer.

Normalement, la saturation en fer de la transferrine est d'environ 35%. L'absorption du fer augmente quand ses réserves corporelles sont basses ou quand l'érythropoïèse est augmentée, et elle diminue dans les conditions opposées (Hillman R.S *et al.* , 2007) .

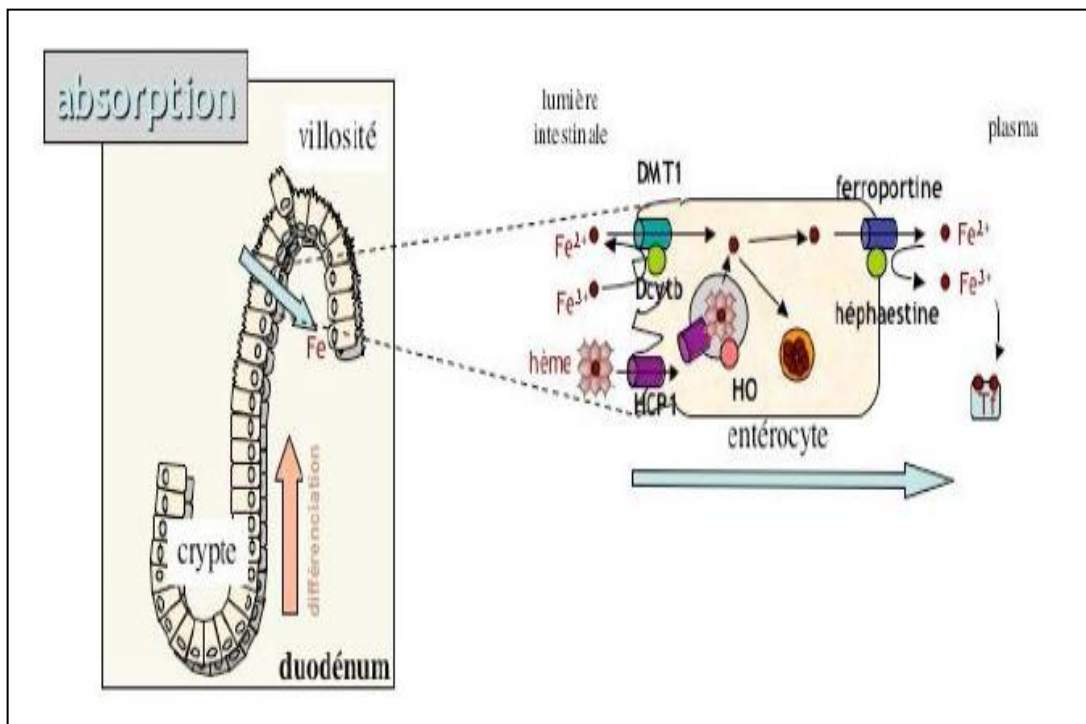


Figure 2: Absorption intestinale du fer (Pietrangelo A., 2004).

### 3.2. Réserves en fer de l'organisme:

Les réserves se trouvent essentiellement au sein des cellules du système des phagocytes mononucléés et dans les hépatocytes sous forme de ferritine et d'hémosidérine. La ferritine est principalement intracellulaire et constitue une forme de réserve mobilisable. Elle est trouvée en petite quantité dans le plasma mais non chargée en fer, et est rapidement captée par le foie pour être métabolisée. L'hémosidérine contient une fraction plus importante en fer, mais ces réserves sont difficilement mobilisables (Sébahoun G. *et al.*, 2005).

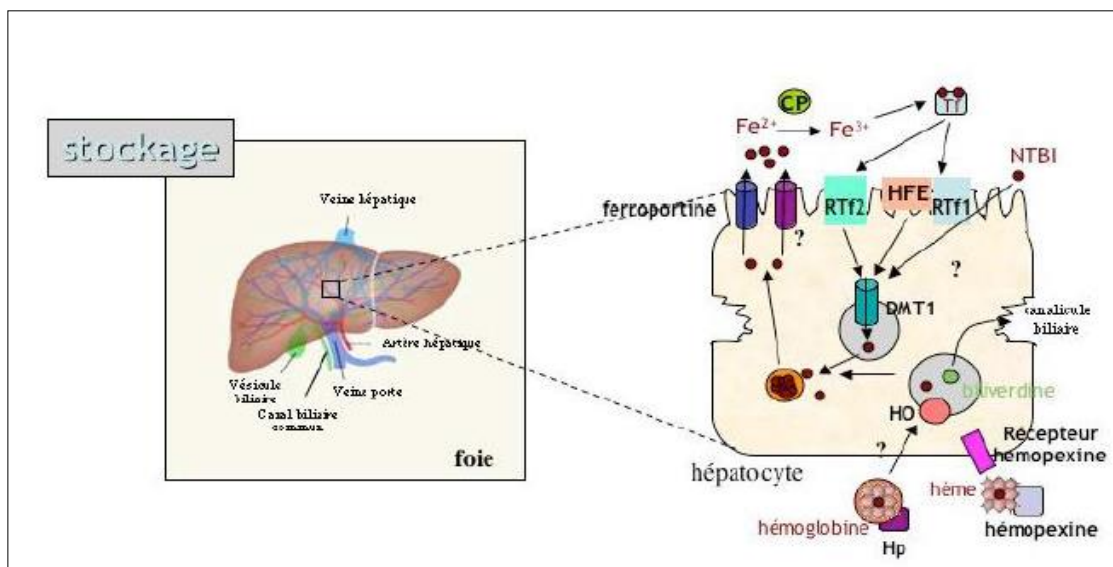


Figure 3: Entrée et sortie du fer de l'hépatocyte (Pietrangelo A., 2004).

### 3.3. Transport sanguin et captation du fer par la cellule

Le fer lié à la transferrine (Tf-Fe<sup>2+</sup>) est capté par les cellules via le récepteur à la (RTf1). Les cellules utilisent ce fer pour synthétiser de nombreuses protéines contenant un ou plusieurs atomes de fer. Ces protéines sont impliquées dans divers mécanismes cellulaires, mais les propriétés liées au cycle d'oxydoréduction du fer en font un métal de choix pour permettre le transfert d'électrons dans la chaîne respiratoire, la catalyse, le transport et le stockage de l'oxygène ou bien le transport du NO (Johnson, D.C. *et al.*, 2005).

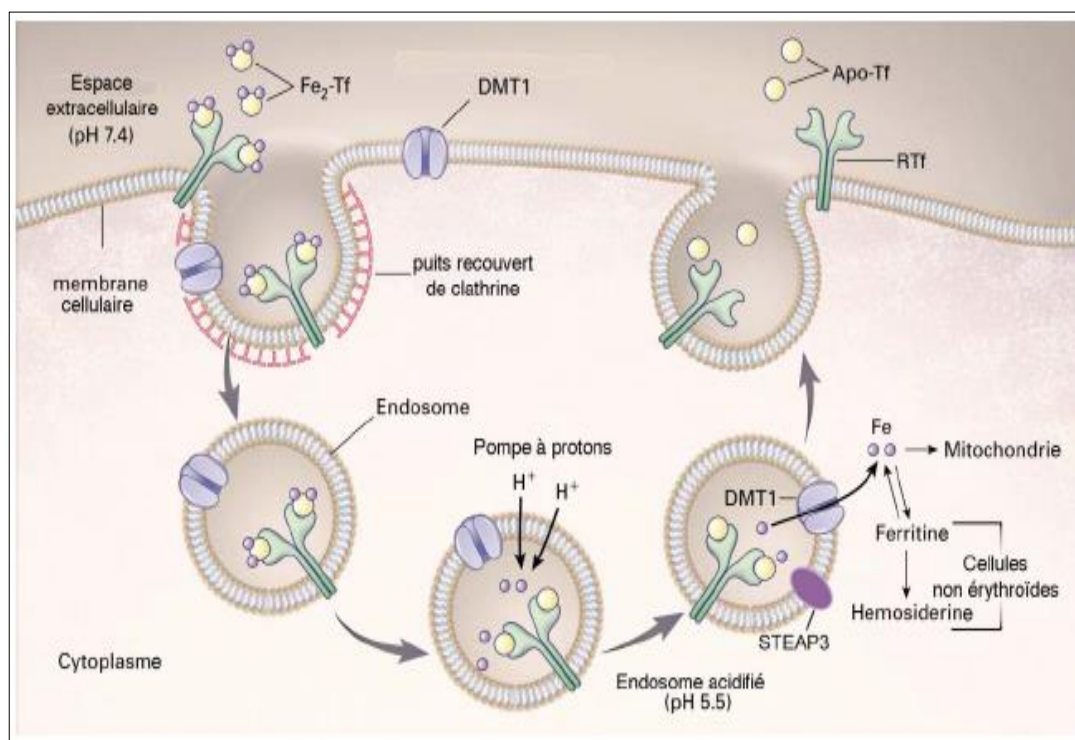
#### 3.3.1. Captation du fer par le récepteur de la transferrine

Le complexe Tf/RTf1 (Cheng, Y. *et al.*, 2004) pénètre dans la cellule par endocytose, le fer est libéré du complexe dans l'endosome tardif à la faveur d'un pH acide, puis est transféré de l'endosome vers le cytosol probablement grâce au transporteur DMT1 (Fleming, M.D. *et al.*, 1998). Très récemment, par l'étude de souris anémiques *nm1504*, a été identifiée une ferriréductase endosomale qui serait responsable de la réduction du fer lié à la Tf avant le transport transmembranaire de ce fer par DMT1 dans les précurseurs érythroïdes : STEAP3 (Ohgami, R.S. *et al.*, 2005). La Tf libérée de son fer, (apoTf), et son récepteur sont ensuite tous deux recyclés à la surface cellulaire.

Le recyclage est un phénomène complexe faisant intervenir un grand nombre de molécules. L'une d'entre elles vient d'être clairement identifiée grâce au clonage positionnel du gène responsable du phénotype de souris mutantes dites déficientes en hémoglobine, les souris *hbd*. Le gène en question code pour une protéine impliquée dans l'exocytose des vésicules, Sec1511 (Lim, J.E. *et al.*, 2005). Sa mutation chez la souris entraîne un phénotype particulier de déficit relatif en fer dans le proérythroblaste sans déficit en fer systémique (Wilkins, S.J. *et al.*, 2005). Le rôle exact joué par la protéine mutante Sec1511 dans l'acquisition de ce phénotype reste à déterminer (White, R.A. *et al.*, 2005).

L'interaction de la Tf avec son récepteur est utilisée dans un grand nombre de cellules (en particulier les cellules tumorales qui prolifèrent beaucoup). Elle ouvre des perspectives thérapeutiques intéressantes et est maintenant utilisée pour la délivrance de drogues/médicaments à l'intérieur des cellules (Li, H. *et al.*, 2002). Par exemple, le gallium <sup>67</sup>Ga<sup>3+</sup> émet un rayonnement gamma qui lui confère des propriétés anti-tumorales et ce métal est capable de se lier à la Tf qui le transporte jusqu'aux cellules cibles. D'autres formes d'acquisition du fer par les cellules ont été décrites :

- Acquisition du fer non lié à la Tf (Non Transferrin Bound Iron, NTBI) (Baker, *E.et al.*, 1998).
- Acquisition de l'holoTf par une voie indépendante de RTf1 (Thorstensen, *K.et al.*, 1995).
- Acquisition de la ferritine médiée par un récepteur (Gelvan, *D.et al.*; 1996).
- Enfin, la découverte de la capacité de la molécule NGAL à transporter du fer pourrait également être une nouvelle forme d'acquisition du fer, essentiellement en situation d'inflammation (Yang, *J.et al.*, 2002).



**Figure 4:** Endocytose du fer lié à la Tf par RTF (Cheng, *Y .et al.*, 2004).

### 3.4. Utilisation du fer lors de l'érythropoïèse

Les précurseurs érythroblastiques expriment sur leur membrane un récepteur de la transferrine (TfR). Les complexes fer-transferrine captés par les récepteurs sont internalisés dans le cytoplasme cellulaire sous forme de vacuoles. Après libération du fer dans le cytoplasme, les complexes TfR-transferrine sont exportés vers la membrane et la transferrine est libérée dans le plasma. Dans le cytoplasme, le fer est utilisé au sein des mitochondries pour la synthèse de l'hème, ou stocké au sein d'une protéine semi-cristalline, la ferritine. L'incorporation du fer au sein de l'hémoglobine constitue 80 à 90% de l'utilisation de ce métal. Le fer non utilisé ou résultant de l'hémolyse physiologique est stocké par les macrophages de la moelle osseuse et de la rate. Ce fer peut être remis à disposition de l'érythropoïèse après transport plasmatique par la transferrine vers les érythroblastes.

L'hepcidine, peptide synthétisé par le foie, exerce un rôle majeur de régulation des mouvements de fer à partir de ces réserves cellulaires (Hillman R.S *et al.* , 2007).

### 3.5. Synthèse de l'hémoglobine

Le fer consommé par la moelle osseuse sert essentiellement à la synthèse d'hème, groupement prosthétique de l'hémoglobine responsable de la fixation de l'oxygène. L'hémoglobine des GR circulant représente environ 60 à 70% du fer total présent dans l'organisme. La synthèse de l'hémoglobine nécessite en effet la production coordonnée de l'hème et des globines qui la constituent. Les érythroblastes acquièrent le fer à partir de la Tf, ils possèdent pour cela une grande quantité de R-Tf à leur surface.

L'hémoglobine est constituée de 4 chaînes de globine (2 chaînes  $\alpha$  et 2 chaînes  $\beta$ ) portant chacune un groupement prosthétique hème (b) contenant un atome de fer. Les gènes codant pour les chaînes de globines sont organisés chez l'homme en deux clusters: Le locus  $\alpha$  qui contient le gène embryonnaire  $\delta$  et les deux gènes adultes  $\alpha$ , et le locus  $\beta$  qui contient les gènes  $\epsilon$ ,  $G\gamma$ ,  $A\gamma$ ,  $\delta$  et  $\beta$ . L'hémoglobine change en effet de composition au cours du développement à la suite des changements d'expression (« switch ») des gènes codant pour les chaînes de globines pendant les trois stades d'érythropoïèse. Un premier switch a lieu lors de la transition de l'érythropoïèse embryonnaire (sac vitellin) à l'érythropoïèse définitive (foie fœtal) : le gène de l'hémoglobine fœtale est exprimé au détriment de celui de l'hémoglobine embryonnaire. Le deuxième Switch, entre l'hémoglobine fœtale et adulte, a lieu pendant la période périnatale. Ces régulations d'expression de gènes sont dépendantes du LCR présent en amont du cluster  $\beta$  globine et d'HS40 (zone d'hypersensibilité à la DNase I) en amont du cluster  $\alpha$  globine. Au cours du développement et de la différenciation érythropoïétique, les gènes sont exprimés séquentiellement : les gènes exprimés précocement sont ceux situés près du LCR et les gènes adultes se trouvent en 3' (Stamatoyannopoulos.G., 2005).

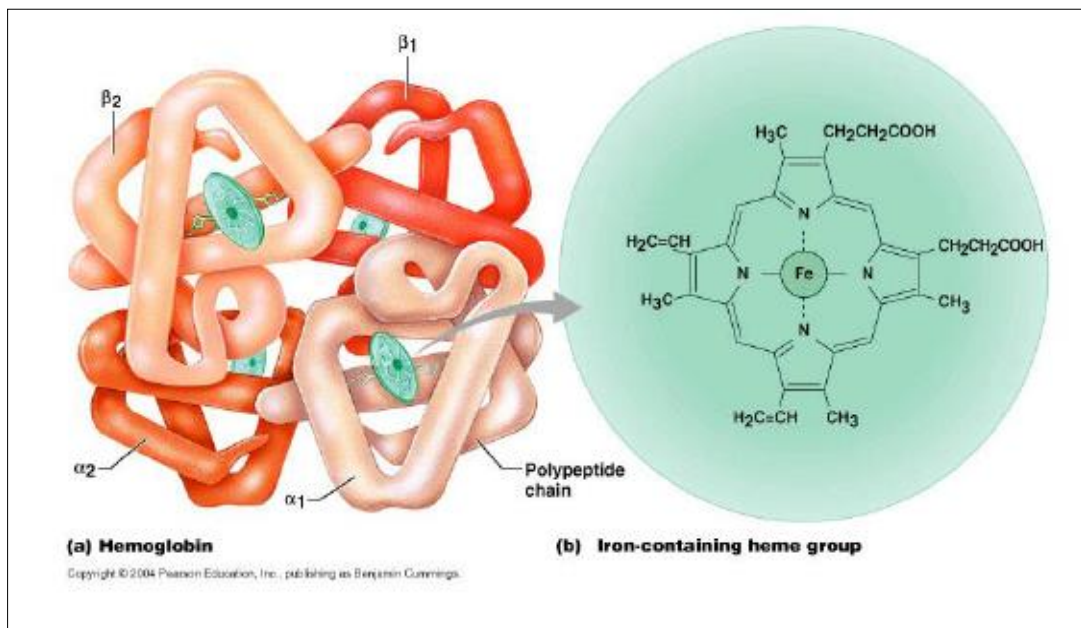


Figure 5: Structure de l'hémoglobine humaine adulte ( $\alpha_2\beta_2$ ) (Anonyme., 2010).

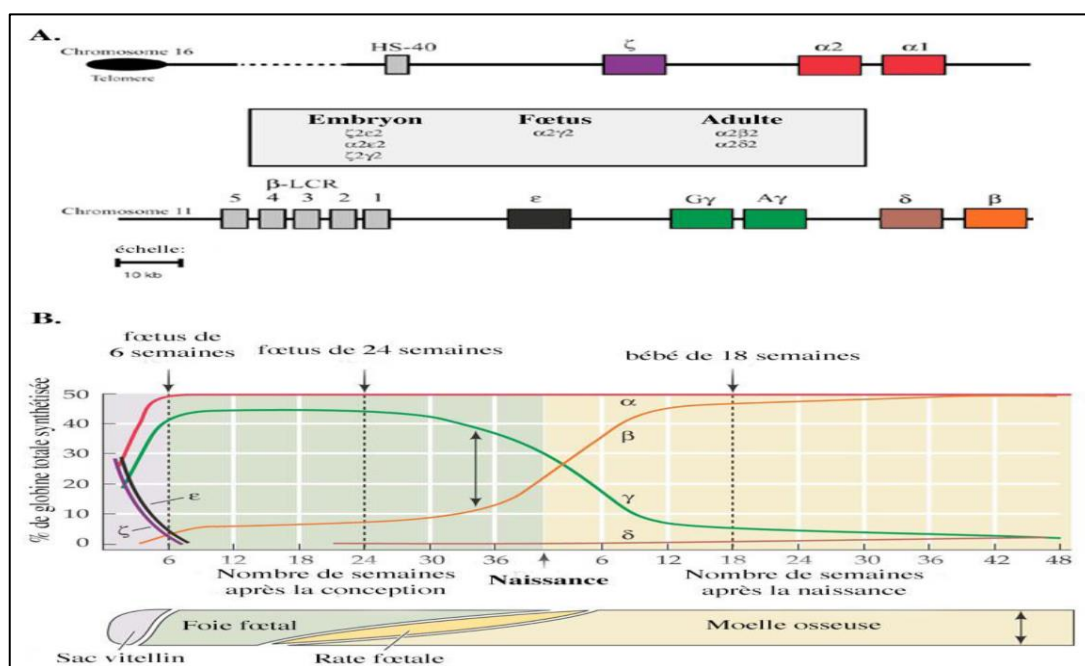


Figure 6: Synthèse des chaînes de globine (Stamatoyannopoulos, G., 2005).

**A.** Les deux clusters de gènes codant pour les globines sont situés sur les chromosomes 16 et 11. La composition des hémoglobines embryonnaires, fœtales et adultes est donnée dans le cadre entre les clusters.

**B.** Graphique représentant les quantités des différentes chaînes de globines au cours du développement. Le lieu de synthèse des globines est indiqué en dessous.

### 3.6. Synthèse de l'hème

La synthèse de l'hème est partagée dans deux compartiments de la cellule, le cytosol et la mitochondrie. La première étape a lieu dans la mitochondrie : à partir de glycine et de succinyl-CoA, l'ALA synthase forme l'ALA. Cette enzyme est présente sous deux formes, une forme érythroïde (ALAS ou ALAS2), qui présente la particularité d'être sensible au fer via le système IRE/IRP et une forme ubiquiste, ALAS1 dont l'expression génique est réprimée par l'hème. Cette étape est l'étape limitante de la biosynthèse de l'hème. Des mutations du gène ALAS situé en Xp11.21 entraînent chez l'homme une anémie sidéroblastique liée au chromosome X. Chez ces patients, le fer ne peut être incorporé dans l'hème et s'accumule dans la mitochondrie.

L'ALA est ensuite exporté de la mitochondrie. L'assemblage du tetrapyrrole et la décarboxylation des chaînes auxiliaires ont lieu dans le cytosol. Les étapes finales de synthèse de l'hème se déroulent dans la mitochondrie avec notamment l'incorporation du fer par la ferrochélatase. Des mutations dans les gènes codant pour les enzymes impliquées dans les étapes finales de la synthèse de l'hème conduisent à l'accumulation de porphyrines. Il existe ainsi plusieurs formes de porphyries liées à la déficience de différentes enzymes : les porphyries les plus fréquentes sont liées à des mutations dans le gène codant pour l'uroporphyrigène décarboxylase, c'est la porphyrie cutanée et à des mutations dans le gène de la ferrochélatase, c'est la érythropoïétique. Dans les deux cas, l'accumulation de porphyrines dans la peau ou dans les tissus sous-jacents entraîne une photosensibilisation accrue.

Il est à noter que récemment a été identifié un exporteur de l'hème, appelé FLVCR, qui pourrait jouer un rôle important dans le contrôle du contenu en hème des précurseurs érythroïdes (Quigley, J.G. *et al.* , 2004) . Son rôle exact reste néanmoins à définir. De plus, des transcrits de la ferroportine, exporteur du Fe<sup>2+</sup>, ont été retrouvés très récemment dans des lignées érythroïdes (Cianetti, L.*et al.* , 2005). La présence d'exporteurs de différentes formes de fer dans les précurseurs érythroïdes suggèrent que ces cellules sont capables de faire sortir du fer en excès et d'éviter ainsi la formation de radicaux libres à l'intérieur de la cellule. Cette capacité des précurseurs érythroïdes à faire sortir du fer est assez inattendue car on considère habituellement que ces cellules consomment tout le fer qu'elles contiennent pour la synthèse d'hémoglobine.

En cas de déficience en fer, la synthèse d'hémoglobine est perturbée, les GR produits contiennent alors moins d'hémoglobine qui leur donne leur couleur, on parle alors d'anémie hypochrome.

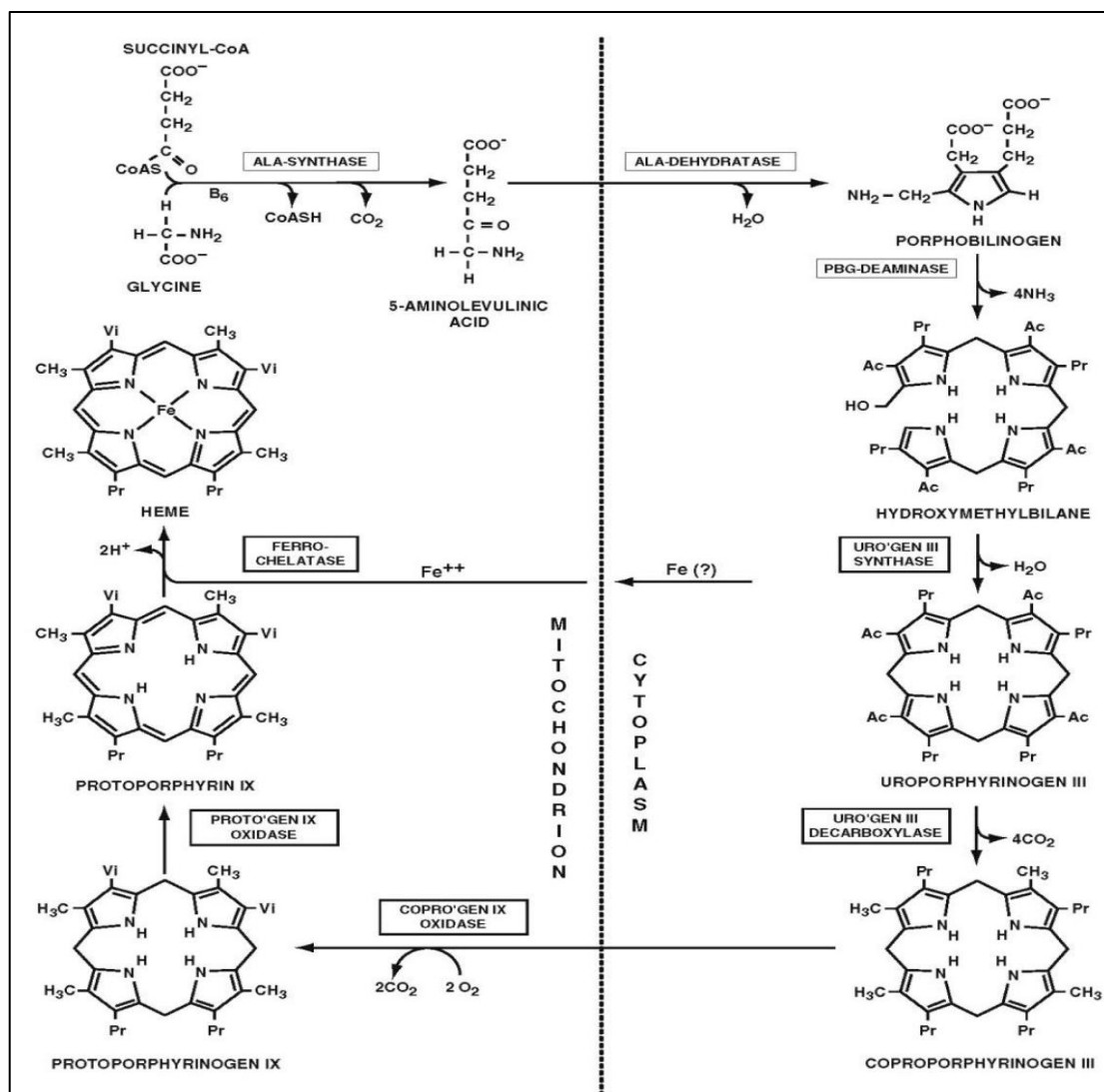


Figure 7: Biosynthèse de l'hème ( Ponka, P.,1997).

**ALA:**  $\delta$ -aminolevulinate.

**ALAS:**  $\delta$ -aminolevulinate synthase.

**PBG:** porphobilinogen.

**UPG:** uroporphyrinogen.

**CPG:** coproporphyrinogen.

**PPG:** protoporphyrinogen.

**A:** acétyl.

**M:** méthyl.

**P:** propionyl.

**V:** vinyl.

### 3.7. Réutilisation du fer des GR (recyclage) érythrophagocytose

Nous l'avons vu, les érythrocytes circulants contiennent une grande quantité de fer (presque 2 g sur les 4 g totaux de l'organisme). Afin que ce fer puisse être réutilisé par l'organisme, les macrophages phagocytent les globules rouges sénescents, dont la durée de vie est de 120 jours chez l'homme, et exportent ensuite le fer, c'est l'érythrophagocytose (EP).

Les globules rouges (GR) sénescents sont phagocytés par le macrophage. Ils sont dégradés et, à l'aide de (HO), le fer est libéré de l'hémoglobine. D'autres voies possibles d'entrée du fer dans le macrophage impliquent le complexe HFE- $\beta$ 2m-RTf1 et le complexe haptoglobine-hémoglobine circulant qui se lie au récepteur CD163 et subit l'endocytose. L'hémoglobine est dégradée par HO pour libérer le fer. Le fer est alors, soit stocké dans la ferritine, soit recyclé. Il est ainsi exporté par la ferroportine puis oxydé par la (CP) circulante avant d'être pris en charge par la (Tf) circulante.

Les GR sénescents sont reconnus par les macrophages grâce à:

- L'externalisation de la phosphatidylsérine à la surface des GR.
- La peroxydation des lipoprotéines membranaires suite au stress oxydatif.
- La perte de résidus sialiques.
- La formation de néoantigènes de sénescence.

Le GR sénescents, phagocyté par le macrophage, se retrouve dans l'érythrophagolysosome.

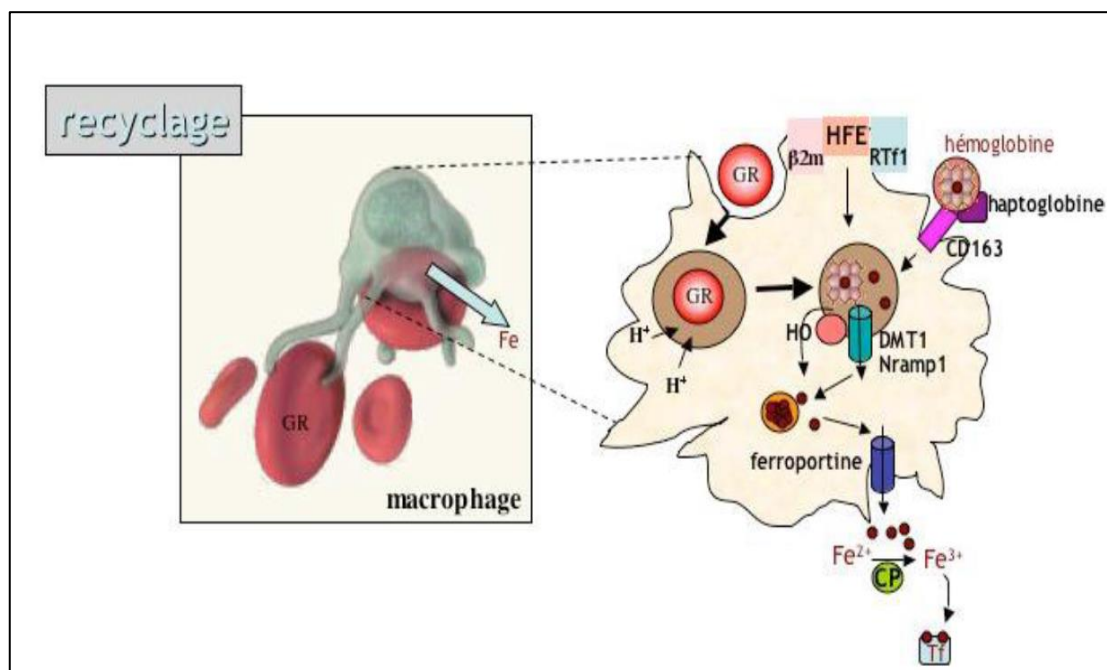
Le complexe enzymatique formé par la NADPH-cytochrome c réductase, l'hème-oxygénase-1 (HO-1) et la biliverdine réductase dégrade l'hème en CO (monoxyde de carbone), fer et bilirubine. Les souris KO HO-1 ne sont pas capables de recycler le fer des GR, suggérant un rôle essentiel d'HO-1 dans l'EP. Toutefois, on remarque que, dans ces souris, l'hème est quand même dégradé en fer, peut-être par compensation par HO-2 (Baker, *E. et al.*, 1998).

Deux hypothèses sont émises quant à la destinée du fer suite à la dégradation de l'hème: il serait soit transféré au cytosol via le DMT1, soit, l'hème ayant diffusé à travers la membrane plasmique de l'érythrophagolysosome, le fer serait libéré directement dans le cytosol. Le fer est ensuite stocké dans la ferritine et/ou exporté dans la circulation par la ferroportine où il peut de nouveau se fixer à la Tf après oxydation par la (CP) (Beaumont, *C. et al.*, 2005). Il semble y avoir deux phases de sortie du fer des macrophages après EP: une phase rapide dans les quelques heures qui suivent l'EP et qui fait sortir deux tiers du fer et une

phase plus lente qui impliquerait le déstockage du fer de la ferritine (Fillet, G.*et al.*,2005). L'EP permet ainsi de recycler le fer principalement pour réalimenter en fer l'érythropoïèse. Afin d'étudier les mécanismes encore peu connus intervenant dans l'EP, l'équipe de F. Canonne-Hergaux a récemment mis au point un modèle d'étude de l'EP en utilisant des macrophages, différenciés à partir de moelle osseuse de souris, incubés avec des GR murins dont la concentration intracellulaire de calcium a été augmentée (Delaby, C.*et al.* , 2005).

L'érythrophagocytose a lieu essentiellement dans la pulpe rouge de la rate mais pas seulement. En effet, des souris ayant subi une splénectomie ne voient pas la durée de vie de leur GR augmenter laissant suggérer que les macrophages de la moelle osseuse et les cellules de Kupffer sont capables de compenser la perte des macrophages spléniques pour l'EP (Athens, J.W.*et al.* , 1993).

Ce sont ainsi 80 à 90% des GR qui sont éliminés par voie extravasculaire par les macrophages tissulaires. Les 10 à 20% restant subissent une hémolyse intravasculaire qui entraîne la libération d'hémoglobine dans le sang. Cette hémoglobine se lie à l'haptoglobine circulante. Le complexe haptoglobine-hémoglobine est ensuite capté par les macrophages qui possèdent un récepteur spécifique de l'haptoglobine, le CD163, et par les hépatocytes par un mécanisme encore inconnu (Fagoonee, S.*et al.* , 2005) .Ainsi, très peu d'hémoglobine libre est retrouvée dans le sang. Il peut arriver néanmoins que dans des situations de forte hémolyse, l'hémoglobine ne puisse être entièrement titrée par l'haptoglobine. L'hémoglobine se dissocie alors dans le sang et peut être filtrée par le glomérule via le récepteur mégaline-cubiline ou dégradée après liaison avec des protéines de transport de l'hème par le foie.



**Figure 8:** Erythrophagocytose et recyclage du fer (Pietrangelo A.*et al.*, 2004).

### 3.8. Variations de la quantité en fer de l'organisme

En cas de carence en fer, le taux de ferritine sérique diminue, et inversement, il augmente lors de surcharge en fer de l'organisme. L'hepcidine, peptide antimicrobien synthétisé par le foie, intervient dans la régulation de l'absorption intestinale du fer et dans sa remise en circulation à partir des macrophages. Le taux d'hepcidine augmente en cas d'anémie inflammatoire, provoquant une inhibition de l'absorption intestinale du fer et de sa libération par les macrophages. En cas de déficit en fer, la production en hepcidine est inhibée, ce qui induit une augmentation de l'absorption intestinale en fer et facilite sa recirculation (Hillman R.S., 2007) .

Lors d'hémolyse, le fer récupéré par les macrophages est libéré et passe pour les deux tiers dans la circulation, puis se lie à la transferrine pour être réutilisé pour l'érythropoïèse. Le tiers restant est stocké dans les macrophages sous forme de ferritine et d'hémosidérine (Sébahoun G., 2005) .

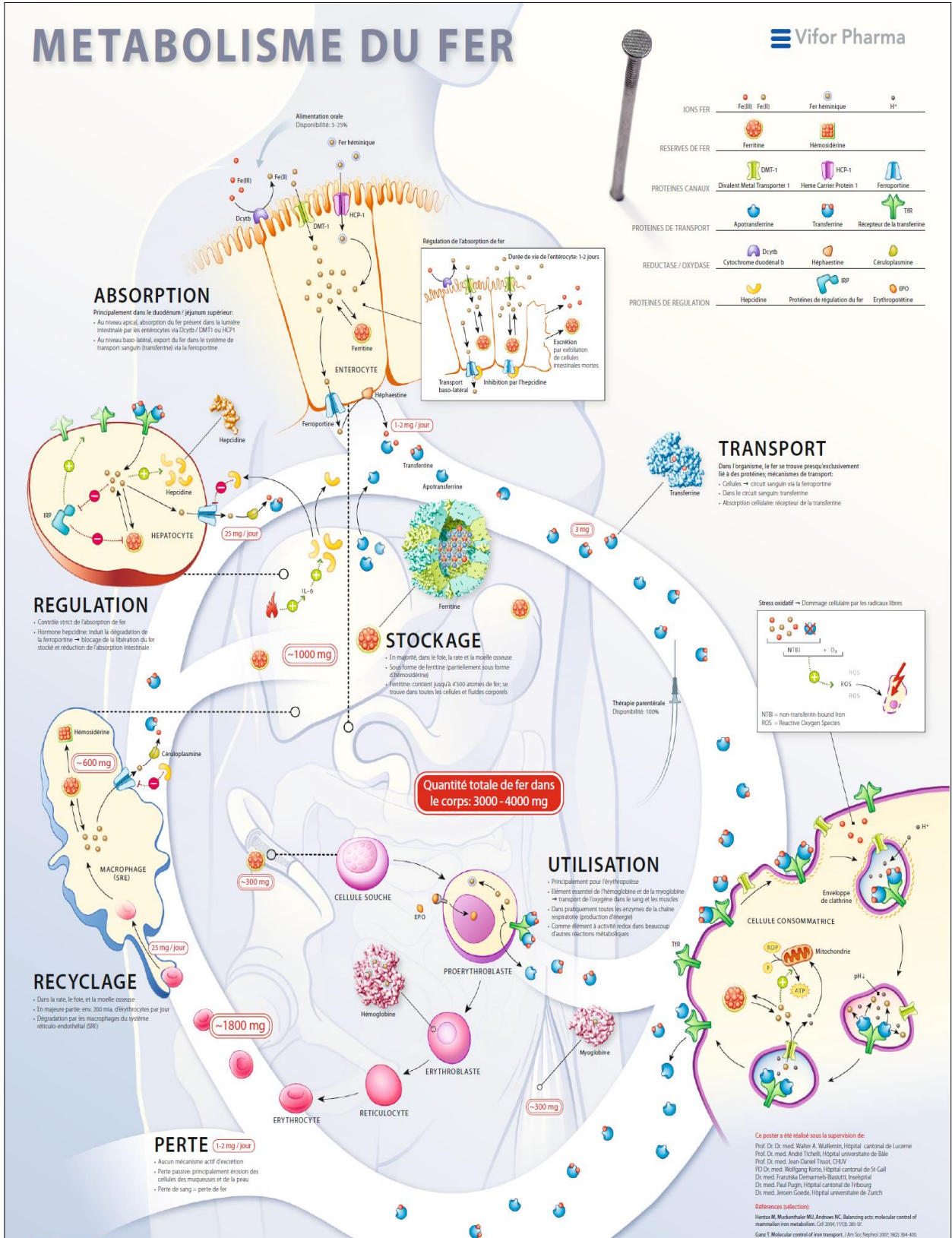


Figure 9: Schéma représente le métabolisme du fer (Hillman R.S., 2007).

**CHAPITRE II**  
**Généralités sur**  
**l'insuffisance rénale et son**  
**influence sur**  
**l'érythropoïèse**

### II.1. Rappel sur les reins

#### 1.1. Anatomie – Physiologie

Les reins sont des organes vitaux. Leur rôle est de purifier le sang : ils éliminent les déchets qui proviennent du fonctionnement de l'organisme, et maintiennent l'équilibre chimique du sang. Quand les reins ne fonctionnent plus, ces déchets s'accumulent dans le sang et deviennent toxiques. Les reins exercent cette fonction par la fabrication de l'urine. Les variations de sa composition, en fonction de la quantité d'urines émises (diurèse) et de l'alimentation peuvent être considérables.

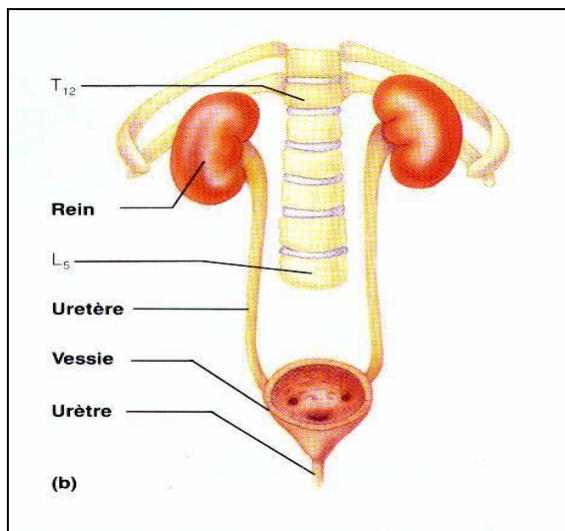
Situés de chaque côté de la colonne vertébrale, en partie cachés par les dernières côtes, chacun des 2 reins mesure 12 cm de haut sur 6 cm de large, grossièrement de la taille d'un poing avec une forme d'haricot. Chaque rein pèse environ 150 grammes.

-Le rein droit est situé en arrière du foie.

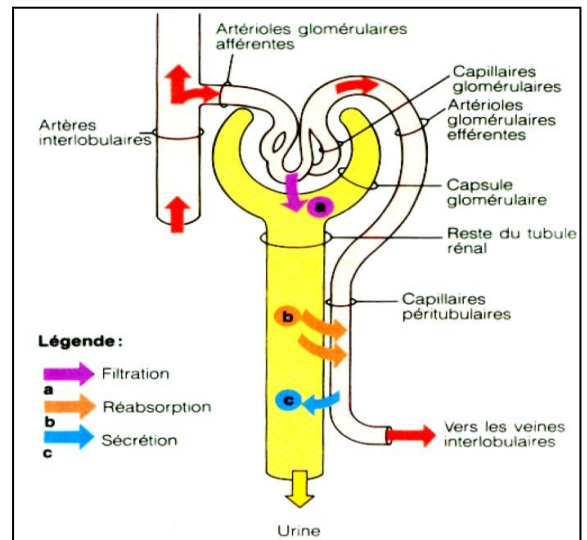
-Le rein gauche en arrière du pancréas et du pôle inférieur de la rate.

Le sang est amené par une artère rénale qui vient de l'aorte abdominale. Après avoir traversé la masse du rein, le sang est évacué par une veine rénale qui va déboucher dans la veine cave inférieure.

De chaque rein part un canal excréteur, d'abord large (le bassin) puis fin (l'uretère; qui va amener dans la vessie l'urine fabriquée par le rein) (Hoarau M., 2011).



**Figure 10:** Anatomie générale du système Urinaire (Steph.,2004).



**Figure 11:** Schéma du principe du fonctionnement des reins (Steph., 2004).

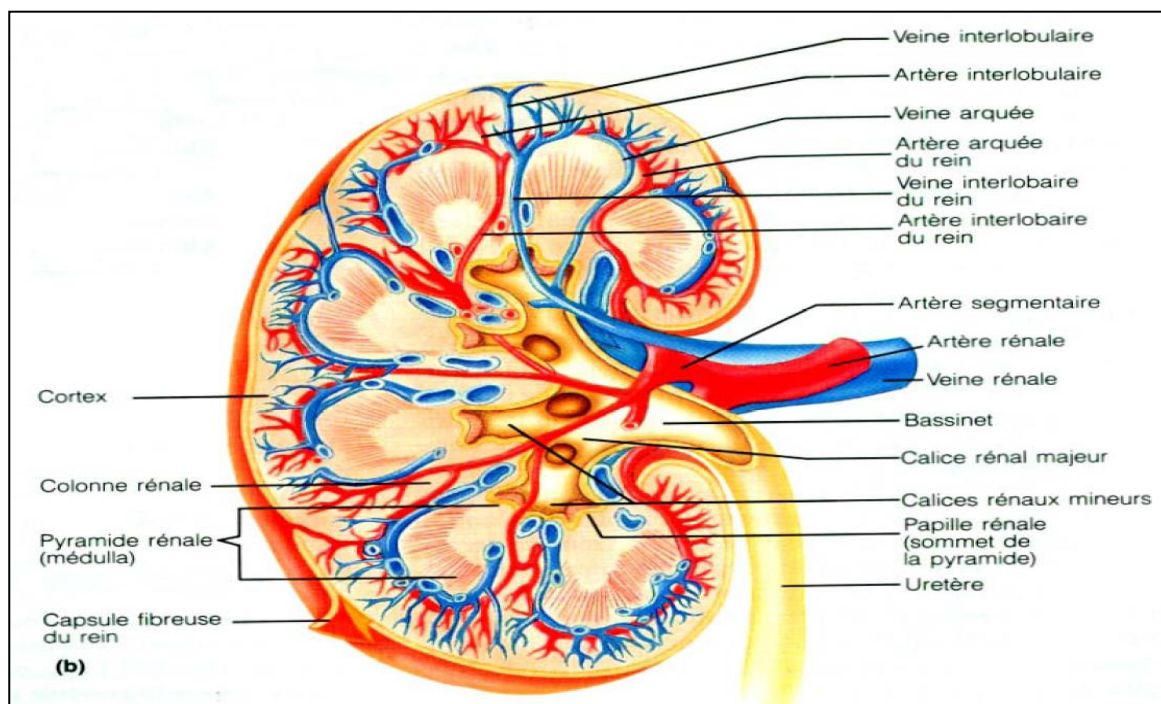


Figure 12: Anatomie d'un rein ( Steph., 2004).

### 1.2. Différentes fonctions du rein

- **Éliminer les déchets et l'eau**

Les reins éliminent les déchets et le liquide en excès recueillis par le sang; et transporté par celui-ci dans l'organisme. Environ 190 litres de sang entrent chaque jour dans les reins par les artères rénales. Des millions de minuscules filtres situés à l'intérieur des reins, appelés glomérules, séparent les déchets de l'eau du sang. La plupart de ces substances indésirables proviennent de ce que nous mangeons et buvons. Les reins éliminent automatiquement la bonne quantité de sel et d'autres éléments minéraux du sang, pour ne laisser que de petites quantités dont l'organisme a besoin.

Le sang nettoyé retourne au cœur et est remis en circulation dans l'organisme. Les déchets et le liquide en excès quittent les reins sous forme d'urine. L'urine est stockée dans la vessie jusqu'à ce que celle-ci soit pleine, puis quitte l'organisme par l'urètre.

La plupart des gens évacuent environ 2 litres d'urine par jour (Hoarau M.,2011).

- **Équilibrer la quantité de liquide**

Chez les femmes, la teneur en liquide est d'environ 55% du poids total. Chez les hommes, elle se stabilise à environ 60% du poids total. Les reins maintiennent ces proportions, en équilibrant la quantité de liquide qui quitte l'organisme par rapport à la quantité qui y entre. Le liquide est apporté dans notre organisme par les boissons, ainsi que par les aliments à forte teneur en liquide tels que les soupes.

## **Chapitre II: Généralités sur l'insuffisance rénale et son influence sur l'érythropoïèse**

---

Si nous buvons beaucoup, les reins en bonne santé éliminent le liquide en excès et la quantité d'urine est importante. Si nous ne buvons pas beaucoup, les reins conservent ce liquide et nous urinons peu.

Quand les reins ne fonctionnent plus correctement, il devient plus difficile de maintenir cet équilibre. La personne peut alors présenter des symptômes de surcharge liquidienne. Il devient alors nécessaire de surveiller son alimentation et ses apports liquidiens afin de maintenir l'équilibre hydrique (Hoarau M.,2011).

- **Réguler la pression artérielle**

Des reins fabriquent des hormones telles que la rénine et l'angiotensine. Ces hormones régulent la quantité de sodium et de liquide conservée par l'organisme et la manière dont les vaisseaux sanguins se dilatent et se contractent. Ce phénomène aide à la régulation de la pression artérielle.

Deux processus de régulation interviennent :

- ✓ **Quantité d'eau dans l'organisme:** si la quantité d'eau présente dans l'organisme est trop importante, la PA augmente. Si, au contraire, la quantité d'eau est trop faible, la PA chute.
- ✓ **Largeur des artères:** le diamètre des artères évolue constamment. Plus elles sont étroites, plus la PA est élevée. La rénine aide à contrôler les rétrécissements des artères. Souvent les reins défaillants fabriquent trop de rénine ce qui entraîne une HTA (Hoarau M.,2011).

- **Aider à la fabrication des GR**

Les reins produisent une hormone appelée érythropoïétine (EPO) qui est conduite par le sang vers la moelle osseuse, où elle stimule la production de GR. Ces derniers transportent l'oxygène dans l'organisme.

La diminution de la production d'EPO par les reins maladies, a pour conséquence une baisse de la fabrication des GR, et le développement d'une anémie, responsable d'un état de faiblesse, d'une fatigue, d'une sensation de froid et de difficultés respiratoire (Hoarau M., 2011) .

- **Maintenir les os sains et solides**

Les reins entretiennent la solidité des os grâce à la production de l'hormone calcitriol. Celui-ci maintient un taux adapté de calcium et de phosphate dans le sang et dans les os. L'équilibre en calcium et en phosphate est important pour la santé osseuse. Les reins aident également l'organisme à utiliser la vitamine D.

Un dysfonctionnement rénal peut conduire à une production insuffisante de calcitrol. Il en découle un taux anormal de phosphate, de calcium et de vitamine D à l'origine d'une ostéodystrophie rénale (Hoarau M., 2011).

### 2. Structure et fonction de l'érythropoïétine

L'érythropoïétine (EPO) est une hormone glycoprotéique produite par le rein des Mammifères en réponse à une hypoxie rénale (Rieu P., 2008, Péchereau D., 1994).

#### 2.1. Structure

L'EPO naturelle est un glycopeptide dont le poids moléculaire est de 30,4 kDa. Elle se compose de 165 acides aminés richement glycosylés, les sucres représentant 40 % du poids moléculaire. Cette glycosylation est principalement représentée par l'acide sialique, la lactosamine ou la N-acétylglycosamine, non indispensables à l'action de l'EPO mais déterminants pour la clairance de celle-ci. L'absence ou la modification des parties glycosylées entraînent une élimination plus ou moins rapide de l'EPO et donc, des variations majeures quant à son efficacité (Rieu P., 2008, Péchereau D., 1994). Sa structure est très conservée entre les espèces de mammifères, notamment entre l'Homme, le chien et le chat (Powell T. *et al.* , 2003).

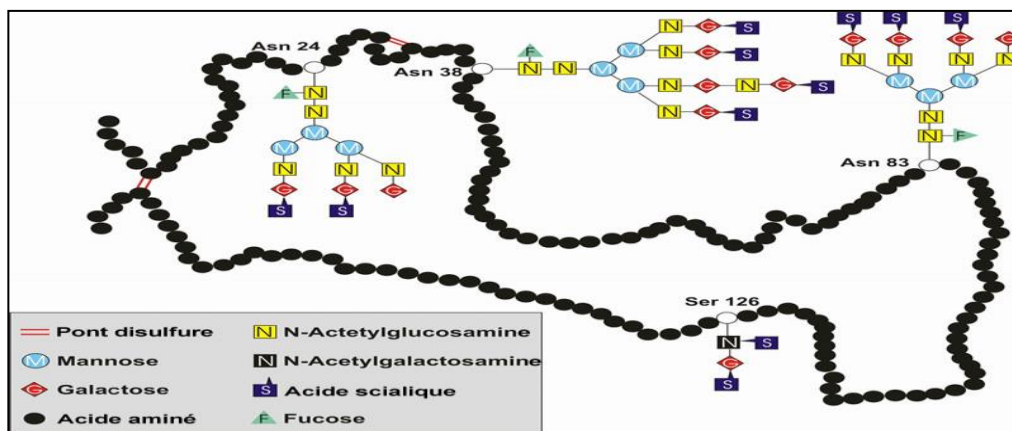


Figure 13: Représentation de la structure primaire de l'érythropoïétine (Gilles C., 2012).

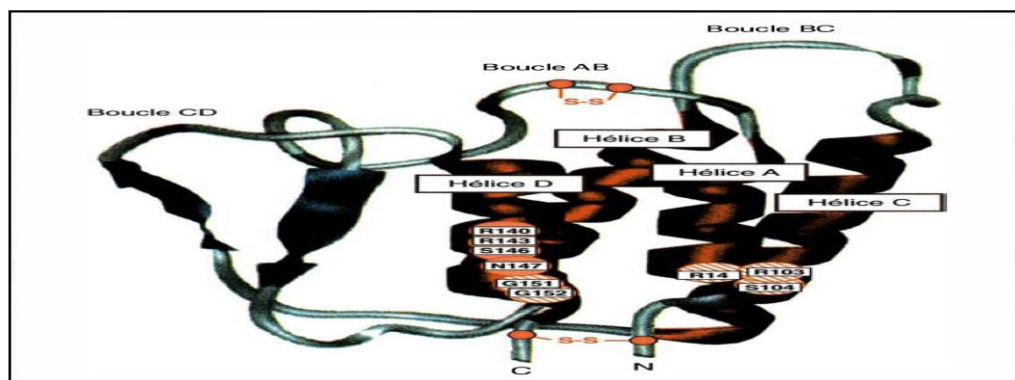


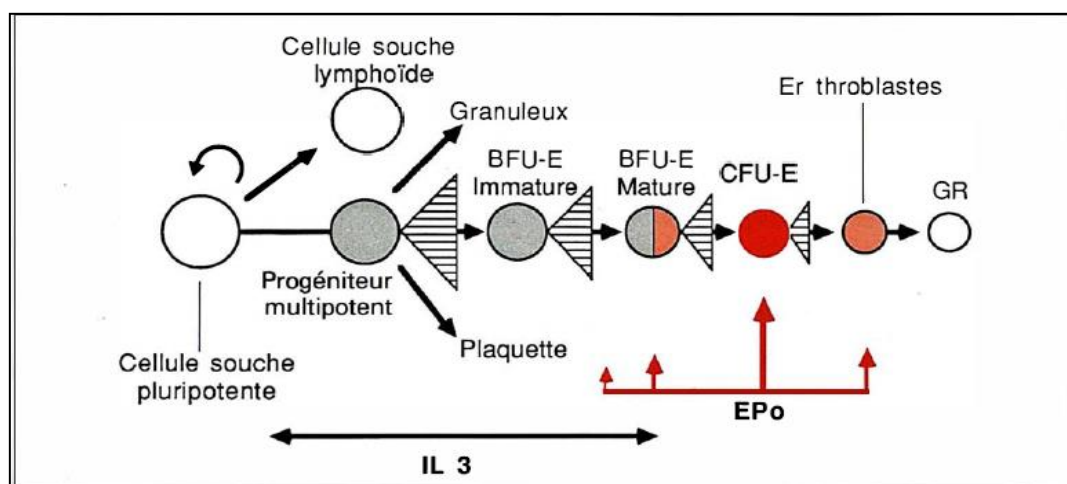
Figure 14: Structure tridimensionnelle de l'EPO humaine (Zhuang H., 1994).

### 2.2. Rôles physiologiques et utilisations de l'EPO

L'EPO a été identifiée comme le principal facteur de croissance de la lignée érythrocytaire. Synthétisée dans le foie chez l'embryon, puis dans le rein chez l'adulte, cette glycoprotéine est libérée dans la circulation sanguine pour exercer son activité dans la moelle osseuse, sur les progéniteurs érythroïdes, qui portent des récepteurs membranaires spécifiques.

Elle y stimule leur prolifération et différenciation en globules rouges matures (processus durant 5 à 9 jours) et participe ainsi à la régulation de l'érythropoïèse par un effet dose-dépendant lié à sa concentration dans le sang.

La production d'EPO est stimulée par la diminution du taux d'oxygène disponible pour les tissus (détectée par des récepteurs rénaux sensibles à la pression en oxygène); sa concentration sérique habituelle est d'environ 20 mU/ml mais peut monter à 10 000 en condition d'hypoxie. Sa demi-vie plasmatique, très variable d'une personne à l'autre, est de l'ordre d'une dizaine d'heures, et son élimination a ensuite lieu au niveau urinaire (Fisher *et al.*, 1997).



**Figure 15:** Mécanisme général de l'érythropoïèse et rôle de l'EPO (Barthomeuf *et al.*, 1996).

### 2.3. Récepteur

Le récepteur de l'EPO (EPO-R) est un homodimère transmembranaire comportant deux sous-unités. Il comporte 508 acides aminés pour un poids moléculaire de 66 à 78 kDa. Il est exprimé à la surface des progéniteurs érythroïdes engagés : CFU-e (ColonyFormingUnit-erythroid) et BFU-e (Burst Forming Unit-erythroid), au nombre d'environ 1000 par cellule. Il n'est exprimé ni sur les réticulocytes, ni à fortiori sur les érythrocytes circulants (Rieu P.,2008) .

## **Chapitre II: Généralités sur l'insuffisance rénale et son influence sur l'érythropoïèse**

---

La fixation de l'EPO sur son récepteur induit la dimérisation de ce dernier et déclenche une cascade de phosphorylations. L'autophosphorylation de la kinase JAK2, située dans la partie intracytoplasmique du récepteur, induit à son tour la phosphorylation de l'extrémité terminale du récepteur, qui peut alors se lier à divers transmetteurs (notamment la protéine STAT-5) et les phosphoryler. Une fois phosphorylée, la protéine STAT-5 forme un homodimère qui va se fixer sur un site spécifique au niveau de l'ADN et induire la transcription de plusieurs gènes. Les propriétés des protéines issues de l'expression des gènes ainsi transcrits ont pour résultat commun l'inhibition de l'apoptose. L'EPO se comporte ainsi comme un facteur de survie des cellules érythropoïétiques (Rieu P.,2008).

### **2.4. Régulation de la sécrétion d'EPO**

L'EPO est synthétisée par les cellules fibroblastiques péri-tubulaires rénales (tubules proximaux) (Rieu P.,2008, Péchereau D.,1994). L'étude in vitro de cellules rénales mises en état d'hypoxie a mis en évidence une augmentation du nombre de cellules productrices d'EPO. En revanche, chaque cellule produisait la même quantité d'ARN messager qu'à l'état basal. Il n'y a pas de réserve d'EPO( Ventré C .*et al* ., 2004).

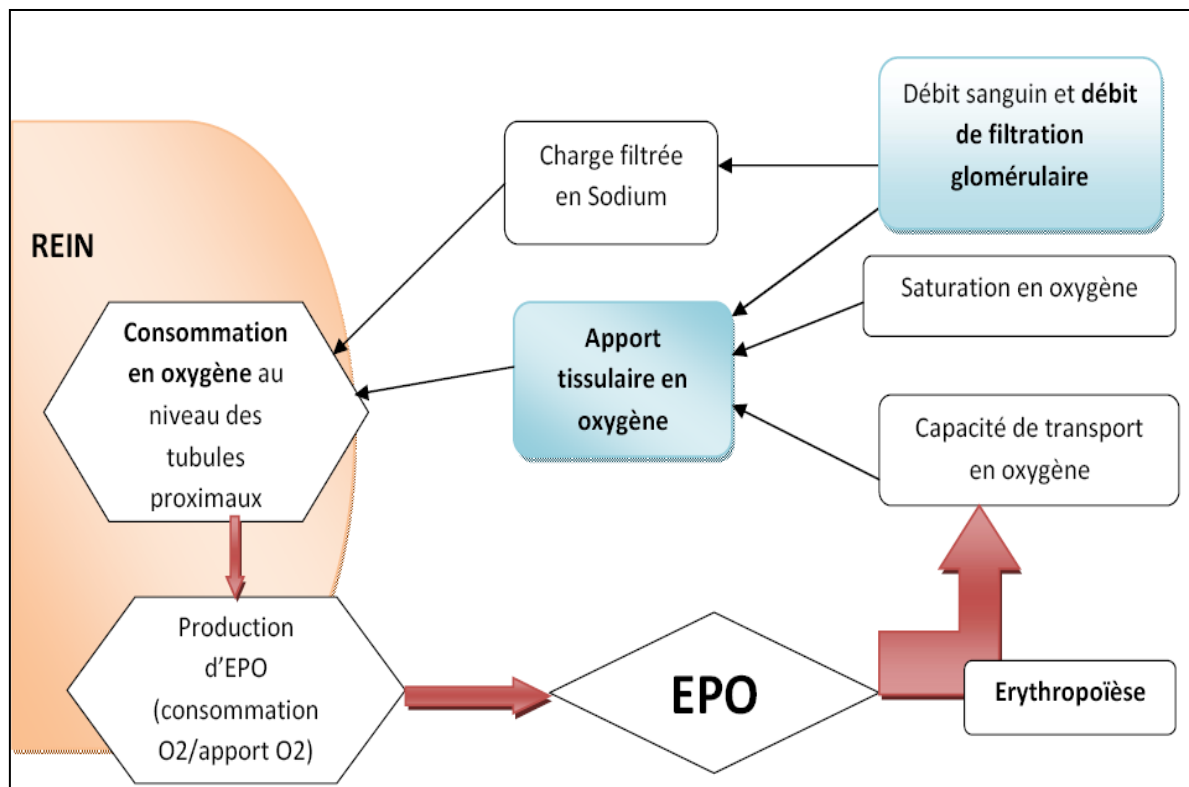
Une partie de la synthèse de l'EPO (10 à 15%) peut être assurée par le foie( Kerl M.E .*et al.*, 2009). Le rôle des globules rouges est de transporter l'oxygène jusqu'aux tissus. C'est donc de la masse érythrocytaire que dépend l'oxygénation tissulaire. L'hypoxie (diminution de la quantité d'oxygène dans le sang), quel que soit son origine, représente le principal stimulus de la production d'EPO par le rein : il existe une corrélation entre la concentration en érythropoïétine circulante et l'oxygénation tissulaire. La synthèse de novo d'EPO est donc, directement ou indirectement, contrôlée par la pression artérielle et veineuse locales (tissulaires) en oxygène.

Chez l'Homme, il existe une relation inversement proportionnelle entre le taux d'hémoglobine sanguine et le logarithme décimal du taux d'EPO circulante pour des valeurs de concentration en hémoglobine situées entre 3 et 12 g/dL. Au-delà de cette concentration, le taux d'EPO se stabilise à son niveau le plus faible (Frimat L. *et al.*, 2008). Dans la plupart des tissus (cœur, muscle, cerveau...), c'est la consommation d'oxygène qui détermine le débit circulatoire. Dans le rein, c'est le débit sanguin qui détermine la consommation d'oxygène et non l'inverse. C'est la raison pour laquelle la synthèse d'EPO et sa régulation peuvent s'effectuer à ce niveau. Dans le rein, la consommation d'oxygène a principalement lieu dans les tubes contournés proximaux lors de la réabsorption de sodium. La quantité d'oxygène consommée par le tube proximal dépend de la quantité de sodium réabsorbée et donc du débit de filtration glomérulaire (DFG). Lorsque le DFG est constant, la consommation en oxygène par le tube proximal est constante. Les cellules fibroblastiques spécialisées qui produisent

## Chapitre II: Généralités sur l'insuffisance rénale et son influence sur l'érythropoïèse

l'EPO se situent au voisinage des tubes proximaux et sont sensibles à la pression partielle en oxygène dans les capillaires péri-tubulaires. La quantité d'oxygène qui n'est pas consommé par le tube proximal sert de signal aux cellules productrices d'EPO. En cas d'hypoxie ou d'anémie, la consommation d'oxygène par le tube contourné proximal étant constante, la quantité d'oxygène résiduelle délivrée aux fibroblastes péri-tubulaires diminue, induisant ainsi une augmentation de la production d'EPO par ces cellules (Dalton C. *et al.* , 2008).

Lorsqu'une insuffisance rénale organique ou fonctionnelle se met en place, le débit de filtration glomérulaire et la réabsorption tubulaire de sodium diminuent, provoquant une diminution de la consommation d'oxygène par le tube contourné proximal et une augmentation de la quantité d'oxygène délivrée aux cellules péri-tubulaires. Le signal perçu par les cellules péri-tubulaires est faussé et induit ainsi une diminution de la synthèse d'EPO (Sshmidt R. *et al.* , 2008).



**Figure 16:** Représentation schématique des principales étapes de la régulation de la synthèse rénale d'EPO (Péchereau D.,1994).

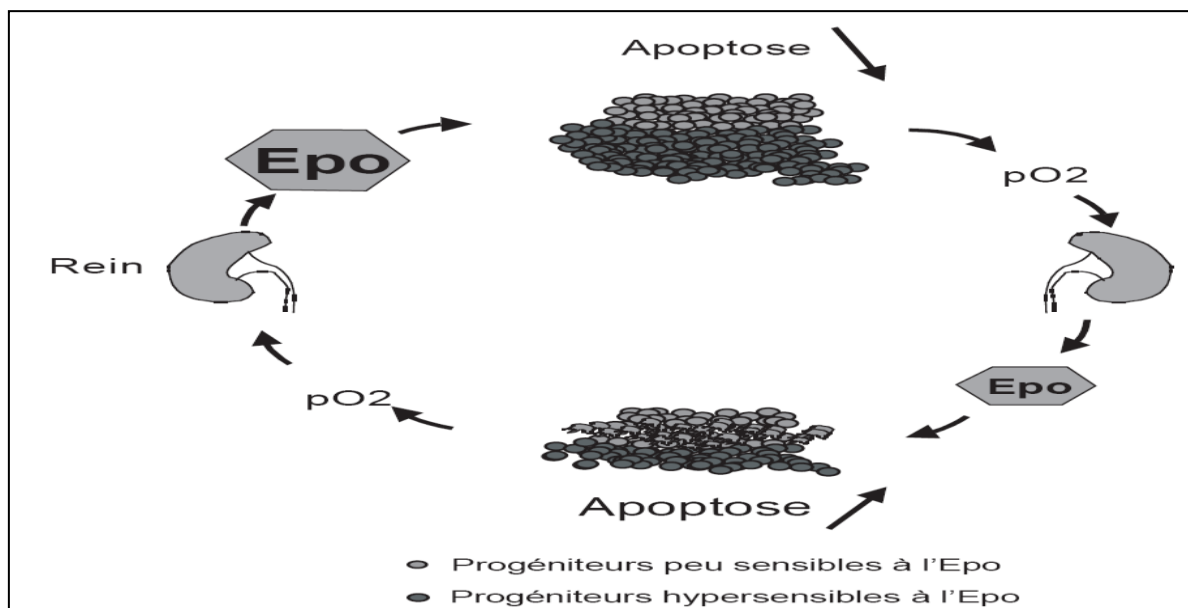


Figure 17: Régulation endocrine de l'érythropoïèse (Fakhouri F. *et al.*, 2004).

## 2.5. Variations physiologiques et pathologiques de la synthèse d'EPO

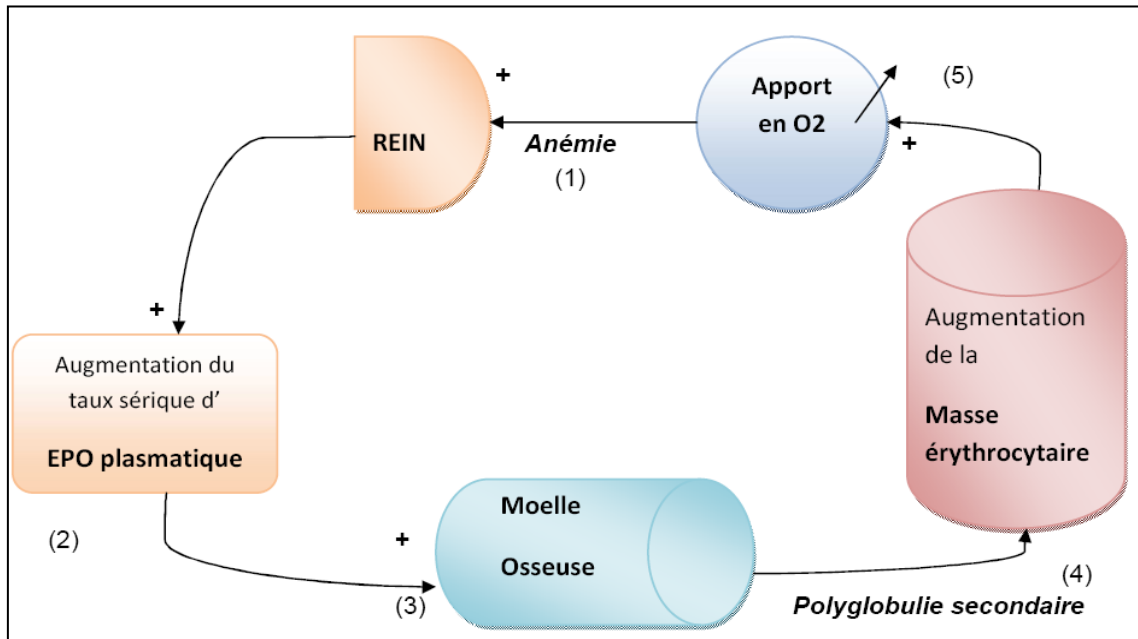
### 2.5.1. Concentration physiologique en EPO

Les premières mesures de la concentration plasmatique en EPO chez le chien et le chat ont été réalisées *in vivo* par Giger en 1991, et Cook et Lothrop en 1994. Ces expériences ont montré que les anticorps anti-EPO humaine réagissaient par réaction croisée avec l'érythropoïétine du chien et du chat et qu'ils pouvaient alors être utilisés pour réaliser des dosages radio-immunologiques ou immuno-enzymatiques de l'EPO dans ces espèces. La concentration sérique en EPO peut varier considérablement entre 0 et plus de 300 mU/mL. Chez les chats sains, elle se situe généralement entre 0 et 30 mU/mL (Péchereau D.,1994), néanmoins, ces valeurs varient suivant les méthodes de dosage et selon les auteurs : 3 – 38 mU/mL ou encore 1,9 – 22,9 mU/mL, avec une médiane de 9,1 mU/mL et une moyenne de 9,9 mU/mL (dosage par anticorps monoclonaux). La concentration en EPO est indépendante du sexe, de l'âge et de la race ( Braun J.P.*et al.*,1997).

La concentration plasmatique en EPO est considérée comme un bon marqueur de son niveau de production dans la mesure où sa demi-vie est très courte (de 4 à 11 heures) (Delverdier M *et al.*;1996). Elle est approximativement proportionnelle à la masse de parenchyme rénal fonctionnel. Elle est également corrélée à l'hématocrite qui doit être impérativement pris en compte pour l'interprétation de tout dosage (Hasler A.H. *et al.*, 2001).

**2.5.2. Variations physiologiques et pathologiques de la concentration**

L'adaptation physiologique de la synthèse d'EPO par le rein dépend essentiellement de la masse cellulaire rouge, ou plus exactement, de la capacité d'oxygénation tissulaire par le sang. Les variations de concentration en EPO s'effectuent en fonction de l'hématocrite sanguin et de la pression partielle en oxygène au niveau des tubules rénaux (Péchereau D., 1994). La concentration en EPO sérique peut subir des variations appropriées ou bien Inappropriées compte-tenu des valeurs de l'hématocrite ou de l'oxygénation tissulaire.



**Figure 18:** Cascade d'effets résultants d'une diminution d'apport en oxygène, sur la synthèse d'EPO (Péchereau D.,1994).

**3. Insuffisance rénale**

Les reins permettent l'élimination du sang des déchets provenant de la destruction des cellules de l'organisme et de la digestion des aliments. D'autre part, les reins régulent la quantité d'eau et d'électrolytes, comme le sodium (sel), le chlore ou le potassium, dans l'organisme. L'élimination des toxiques de l'organisme est une autre fonction des reins. L'insuffisance rénale correspond à une modification du fonctionnement des deux reins qui ne filtrent plus correctement le sang. Cette situation provoque un déséquilibre en sels minéraux et en eau pouvant entraîner de sévères complications (Anonyme., 2015).

### **3.1. Définition biologique de l'insuffisance rénale**

Une insuffisance rénale est évoquée lorsque le taux de créatinine dans le sang, la créatinémie, est supérieure à 120 micromol/l (femme) ou 130 micromol/l (homme) (Anonyme., 2015).

### **3.2. Différent types d'insuffisance rénale**

Deux types d'insuffisance rénale peuvent s'observer : l'insuffisance rénale aiguë qui peut être réversible et l'insuffisance rénale chronique qui évolue pendant de nombreuses années (Anonyme., 2015).

#### **3.2.1. Insuffisance rénale aiguë (IRA)**

L'insuffisance rénale aiguë survient de manière brutale sur une durée de quelques heures à quelques jours. Le rein ne peut plus éliminer les déchets métaboliques et n'arrive plus à maintenir un bon équilibre hydroélectrolytique, résultant de la bonne régulation de l'eau et des électrolytes. Une augmentation de plus de 50% de la créatinémie par rapport à la valeur normale est un signe biologique témoignant d'une insuffisance rénale aiguë. L'insuffisance rénale aiguë survient le plus souvent après une chute brutale de la pression artérielle, lors d'une hémorragie, d'une septicémie, d'une complication opératoire... (Anonyme., 2015).

#### **3.2.2. Insuffisance rénale chronique(IRC)**

L'insuffisance rénale chronique, quant à elle, est une complication de nombreuses pathologies comme le diabète, l'hypertension artérielle, la pyélonéphrite ou une maladie polykystique des reins. L'insuffisance rénale chronique s'installe le plus souvent en silence sans provoquer de manifestations. Elle peut être découverte par hasard, lors d'un dosage de créatinine effectué par exemple au cours d'un bilan systématique ou lors de la surveillance d'une maladie chronique comme le diabète ou l'hypertension artérielle (Anonyme., 2015).

### **3.3. Causes de l'insuffisance rénale**

- Diabète sucré
- HTA
- Glomérulonéphrite
- Maladie polykystique rénale
- Maladie réno- vasculaire
- Pyélonéphrite chronique
- Lupus érythémateux
- Calculs rénaux
- Infections des voies urinaires

- Néphropathie
- Médicaments antalgiques (Hoarau M.,2011) .

### **3.4. Symptômes de l'insuffisance rénale**

En général, les symptômes de l'IR sont la conséquence d'une lente accumulation de déchets dans le sang et de la défaillance progressive des fonctions régulatrices des reins.

- **L'excès de liquide**

Le liquide en excès entraîne :

- ✓ Des oedèmes plus ou moins généralisés ;
- ✓ Une surcharge liquidienne ;
- ✓ Un OPA en cas d'accumulation de liquide dans les poumons ;
- ✓ Une HTA;

- **L'anémie**

Quand les reins sont endommagés, la production d'EPO diminue et l'organisme ne possède plus assez de GR : c'est l'anémie.

- **Autres symptômes**

- Goût métallique dans la bouche;
- Fatigue;
- Sensation de froid ;
- Maux de tête ;
- Insomnie ;
- Démangeaison et sécheresse de la peau ;
- Perte d'appétit et nausées ;
- Douleurs lombaires ;
- Difficultés de concentration, confusion, étourderie ;
- Diminution de la libido ;
- Agitation ou crampes dans les jambes ;
- Problèmes urinaires (urines moussantes, sanguinolentes, modification de la quantité ou de la fréquence des mictions) (Hoarau M., 2011) .

### **4. L'anémie lors de l'insuffisance rénale**

La World Health Organization (WHO) a défini l'anémie par une concentration en hémoglobine basse (< 13 g/dl chez l'homme et < 12 g/dl chez la femme, adultes ; < 11 g/dl chez la femme enceinte) (Who., 2001). Ces valeurs restent utilisables chez le sujet âgé, il n'y a pas de diminution de l'érythropoïèse avec l'âge (Pautas E. *et al.*,2004). Les valeurs habituelles du taux d'hémoglobine de l'enfant dépendent de l'âge, car l'intensité de l'érythropoïèse est

## **Chapitre II: Généralités sur l'insuffisance rénale et son influence sur l'érythropoïèse**

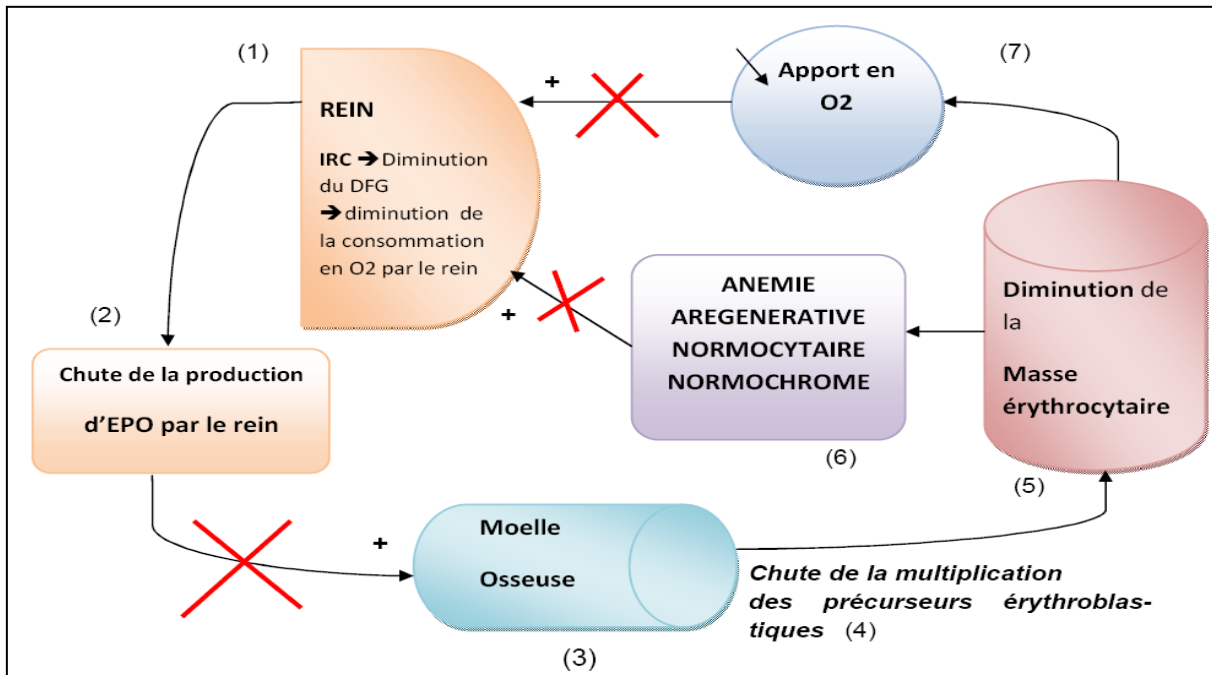
---

variable depuis la naissance (Mayol C;2011). L'existence d'une anémie chronique est une conséquence fréquente des maladies rénales chroniques (MRC) dans toutes les espèces de mammifères. L'étiologie de cette anémie est multifactorielle, mais la cause déterminante essentielle reste le déficit partiel ou total de synthèse d'érythropoïétine par les cellules péri-tubulaires rénales) (Macdougall I.C .*et al.* , 2007).

Chez l'Homme, on considère que lorsque le DFG est inférieur à 30-40 mL/min/1,73m<sup>2</sup>, on peut raisonnablement penser que l'anémie observée est secondaire à l'insuffisance rénale (pour la classification des stades des MRC en fonction de la valeur du 32 DFG). Il est cependant important d'exclure au préalable les autres causes possibles. Une carence en fer, en vitamine B12 ou en folate, la malnutrition et certaines maladies intercurrentes peuvent jouer un rôle important et doivent être prioritairement prises en charge. Chez les patients chez qui l'anémie apparaît disproportionnée comparativement au stade de l'insuffisance rénale, une autre cause doit être envisagée (Frimat L. *et al.*, 2008).

### **4.1. Déficit partiel ou total de synthèse d'EPO**

Lors d'insuffisance rénale chronique, la production d'EPO par le rein diminue progressivement. L'hypostimulation de la moelle osseuse liée au défaut de synthèse d'EPO induit une hypoplasie, puis une aplasie de la lignée érythroïde, et se traduit par l'apparition d'une anémie arégénérative. Dans les cas peu avancés, l'activité plasmatique de l'EPO est corrélée avec l'urémie et la créatininémie. Dans les cas les plus avancés, cette activité devient non détectable (Lefebvre H. *et al.*, 2001).



**Figure 19:** Schéma pathogénique de l'anémie induite par un déficit de synthèse d'érythropoïétine lors d'insuffisance rénale chronique ( Péchereau D.,1994).

Au déficit primaire de synthèse d'EPO, s'ajoutent deux autres causes, moins déterminantes, de diminution de la synthèse d'érythropoïétine par le rein.

- Il s'agit d'une part, de l'hyperphosphatémie associée au défaut d'excrétion rénale. Elle provoque une augmentation de la concentration sanguine en 2,3 DPG, elle-même responsable d'une augmentation de l'oxygénation des tissus périphériques, ce qui résulte finalement en une diminution de la synthèse d'érythropoïétine (Senior D.F.,2006).

- D'autre part, il s'agit de l'état « inflammatoire chronique » associé à l'état d'urémie (Hodges V.M. *et al.*, 2007). Les cytokines inflammatoires seraient en effet responsables d'une dépression de la synthèse d'EPO et d'une altération de son activité endogène. L'IL-1 et le TNF- $\alpha$  induiraient la formation de radicaux toxiques responsables de dommages sur les cellules sécrétrices d'EPO, donc d'une altération de sa synthèse rénale, et par là-même, d'une aggravation du déficit en hormone érythropoïétique (Weiss G *et al.*,2009).

Le défaut d'érythropoïétine, dont le rôle est central dans l'érythropoïèse, constitue le principal facteur de développement de l'anémie observée chez les insuffisants rénaux chroniques dans toutes les espèces (Jutkowitz L.A.,2008). A cette cause essentielle s'ajoutent d'autres facteurs, moins déterminants mais néanmoins non négligeables, qui viennent aggraver l'anémie fonctionnelle.

### 4.2. La carence en fer

Le fer est un élément indispensable à l'érythropoïèse. Sous sa forme ferreuse ( $\text{Fe}^{2+}$ ), il est incorporé à l'hème du noyau de l'hémoglobine et constitue également un cofacteur enzymatique essentiel de la chaîne d'oxydoréduction impliquée dans la production d'énergie.

L'homéostasie du fer est régulée via son absorption intestinale, elle-même dépendante de la biodisponibilité du fer dans l'alimentation (Larin S *et al*;2002). La restriction de l'érythropoïèse du fait d'une carence en fer est une situation fréquente chez les sujets insuffisants rénaux, humains (Nelson R.W *et al*., 2003).

Deux catégories de déficits en fer peuvent exister lors d'IRC :

- Déficit absolu en fer (carence d'apport, malnutrition).
- Déficit fonctionnel (augmentation de la consommation ou augmentation des pertes) (Hörl W.H. *et al*.,2007).

- Le déficit en fer est relativement courant chez l'humain en insuffisance rénale modérée comme en stade terminal, cependant, il est difficile de savoir lequel des mécanismes précédemment cités est prépondérant dans sa mise en place (Polzin D.J *et al*.,1997). A cette liste, on peut ajouter les causes iatrogéniques, d'importance non négligeable, certains traitements mis en place pour corriger l'anémie ou l'insuffisance rénale viennent perturber l'homéostasie du fer (Comstock T.J *et al*.,2001). Les origines sont donc multiples et contribuent à aggraver l'anémie fonctionnelle rénale par la mise en place d'une anémie microcytaire hypochrome plus ou moins rapidement arégénérative (Jain N.C *et al*., 1993).

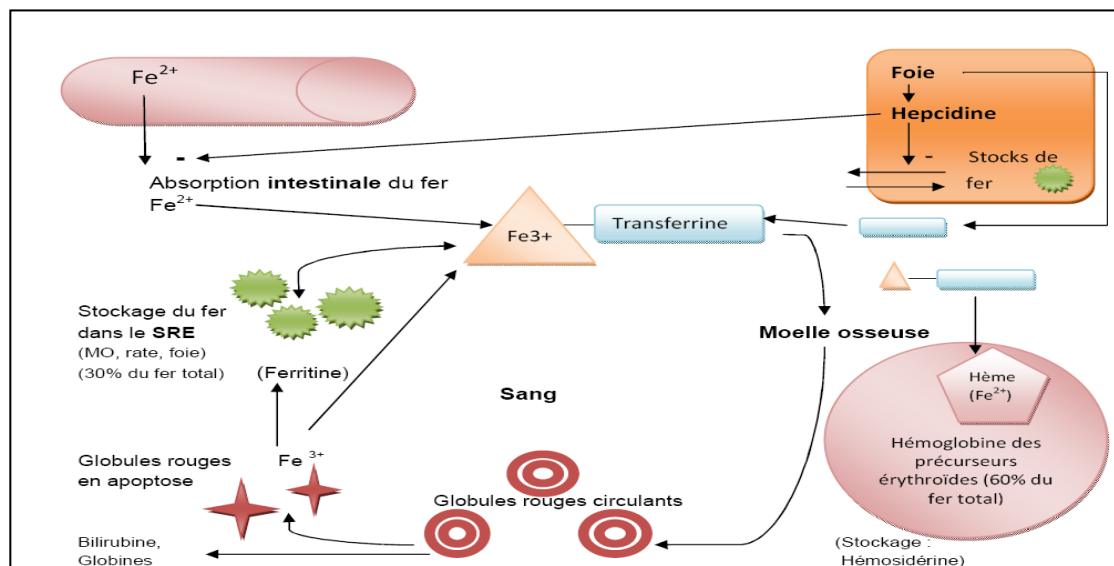


Figure 20: Cycle du fer ( Elliott J *et al*;2004).

### **4.2.1. Fonctions du sang**

Le sang est indispensable à l'organisme. Il a de nombreuses fonctions, dont celle d'alimenter les cellules du corps en O<sub>2</sub> (dioxygène) et de les débarrasser du CO<sub>2</sub> (dioxyde de carbone) produit par la combustion de substances organiques libérant l'énergie dont elles ont besoin.

- D'autres fonctions du sang
  - Ravitailler tous les tissus de l'organisme en substances vitales.
  - Conduire les produits toxiques comme l'urée, depuis les tissus jusqu'aux reins, pour qu'ils soient rejetés avec l'urine.
  - véhiculer les hormones, messagers chimiques de l'organisme.
  - Acheminer l'eau et les sels minéraux là où ils sont nécessaires.
  - Défendre l'organisme contre les microbes, porteurs d'infections, en les détruisant grâce aux globules blancs.
  - Maintenir constante la température interne de l'organisme en jouant un véritable rôle de chauffage central.
  - Cicatriser les plaies par l'intermédiaire des plaquettes (Anonyme .,2006).

### **4.2.2. Maladies inflammatoires chroniques**

#### **4.2.2.1. Anémie des maladies chroniques**

L'état inflammatoire rattaché à de nombreuses maladies chroniques (infections, cancers, maladies auto-immunes, maladies rénales chroniques), constitue une cause essentielle d'anémie, qui coexiste cependant le plus souvent avec des anémies d'autres origines (Raj D.S.C.,2008). L'état d'urémie, constitue un état inflammatoire chronique, même en l'absence de tout processus infectieux ou inflammatoire initial, de nombreux individus urémiques présentent une concentration sérique accrue en protéines de la phase aiguë de l'inflammation (CRP, ferritine, fibrinogène, IL-6, IL-1, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  et autres cytokines...) (Kwack C .*et al.*, 2006). L'état inflammatoire associé à l'insuffisance rénale chronique est souvent faible à modéré (Macdougall I.C. *et al.*, 2005).

Plusieurs éléments peuvent expliquer le développement d'un état inflammatoire chronique chez les individus urémiques:

- Tout d'abord, le microenvironnement inflammatoire existant lors d'urémie est directement responsable d'une activation des cellules immunitaires, monocytes et lymphocytes T.

- Intervient ensuite la clairance défectueuse des cytokines pro-inflammatoires, à laquelle peuvent s'ajouter une infection sous-jacente non révélée, l'accumulation des déchets glyqués et la diminution de l'activité anti-oxydante du plasma ( Macdougall I.C. *et al.*,2005).

- Enfin, l'hypoxie chronique, la fibrose tubulo-interstitielle et la glomérulosclérose mises en place lors d'IRC constitueraient également des facteurs d'apparition, de maintien et d'aggravation de l'inflammation et de l'insuffisance rénale (Gobe G.C *et al.*,2007)

L'origine de l'hypoxie est plurifactorielle : l'anémie, la diminution du flux capillaire dans la microvascularisation rénale, l'augmentation de la distance de diffusion liée à l'accumulation de matrice extracellulaire, l'augmentation des facteurs vasoconstricteurs (angiotensine II), la diminution des facteurs vasodilatateurs (oxyde nitrique), l'augmentation des besoins métaboliques des supers néphrons qui produisent eux-mêmes un excès de substances oxydantes réactives, sont autant de causes d'hypoxie chronique (Lee Y.T *et al.*,2008).

Pour finir, il n'est pas rare que les MRC soient associées à des co-morbidités diverses, elles-mêmes responsables d'une inflammation systémique (maladies infectieuses, auto-immunes, diabète, hypertension artérielle, insuffisance cardiaque congestive...) (Thorp M.L.,2009). Même en l'absence d'urémie, les états inflammatoires chroniques sont associés à une anémie (Cooper A.C. *et al.*,2005).

### **4.2.2.2. Mécanismes responsables de l'anémie associée aux états inflammatoires chroniques**

- Premièrement, l'inflammation conduit à une rétention du fer dans les cellules du système réticulo-endothélial (SRE), aboutissant à une diminution de la disponibilité du fer pour les précurseurs érythroïdes.

- Deuxièmement, comme nous l'avons dit précédemment, l'intervention des cytokines inflammatoires est responsable d'une diminution de la production d'érythropoïétine endogène par le rein et d'une altération de son activité.

- Enfin, les cytokines et les protéines de la phase aiguë de l'inflammation affectent négativement les phases de prolifération et de différenciation des précurseurs érythroïdes, soit par action directe au niveau de la moelle osseuse (cf. *infra*), soit indirectement, *via* la restriction en fer qu'elles opèrent (Weiss G. *et al.*, 2009).

Les différents facteurs intervenant dans l'anémie des maladies chroniques sont reports dans le (tableau 1).

**Tableau 1:** Facteurs physiopathologiques intervenant dans l'anémie des maladies chroniques (Raj D.S.C., 2008).

	Facteur clef	Mécanisme	Cellules, voies d'intervention impliquées	Effets systémiques
Altération de l'homéostasie du fer	IL-6	Induit la transcription et traduction de la ferritine  Stimule la production d'hepcidine	Augmentation du stockage de fer dans les cellules du SRE.  Absorption intestinale et libération de fer depuis les macrophages diminuées par action de l'hepcidine	Anémie  Hypoferrémie
Altération de l'érythropoïèse	Hypoferrémie	Détournement du fer vers le SRE  Diminution de l'absorption intestinale du fer par action des cytokines	Diminution de la capacité de biosynthèse de l'hème des globines et de la capacité de réponse à l'EPO  Réduction de la prolifération des CFU-e.	Anémie
Altération de l'intensité de la réponse érythropoïétique	Hypoferrémie	Altération de la capacité de réponse à l'EPO des BFU-e et CFU-e en raison de la restriction en fer	Diminution de la capacité de biosynthèse de l'hème et de la prolifération des progéniteurs érythroïdes	Anémie  Hypoferrémie

#### 4.2.2.3. Métabolisme du fer et anémie des maladies inflammatoires chroniques

Le contrôle du métabolisme du fer intervient à trois niveaux :

- Lors de son entrée dans l'organisme par absorption intestinale.
- Lors de son stockage dans les cellules du SRE
- Et enfin, lors de son intégration dans le noyau hémique des cellules rouges (Hörl W.H .*et al.*,2007).

Alors que l'absorption duodénale représente la principale voie d'entrée du fer dans l'organisme, les monocytes et macrophages du SRE constituent le principal système cellulaire responsable de sa mise à disposition pour l'érythropoïèse. Ils recyclent 90% du fer de l'organisme par érythrophagocytose des globules rouges sénescents (Langston C.E. *et al.*,2003) .L'intervention de l'IL-6 et de l'IL-1 se traduit par une modification du turn-over plasmatique du fer et une augmentation de l'entrée et de la rétention de celui-ci dans les cellules du SRE. Ainsi, l'anémie des individus affectés par un processus inflammatoire aiguë ou chronique est caractérisée par une diminution de la sidérémie, du taux de saturation de la

## **Chapitre II: Généralités sur l'insuffisance rénale et son influence sur l'érythropoïèse**

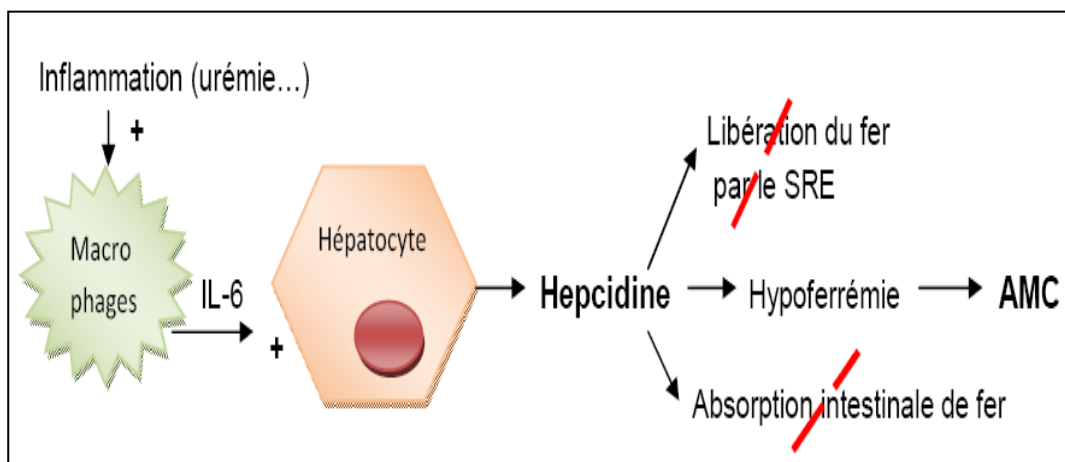
---

transferrine et de la concentration en transferrine plasmatique en dépit de l'existence de stocks de fer conséquents, ainsi que par une augmentation de la ferritinémie (Mills J *et al.*,2001).

Le détournement du fer de la circulation sanguine vers le SRE joue un rôle central dans le développement de l'anémie des maladies chroniques (Malyszko J *et al.*,2006). Le principal facteur de régulation intervenant dans l'homéostasie du fer est représenté par l'hepcidine, hormone peptidique produite par les hépatocytes. L'hepcidine possède un rôle clef de régulateur du transport transmembranaire du fer. Elle agit en inhibant l'absorption duodénale de fer d'une part, et en inhibant la libération de fer depuis les macrophages et les hépatocytes d'autres part (Maxwell A.P *et al.* , 2007). Son activité consiste en l'inhibition des efflux de fer au travers de la ferroportine, transporteur du fer situé à la fois sur les entérocytes, les macrophages et les hépatocytes (Hörl W.H *et al.*,2007). Lors d'infection ou d'inflammation, l'IL-6 libérée en grande quantité induit un accroissement rapide de la synthèse d'hepcidine, conduisant à une séquestration anormale du fer en position intracellulaire et à une hypoferrémie (Lappin T.R *et al.*, 2007).

Au contraire, l'hypoxie, l'anémie en général, la carence en fer et l'intensification de l'érythropoïèse inhibent la synthèse et la libération d'hepcidine par le foie ( Hörl W.H. *et al.*,2007) .Les études ont montré que, chez les individus insuffisants rénaux chroniques, la concentration en hepcidine était corrélée positivement à la concentration plasmatique en protéines, en albumine et en créatinine, ainsi qu'au débit de filtration glomérulaire (Pawlak K. *et al.*,2006). Elles ont également montré que les reins étaient impliqués pour partie dans la synthèse et l'élimination de l'hepcidine. Ainsi, l'augmentation de la concentration en hepcidine chez les individus urémiques pourrait être liée à la fois au défaut d'excrétion rénal et à l'état inflammatoire chronique rattaché à l'IRC (Pawlak K *et al.*,2006).

De nombreuses cytokines pro- et anti-inflammatoires ainsi que des radicaux libres libérés au cours du processus inflammatoire affectent l'acquisition et la libération du fer par les monocytes et macrophages. Ces cytokines possèdent une action modulatrice sur la transcription des gènes qui régulent le métabolisme du fer (Weiss G. *et al.* , 2009).



**Figure 21:** Rôle de l'IL-6 dans le développement de l'anémie des maladies chroniques (Raj D.S.C. *et al.*, 2008).

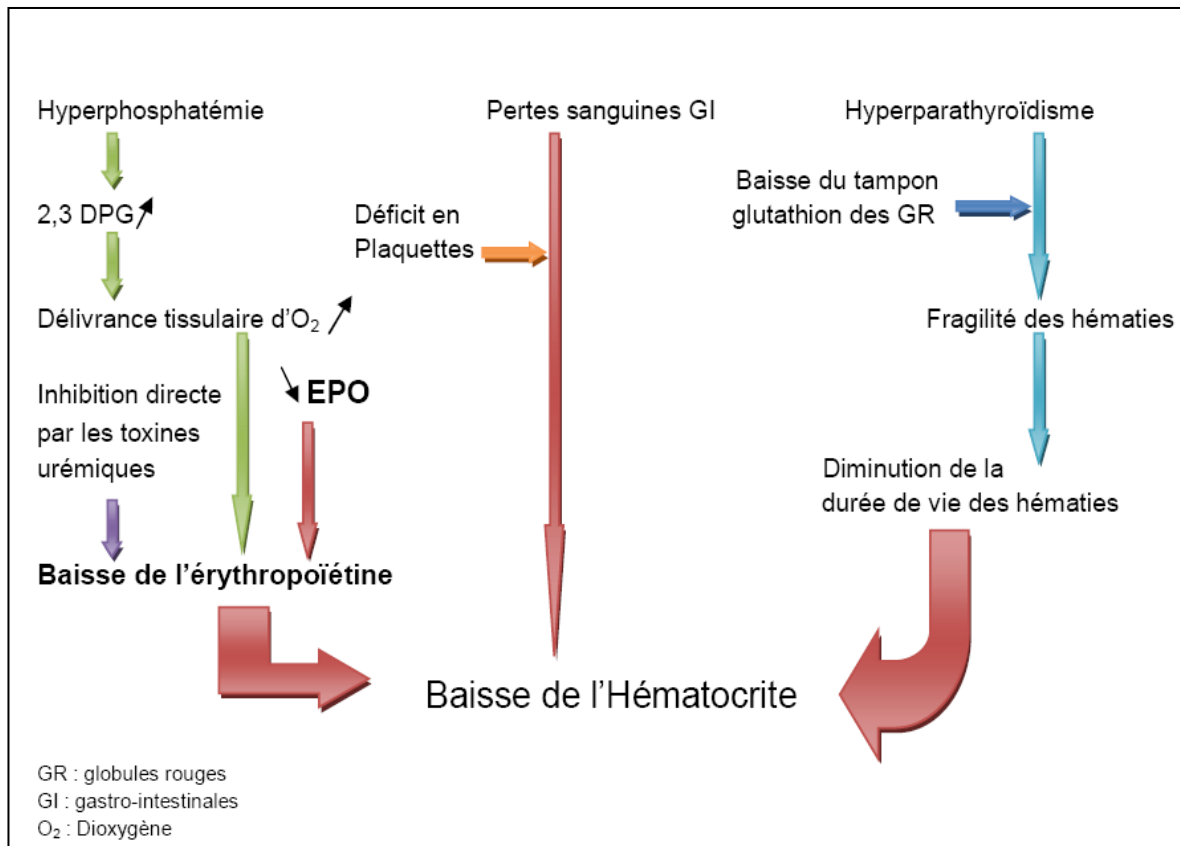
#### 4.2.2.4. Anémie inflammatoire en stade terminal d'insuffisance rénale

L'anémie est l'une des principales caractéristiques du stade terminal d'insuffisance rénale. Si le défaut de synthèse d'érythropoïétine en est la cause principale, près d'un quart des patients traités à l'EPO recombinante nécessitent une augmentation des doses administrées pour atteindre l'hématocrite cible souhaité. Cette résistance relative au traitement par l'EPO est fréquemment observée en présence de certaines co-morbidités telles qu'un état inflammatoire (faisant intervenir les mêmes éléments que ceux cités précédemment, mais l'urémie joue à ce stade un rôle prépondérant), des lésions digestives avec transfert d'endotoxines depuis l'intestin, un diabète, une insuffisance cardiaque, etc (Kwack C. *et al.*, 2006).

Plusieurs intervenants de la phase aiguë de l'inflammation sont actuellement incriminés dans la résistance au traitement, notamment l'IL-6, le TNF- $\alpha$ , la CRP, le fibrinogène, la ferritine (dont la concentration sanguine est augmentée) et la transferrine (dont la concentration est diminuée). La CRP, dont la synthèse hépatique est régulée par l'IL-6, serait augmentée chez 30% à 42% des patients insuffisants rénaux chroniques (Madore F. *et al.*, 2003). En moyenne, la dose d'EPO requise chez les patients chez qui la CRP est augmentée de 20 mg/L par rapport aux valeurs usuelles est 30 à 70% plus élevée que chez les patients présentant une faible concentration sérique en CRP. Une étude a rapporté que les concentrations sériques en CRP, TNF- $\alpha$  et IL-6 étaient indépendamment associées à une augmentation de la résistance au traitement par l'EPO (Raj D.S.C., 2008). En conclusion, toutes les étapes du métabolisme du fer peuvent être affectées lors de maladie inflammatoire chronique : absorption, élimination, transport et utilisation (Jutkowitz L.A. *et al.*, 2008).

## Chapitre II: Généralités sur l'insuffisance rénale et son influence sur l'érythropoïèse

Le résultat de ces différents phénomènes est une diminution de la disponibilité du fer pour la production d'hémoglobine et l'apparition d'une anémie arégénérative légère à modérée, se développant sous deux à trois semaines, d'abord normocytaire normochrome puis éventuellement (mais rarement) microcytaire hypochrome (Abella-Bourgès N *et al.*,2005). Les différents intervenants de la cascade inflammatoire pourraient devenir des cibles thérapeutiques potentielles pour le traitement de l'anémie des maladies inflammatoires chroniques (Dunham S.P *et al.*,1999).



**Figure 22:** Pathogénie de l'anémie lors d'insuffisance rénale chronique (Senior D.F., 2006).

# **PARTIE II**

## **Partie pratique**

# **CHAPITRE I**

## **Matériel et méthodes**

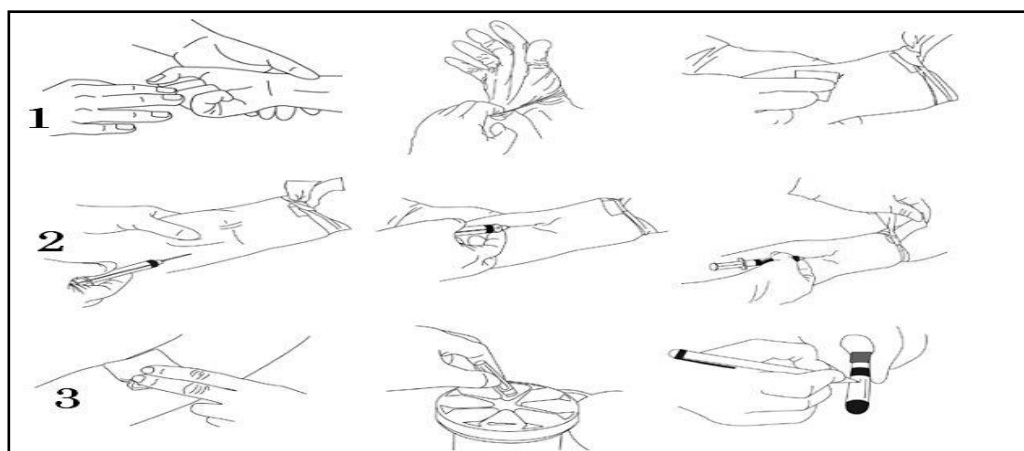
### Autres matériels de laboratoire

- Garrot.
- Coton sec.
- Aiguilles et seringues stériles.
- Tubes à essais.
- Gants de caoutchouc.
- pipette graduée.
- Centrifugeuse.
- Automate.
- Spectrophotomètre.

### 3. Méthodes

#### 3.1. prélèvement

Ce procédé est indiqué pour de grandes quantités du sang. Pour les analyses de laboratoire de routine, il suffit généralement de disposer de 2 ml à 10 ml de sang (fig.3) (Alemayehui G. *et al.*,2003).



**Figure 25:** Prélèvement et centrifugation du sang (Park K., 2000).

- **Points de ponction**

Chez les adultes, les veines qui sont généralement utilisées pour une ponction veineuse sont celles de l'avant-bras, du poignet ou la cheville. Les veines de la fosse antécubitale de l'avant-bras sont les plus indiquées pour les prélèvements sanguins, pour les raisons suivantes:

- ❖ Elles sont plus larges que les veines du poignet et de la cheville.
- ❖ Elles se trouvent à un endroit bien accessible.
- ❖ Elles sont faciles à palper chez la plupart des gens (Alemayehui G. *et al.*, 2003).

- **La procédure**

- ✓ Identifier le patient et le laisser prendre une position convenable.
- ✓ Placer un garrot bien serré sur le bras (au-dessus du pli du coude). Il est important de réduire le flux sanguin veineux dans la zone de ponction, d'élargir les veines et de les rendre proéminentes et palpables.
- ✓ Demander au patient de serrer le poing.
- ✓ Nettoyer le point de ponction avec de l'alcool à 70 % et le sécher avec une gaze stérile.
- ✓ Pratiquer la ponction avec l'aiguille de la seringue.

**Note:** s'assurer que l'endroit de la partie biseautée de l'aiguille se trouve dans l'alignement des marques de graduation de la seringue.

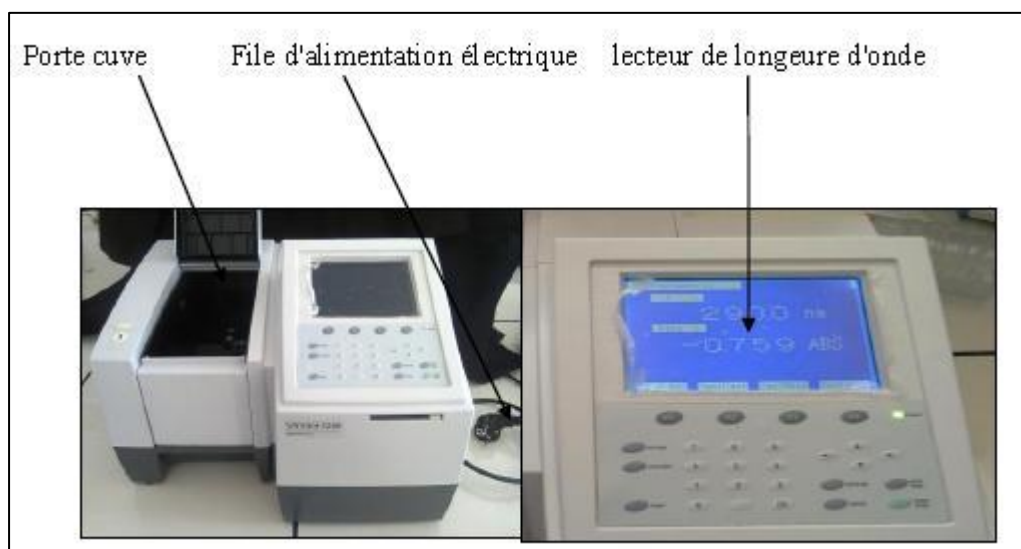
- ✓ Aspirer doucement le sang à l'aide de la seringue pour obtenir l'échantillon. Le garrot doit être retiré quand le sang commence à pénétrer dans la seringue.
- ✓ Appliquer un tampon de coton sur le point de ponction et retirer doucement l'aiguille.
- ✓ Reboucher l'aiguille, la retirer de l'embout de la seringue et transférer lentement le sang dans un tube à essais.
- ✓ Etiqueter les tubes (Alemayehui G. *et al.*, 2003).

### 3.2. Méthode biochimique

Pour chaque patient, on doit systématiquement faire le dosage de l'acide urique, l'urée, la créatinine, la glycémie, la calcémie, le phosphore, les FNS (Hémoglobine, Globules blancs, Globules rouges, Plaquettes, Hématocrites) par la spectrophotométrie une fois les échantillons séparés par la centrifugeuse, et on utilise l'automate aussi.



**Figure 26:** Centrifugeuse (Mammadi N.*et al.*., 2007).



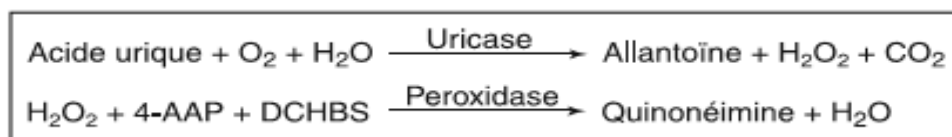
**Figure 27:** Spectrophotométrie à transmission moléculaire de type UV- VIS 1240 (photo originale).

### 3.3. Dosage des paramètres biochimiques

Les kits des réactifs de toutes les types d'analyses synthétisées par de BIOMAGHREB.

#### 3.3.1.L'acide urique

L'acide urique est oxydé par l'uricase allantoïne et de peroxyde d'hydrogène ( $2H_2O_2$ ), qui sous l'influence de POD, 4-aminophenazone (4-AP) et 2-4 Dichlorophénol sulfonate de formes un quinone imine rouge composé :



L'intensité de la couleur rouge formée est proportionnelle à la concentration d'acide urique dans l'échantillon (Schultz A., 1984).

#### Réactifs

<b>R1</b>	Phosphate pH 7,4	50 mmol/L
Tampon	2-4 Dichlorophénol sulfonate (DCPS)	4 mmol/L

<b>R2</b> Enzymes	Uricase	60 U/L
	Peroxydase (POD)	660 U/L
	Ascorbate oxidase	220 U/L
	4-Aminophenazone (4-AP)	1mmol/L
<b>Etalon(Standard)</b>	Acide urique	6mg/dl
		60mg/l
		357 $\mu$ mol/l

### Mode opératoire

#### 1- Conditions d'essais :

Cuvette.....1 cm trajet de la lumière.

Température.....37° C / 15-25° C.

#### 2- Régler l'instrument à zéro avec de l'eau distillée.

#### 3- Pipette dans une cuvette :

	Blanc	Etalon	Sérum
WR (mL)	1	1	1
Etalon acide urique ( $\mu$ L)	---	25	---
Echantillon ( $\mu$ L)	---	---	25

#### 4- Mélanger et laisser incuber 5 min à 37° C ou 10 min à 15-25° C.

5- Lire l'absorbance (A) de la norme, contre le blanc et les échantillons. La couleur est stable pendant au moins 30 minutes (Burtis A. *et al*., 1999).

**Préparation et stabilité**

Dissoudre le lyophilisat R2 avec le contenu d'un flacon Tampon R1 Réf (20091), (20092), (20095), (20096). Le réactif de travail est stable : 7 jours à 20-25°C, 3 semaines à 2-8°C (Fossati *et al.*, 1980).

**Echantillons**

Sérum, plasma recueilli sur héparine urine diluée au 1/10 dans l'eau distillée (Fossati *et al.*, 1980).

**Calcul**

$$\text{Acide urique} = \frac{\text{D.O.Echantillon}}{\text{D.O. Standard}} \times n$$

Mg/dl, n = 6

Mg/l, n = 60

µmole/l, n = 357

Urine multiplier le résultat par 10 (Fossati *et al.*, 1980).

**Valeurs normales**

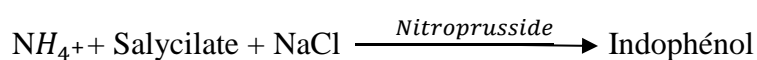
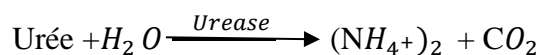
Sérum ou plasma	Femmes	2.5 - 6.0 mg/dl 25 - 60 mg/l
	Hommes	148 - 357 µmol/l
		3.4 - 7.0 mg/dl 34 - 70 mg/l
		200 - 416 µmol/l
Urine	250 - 750 mg/24 h	

Si les urines sont troubles, les chauffer à 60°C pendant 10 mn afin de dissoudre l'acide urique (Burtis A. *et al.*, 1999).

## 3.3.2 L'urée

## Principe

L'urée dans l'échantillon est hydrolysée enzymatiquement en ammoniacque ( $\text{NH}_4$ ) et de dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ). Ammoniaisons formée réagit avec le salicylate et l'hypochlorite ( $\text{NaClO}$ ), en présence de la nitroprussiate de catalyseur, pour former un indophénol vert :



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration d'urée dans l'échantillon (Tabacco A. *et al.*.,1979) .

## Réactifs

<b>R1</b> Tampon	Phosphate pH 6.7	50 mmol/L
	EDTA	2 mmol/L
	Sodium salicylate	400 mmol/L
	Sodium nitroprusside	10 mmol/L
<b>R2</b> NaClO	Sodium hypochlorite ( $\text{NaClO}$ )	140 mmol/L
	Sodium hydroxide	150 mmol/L
<b>R3</b> Enzymes	Urease	30000 U/L
<b>Etalon</b>	50 mg/dL	

## Mode opératoire

## 1- Conditions d'essais :

Longueur d'onde.....580 nm.

Cuvette.....1 cm trajet de la lumière.

Température.....37° C / 15-25° C

2- Régler l'instrument à zéro avec de l'eau distillée.

3- Pipette dans une cuvette :

	Blanc	Etalon	Sérum
WR ( mL )	1	1	1
Etalon (µl)	---	10	---
Echantillon (µl)	---	---	10

4- Mélanger et laisser incuber 5 min à 37° C ou 10 min à température ambiante (15-25° C).

5- Pipette:

	Blanc	Etalon	Sérum
R2 ( mL )	1	1	1

6- Mélanger et laisser incuber 5 min à 37° C ou 10 min à température ambiante (15-25° C).

7- Lire l'absorbance (A) des échantillons et à étalonner, contre le blanc. La couleur est stable pendant au moins 30 minutes à 15-25° C (Burtis A. *et al.* , 1999).

**Préparation et stabilité**

Le réactif 4 est à compléter avec 90 ml d'eau distillée : Réf. 20141, 450 ml d'eau distillée Réf. 20146 ou Réf.20148.Dissoudre le flacon R2 dans le tampon R1 : réactif A. Les réactifs de travail sont stables : 6 mois à 2-8°C, 14 Jours à 20-25°C (Fossati *.et al.*, 1980).

**Calcul**

D.O. Echantillon

Urée =  $\frac{\text{D.O. Echantillon}}{\text{D.O. Etalon}} \times n$ 

D.O. Etalon

g/l : n = 0,50

mmol/l : n = 8,325 (Fossati *et al.*, 1980).**Valeurs normales**

Sérum, plasma	15 - 40 mg /dl 0,15 - 0,40 g/l 2,49 - 6,66 mmol/l
Urine	20-35 g/24h

**3.3.3. La créatinine****Principe**

L'analyse est basée sur la réaction de la créatinine avec le picrate de sodium comme décrit par Jaffer. Créatinine réagit avec le picrate alcalin, formant un complexe rouge. L'intervalle de temps choisi pour les mesures évite les interférences par d'autres composants du sérum. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de créatinine de l'échantillon (Murray R. *et al.*, 1984).

**Réactifs**

<b>R1</b> Réactif picrique	Acide picrique 17.5 mmol/L
<b>R2</b>	Hydroxyde sodium 1.6 mol/L

Réactif Alcaline	
<b>Etalon Standard</b>	Créatinine 2 mg/dl
	20 mg/l
	176,8 $\mu$ mol/l

**Mode opératoire****1- Conditions d'essais :**

Longueur d'onde.....492 nm (490-51

Cuvette.....1 cm trajet de la lumière

Température.....37° C / 15-25° C

**2- Régler l'instrument à zéro avec de l'eau distillée****3- Pipette dans une cuvette :**

	Blanc	Etalon	Sérum
WR (mL)	1	1	1
Etalon ( $\mu$ L)	---	100	---
Echantillon ( $\mu$ L)	---	---	100

**4- Mélanger et démarrer le chronomètre.**

**5- Lire l'absorbance ( $A_1$ ) après 30 secondes et après 90 secondes ( $A_2$ ), de l'ajout de l'échantillon.**

**6- Calculer :  $\Delta A = A_2 - A_1$  (Burtis A. *et al.* , 1999).**

**Préparation et stabilité**

Les réactifs sont prêts à l'emploi, stables à température ambiante jusqu'à la date indiquée sur l'étiquette.

Réactif de travail: mélanger à parts égales R1 et R2.

Stabilité : 1 mois à 20°-25°C (Burtis A. *et al.* , 1999).

**Echantillons**

Sérum, plasma recueilli sur héparine. Urine diluée au 1/20 dans l'eau distillée (tenir compte de la dilution pour le calcul) (Burtis A. *et al.* , 1999).

**Calcul**

Calculer  $DO = DO2 - DO1$  pour le standard et les échantillons.

D.O. Echantillon

Créatinine =  $\frac{\text{D.O. Echantillon}}{\text{D.O. Standard}} \times n$

D.O. Standard

Mg/dl: n = 2

mg/l: n = 20

$\mu\text{mol/l}$ : n = 176.8 (Fossati *et al.*, 1980).

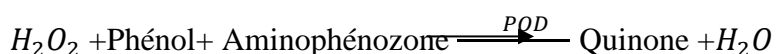
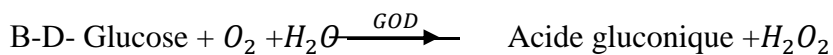
**Valeurs normales**

Sérum	Homme	65 à 120 $\mu\text{mol/l}$ soit 7 à 13 mg/l
	Femme	50 à 100 $\mu\text{mol/l}$ soit 6 à 11 mg/l
Urine	15-25 mg/kg/24h	

### 3.3.4. La glycémie

#### Principe

Catalyse de glucose oxydase (GOD) l'oxydation du glucose en acide gluconique. L'eau oxygénée ( $H_2O_2$ ), formée est détectée par un accepteur d'oxygène chromogène, phénol-aminophénazone en présence de peroxydase (POD):



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de glucose dans l'échantillon (Trinder P., 1969).

#### Réactifs

<b>R1</b> Tampon	TRIS pH 7.4	92 mmol/L
	Phénol	0.3 mmol/L
<b>R2</b> NaClO	Glucose oxydase (GOD)	15000 U/L
	Peroxydase (POD)	1000 U/L
	4-Aminophénazone (4-AP)	2.6 mmol/L
<b>R3</b> Etalon	Glucose	100 mg/dL
		1g/l
		5,56 mmol/l

#### Mode opératoire

##### 1- Conditions d'essais :

Longueur d'onde.....505nm (490-550)

Cuvette.....1 cm trajet de la lumière

Température.....37° C / 15-25° C.

##### 2- Régler l'instrument à zéro avec de l'eau distillée.

## 3- Pipette dans une cuvette :

	Blanc	Etalon	Sérum
WR ( mL )	1	1	1
Etalon (µl)	---	10	---
Echantillon (µl)	---	---	10

4- Mélanger et laisser incuber 5 min à 37° C ou 10 min à température ambiante (15-25° C).

5- Lire l'absorbance (A) de la norme, contre le blanc et les échantillons. La couleur est stable pendant au moins 30 minutes (Burtis A. *et al.* , 1999).

**Préparation et stabilité**

Dissoudre le lyophilisat R2 dans le tampon R1.

Protéger de la lumière.

Stabilité du réactif de travail:

- 8 semaines à 20 - 25°C.

- 8 mois à 2 - 8°C (Burtis A. *et al.* , 1999).

**Echantillon**

Sérum (non hémolysé). Plasma recueilli sur fluorure-héparine ou héparine-iode acétate

(non hémolysé).Liquide Céphalo-rachidien (Fossati *.et al.*, 1980).

**Calcul**

D.O. Echantillon

Glucose = \_\_\_\_\_ x n

D.O. Standard

Mg/dl n = 100

g/l n = 1

mmol/ n = 5,56 (Fossati *et al.*, 1980).

### Valeurs normales

Sérum, plasma	70 - 105 mg/dl
	0,70 - 1,05 g/l
	3,89 - 5,84 mmol/l
Liquide céphalo rachidien	50 - 70 mg/dl
	0,50 - 0,70 g/l
	2,78 - 3,89 mmol/l

### 3.3.5. Calcium

#### Principe

Le calcium forme avec le complexant crésol phtaléine en milieu alcalin un composé coloré en violet dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en calcium (Burtis *A. et al.*, 1999).

#### Réactifs

<b>Réactif</b> Solution tampon	Tampon Alcalin 2-Amino-2-methyl 1 -Propanol	500 mmol/l
<b>Réactif 2</b> Solution chromogène	Complexant crésolphtaléine Hydroxy 8 quinolène	0.62 mmol/l 69 mmol/l

<b>Réactif 3</b> Standard	Standard calcium	10mg/dl 100 mg/l 2.5 mmol/l
------------------------------	------------------	-----------------------------------

### Mode opératoire

Longueur d'onde : 570 nm (550-590).

Température : 20 - 25°C.

Cuve : 1 cm d'épaisseur.

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	---	20 μl	-----
Echantillon	---	----- --	20 μl
Mélange réactif	1 ml	1 ml	1 ml

Mélanger et incuber 5 minutes à température ambiante, lire les densités optiques. La coloration est stable 1 heure (Fossati *et al.*, 1980).

### Préparation et stabilité

Mélanger 1 volume de réactif R1 avec 1 volume de réactif R2.

Stabilité : 4 heures à 20 - 25°C ,20 heures à 2-8°C (Fossati *et al.* , 1980).

### Echantillons

Sérum, plasma recueilli sur héparine. Urine diluée au 1/3 avec de l'eau distillée, acidifiée à pH : 3,4 avec HCl dilué (Fossati *et al.* , 1980).

**Calcul**

D.O. Echantillon

————— x n; n = Valeur du standard

D.O. Standard

Mg/l; n = 100

mg/dl; n = 10

mmol/l; n = 2,5 (Burtis A. *et al.* , 1999).

**Valeurs normales**

	Nouveau-nés	Enfants	Adultes
<b>Sérum</b>	7.5 - 12 mg/dl 1,87 - 3 mmol/l	10.0 -11 mg/dl 2.50 - 2.87mmol/l	9.0 - 10.6 mg/dl 2,25 - 2,65 mmol/l
<b>Urine</b>	1-8 mg/kg/24h 0,025-0,2mmol/kg/24h	2-6 mg/kg/24h 0,05- 0,150mmol/kg/24h	150 - 300 mg/24h 3,5 - 7,5 mmol/24h

**3.3.6. Phosphore**

**Principe**

En milieu alcalin, le complexe phospho-molybdate est réduit en complexe phosphomolybdique de couleur bleu et dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en phosphore (Fossati *et al.*, 1980).

**Réactifs**

	Réactif réducteur	
	:	0.14 mmol/l
R1	Chlorydrate d'hydroxylamine Polyvinilpyrrolidone	10 g/l 89.63 mmol/l

	Acide sulfurique	
R2	Sel de molybdate d'ammonium	6.07 mmol/l
R3	Etalon	50 mg/l 1.61 mmol/l
R4	Solution de soude 2 N	

**Mode opératoire**

Longueur d'onde : .....680 nm.

Température : .....T° laboratoire.

Cuve .....1 cm.

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

	Blanc Réactif	Etalon	Echantillon
Eau distillée	50µI	----	----
R3 Etalon	----	<b>50µI</b>	----
Sérum ou urine 1/5	----	----	<b>50µI</b>
Mélange réactionnel	2 ml	2 ml	2 ml

Bien mélanger, laisser 2 minutes à la température du Laboratoire (présence d'un trouble pour l'échantillon).

R 4	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml
-----	--------	--------	--------

Mélanger (le trouble disparaît). Laisser 15 minutes à température du laboratoire, lire à 680 nm.

La coloration est stable 1 heure à température du laboratoire (Burtis A. *et al.* , 1999).

**Préparation et stabilité**

Mélanger 1 volume de réactif R1 avec 1 volume de R2.

Stabilité : 4 heures à 20-25°C, 1semaine à + 4°C (Fossati *.et al.*, 1980).

**Echantillons**

- Sérum ou plasma recueilli sur héparine.
- Urine diluée au 1/5 dans l'eau distillée (Burtis A. *et al.* , 1999).

**Calcul**

$$\frac{\text{D.O. Echantillon}}{\text{D.O. Etalon}} \times n$$

D.O. Etalon

mg/l n = 50

mmol/l n = 1.61

Urines : multiplier par 5 le résultat obtenu.

<b>Sérum</b>	Enfants	1,10 - 2,10 mmol/l 43 - 65 mg/l
	Adultes	0.90 - 1,45 mmol/l 28 - 45 mg/l
<b>Urine</b>		12 - 42 mmol/24 h 0.272- 1.3 g/24 h

### 3.3.7. FNS (Hémogramme)

Le FNS (Numération-Formule Sanguine) ou l'hémogramme est l'examen biologique le plus prescrit toutes pathologies confondues. Il apporte des informations sur les cellules du sang contribuant au maintien de l'intégrité de l'organisme : oxygénation des tissus, défense de l'organisme contre les agents pathogènes, prévention du risque hémorragique. La numération et la formule sanguine sont maintenant réalisées sur des automates de façon suffisamment fiable. Les analyses du FNS traitent L'hémoglobine (Hb), les globules rouges (GR) et les leucocytes (GB), les hématocrites (Ht) et les plaquettes (Pq)...etc. Ils sont mesurés par l'appareil de l'automate (Demas V., 2009).

#### Principe de l'automate

L'automate mesure certains paramètres [nombre de globules rouges (GR), taux D'hémoglobine (Hb) et volume globulaire moyen (VGM), et calcule les autres:

- Hématocrite (The)  $[(VGM \times GR) / 10]$ .
- Taux corpusculaire moyen en Hb (TCMHb)  $[(Hb / GR) \times 10]$ .
- Concentration corpusculaire moyenne en Hb (CCMHb)  $[(Hb / Hte) \times 100]$ .
- Indice de répartition de la taille des globules rouges (IDR) (Demas V., 2009).



**Figure 28:**Automate (Demas V., 2009).

**3.3.7.1. Hémoglobine (Hb)**

**Principe**

Dosage de l'hémoglobine par transformation en cyan méthémoglobine sous l'action du ferricyanure de potassium et de cyanure de potassium (Demas V., 2009).

**Réactifs**

<p><b>Réactif 1 de Drabkin</b> 50 fois concentre</p>	<p>Ferricyanure de potassium 30 mmol/ l Cyanure de potassium 38 mmol/l Phosphore monopotassique 50 mmol/l Stérox 25 ml/l</p>
--	--

**Mode opératoire**

**Solution de travail**

Réactif concentré de Drabkin R1.....1 volume.

Eau distillée..... 49 volumes.

**Stabilité**

1 mois à 20-25° (ne pas placer au réfrigérateur).

**Longueur d'onde :** 540nm (Hg 546).

**Zéro de l'appareil :** Solution de travail.

	Dosage
Echantillon	20 µl
Solution de travail de Drabkin	5 ml

Homogénéiser et photomètre (Demas V., 2009).

**Stabilité de la coloration**

1 heure (éviter d'exposer le milieu réactionnel à une lumière trop vive) (Demas V., 2009).

**Echantillon**

Sang total recueilli sur EDTA (Demas V., 2009).

**Calcul**

[Hémoglobine] g/l = DO échantillon x **376** (Demas V., 2009).

**Valeurs usuelles**

Nouveau-nés :  $195 \pm 50$  g/l (12 mmol/l).

Enfants de 1 an : 112 g/l (6,95 mmol/l).

Enfants de 10 ans : 129 g/l (8 mmol/l).

Hommes :  $160 \pm 20$  g/l (9,9 mmol/l).

Femmes :  $140 \pm 20$  g/l (8,7 mmol/l) (Demas V., 2009).

**3.3.7.2. Globules Rouges (GR)**

**Tableau 3:** Les différentes compositions des globules rouges (Demas V., 2009).

	Adulte (2 sexes) SI (x10 <sup>9</sup> /L)
Leucocytes	4-10
Neutrophiles (PNN)	1,7-7
Eosinophiles (PNE)	0-0,5
Basophiles (PNB)	0-0,05
Lymphocytes (Lympho)	1,5-4
Monocytes (Mono)	0,1-0,6

IDR (%) : 12,5-15.

SI: système international d'unités (nouvelles unités) (Demas V., 2009).

### 3.3.7.3. Globules blancs(GB)

**Tableau 4:** Les différents types des globules blancs (Demas V., 2009).

	Homme Nouvelle SI	Femme Nouvelle SI
GR	4,5- 5,9x10 <sup>12</sup> /L	4,5-5,1x10 <sup>12</sup> /L
Hb	140-175 g/L	123-153 g/L
Hte	0,415- 0,504	0,36-0,45
VGM	80-98 fl	80-98 fl
CCMHb	32-36 g/dl	32-36 g/dl
TCMHb	27,5-33,2 pg	27,5-33,2 pg

### 3.3.7.4. Plaquettes (Pq)

Pq : 150 à 400 x10<sup>3</sup>/FL (ancienne nomenclature) ou 150-400 G/L (SI).

Volume moyen plaquettaire (VMP) : 6 - 9,2 fl.

Il n'y a pas de variations physiologiques dépendantes de l'âge et du sexe (Demas V., 2009).

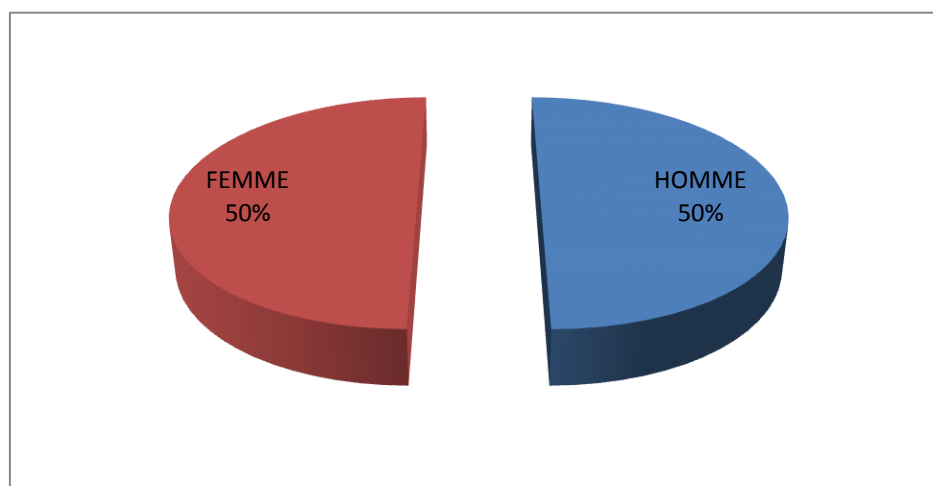
# **CHAPITRE II**

## **Résultats et discussion**

## II.1. Résultats

### 1.1. Présentation des populations étudiées

Afin d'étudier les analyses biologiques et leur perturbation chez les personnes atteintes d'insuffisance rénale. Nous avons choisi 160 personnes, parmi ceux-ci il ya 80 femmes (40 sains et 40 souffrant d'insuffisance rénale) et 80 hommes (40 sains et 40 souffrant d'insuffisance rénale). Les résultats sont représentés dans la (figure 29).



**Figure 29:** Présentation de la population étudiée selon le sexe.

Le nombre des personnes examinées montre une égalité de sexe masculin par rapport au sexe féminin.

### 1.2. Etude des paramètres biochimiques chez les personnes de sexe masculin (sains et malades)

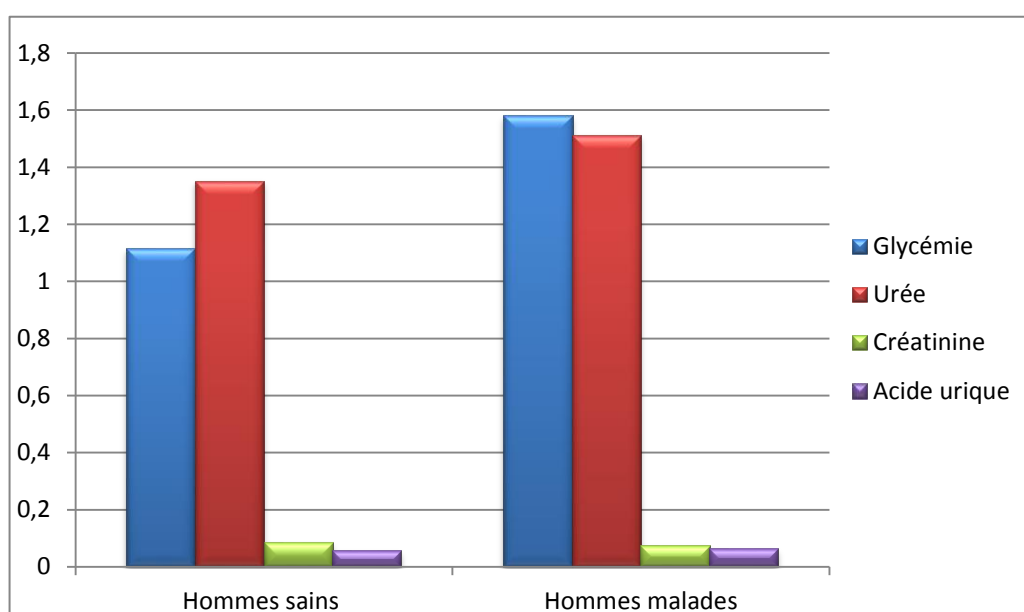
Afin d'étudier les perturbations des analyses biologiques chez les deux sexes, nous avons réalisé des analyses biochimiques et hématologiques.

**Tableau 5:** Paramètres biochimiques chez les personnes de sexe masculin (sains).

	Sains (n=40)
<b>Analyses biologiques en g/l</b>	<b>MOY</b>
<b>Glycémie</b>	1.11475
<b>Urée</b>	1.3515
<b>Créatinine</b>	0.086418
<b>Acide urique</b>	0.057133

**Tableau 6:** Paramètres biochimiques chez les personnes de sexe masculin (malades).

Analyses biologiques en g/l	Malades (n=40)
	MOY
Glycémie	1.58
Urée	1.51225
Créatinine	0.07411
Acide urique	0.064083

**Figure 30 :** Evaluation des paramètres biochimiques chez les personnes de sexe masculin (hommes sains et malades).

Les résultats d'évaluation des paramètres biochimiques chez les personnes de sexe masculin sains et malades sont rassemblés dans la (figure 30). Nous avons remarqué une augmentation très importante de l'urée chez le groupe malade par rapport au groupe sain et une augmentation de la glycémie également.

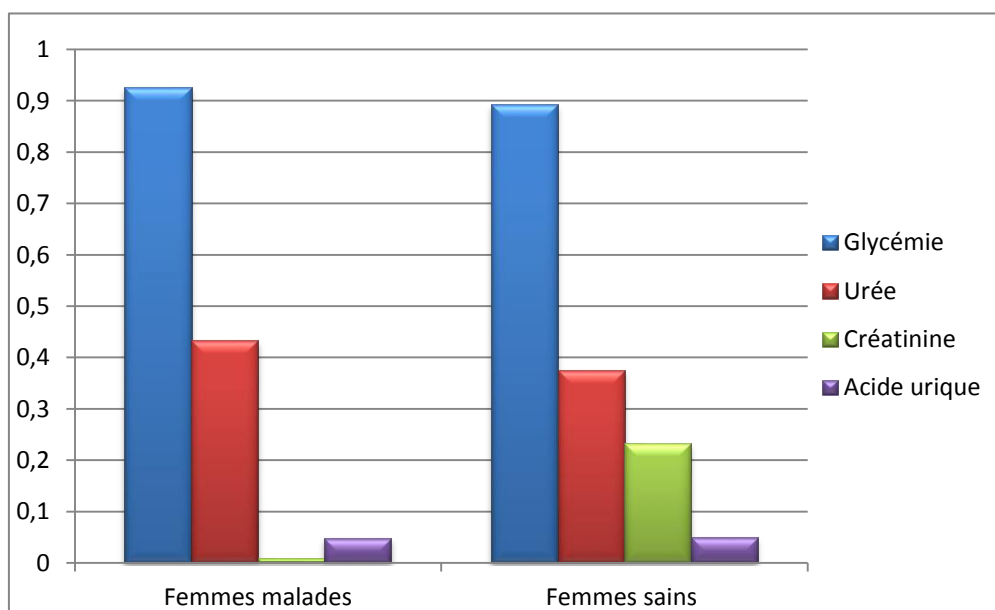
### 1.3. Etude des paramètres biochimiques chez les personnes de sexe féminin (saines et malades)

**Tableau7:** Paramètres biochimiques chez les personnes de sexe féminin (saines).

	<b>Sains (n=40)</b>
<b>Analyses biologiques en g/l</b>	<b>MOY</b>
<b>Glycémie</b>	0.89275
<b>Urée</b>	0.3755
<b>Créatinine</b>	0.233925
<b>Acide urique</b>	0.050703

**Tableau8:** Les paramètres d'évaluation du statut en analyses biologiques chez les personnes de sexe féminin (femmes malades).

	<b>Malades (n=40)</b>
<b>Analyses biologiques en g/l</b>	<b>MOY</b>
<b>Glycémie</b>	0.92725
<b>Urée</b>	0.4335
<b>Créatinine</b>	0.0098
<b>Acide urique</b>	0.049108



**Figure 31:** Evaluation des paramètres biochimiques chez les personnes de sexes féminins (saines et malades)

Les résultats d'évaluation des paramètres biochimiques chez les personnes de sexe féminin malades et sains sont rassemblés dans la (figure 31). Nous avons remarqué une augmentation très importante aussi de l'urée chez le groupe malade par rapport au groupe sain et une augmentation significative de la glycémie.

**Tableau 9:** Paramètres hématologiques chez les personnes du deux sexe (20 masculins et 20 féminins malades).

Paramètres hématologiques	Malades (n=40)
	MOY
GB( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	8.695
GR ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ )	4.6245
HT(%)	45.93
HB(g/dl)	13.22
PLA( $\times 10^3/l$ )	227.35

## 2. Discussion

Notre objectif est de faire une étude préliminaire sur l'effet de l'insuffisance rénale sur les paramètres biochimiques et hématologiques chez les personnes souffrant de cette maladie en dosant les paramètres suivants (glycémie, urée, créatinine, acide urique et FNS).

D'après les résultats obtenus, Nous remarquons une hyper-urée sanguine chez les personnes souffrant d'insuffisance rénale chez les deux sexes. Celle-ci est sous l'influence de plusieurs facteurs liées au : facteurs héréditaires, facteurs alimentaires, syndrome métabolique (incluant hypertension et obésité) ....etc.

- Une élévation du niveau de la créatinine peut signifier un problème croissant, avec peu performants des reins. chez les patients d' hyper-urée sanguine, les tissus du rein sont endommagés (Canaud B.*et al.*, 2004).
- L'augmentation du taux de l'urée est peut signifier qu'il y a une insuffisance hépatique.
- Le taux élevé de la glycémie montre l'existence de certaines formes de diabète ou un déficit métabolique. ainsi, la consommation de fructose provoque le diabète et une élévation notable et rapide de l'acide urique dans l'organisme. Celle-ci est responsable de l'augmentation de l'obésité de même que de certains troubles de santé reliés, comme l'hypertension, et autres problèmes (Oate K.*et al.* , 2010).
- La diminution du taux d'hémoglobine montre qu'il a une relation avec le fer; ce qui induit l'apparition de l'anémie.

Alors les fonctions rénales des personnes (sexe masculin et féminin) souffrant d'insuffisance rénale diminuent (se diffèrent selon le taux) et se passent par cinq stades essentiels :

- ✓ Premier stade : 90%-60% ( fonction des reins).
- ✓ Deuxième stade : 60%-30%.
- ✓ Troisième stade : 30%-15%.
- ✓ Quatrième stade : 15%-10%.
- ✓ Cinquième stade : <10% ; dans cette stade, le malade nécessite l'hémodialyse.

Mais pour les stades (1<sup>er</sup>– 4<sup>ème</sup> stade); les malades sont besoins exclusivement d'utiliser des régimes alimentaires chacun selon les résultats de ses analyses; aussi des traitements pour éviter la gravité de cette maladie.

**L'insuffisance rénale peut entraîner des complications chez les malades qui sont :**

- **Les complications cardiaques:** Une atteinte permanente du cœur se produit souvent au cours des premiers stades de l'IR, avant la mise en œuvre d'une dialyse ou d'une transplantation. Elle peut être due à une HTA, une anémie ou une surcharge liquidienne. Il arrive aussi que les déchets s'accumulent dans le sang du fait du dysfonctionnement rénal aient un effet toxique sur le cœur.
- **L'hypertension artérielle :** Rappelons que l'une des fonctions du rein est de réguler la PA. L'IR conduit donc souvent à une PA élevée.

Plusieurs facteurs sont susceptibles d'aggraver une HTA :

- ✓ Surcharge pondérale.
  - ✓ Aliments gras consommés en grande quantité.
  - ✓ Tabac.
  - ✓ Diabète.
- **L'anémie:** La plupart des patients présentant une IR souffrent d'anémie. Le test de dépistage de l'anémie est la mesure du taux d'hémoglobine sanguin.
  - **La surcharge liquidienne :** Les patients en hémodialyse développent parfois un état appelé surcharge liquidienne entre les séances de dialyse. L'eau en excès s'accumule sous la peau au niveau des chevilles et dans d'autres régions du corps, y compris les poumons.

Les limitations concernant l'apport en liquides sont plus strictes chez les patients en hémodialyse que chez les patients en dialyse péritonéale.

Pour éviter la surcharge liquidienne, les patients en hémodialyse doivent limiter la quantité de liquide qu'ils boivent. En général, les patients sont autorisés à consommer 750 ml de liquide par jour tout compris (eau, thé, café, potage...)

- **Hyperkaliémie :** L'hyperkaliémie est causée par une trop grande quantité de potassium dans le sang et peut interférer avec le rythme cardiaque. L'hyperkaliémie sévère peut entraîner un arrêt du cœur. Il est demandé à la plupart des patients en hémodialyse de limiter leur apport en aliments riches en potassium.
- **L'ostéodystrophie rénale :** L'IR conduit à des taux anormaux de calcium, de phosphate et de vitamine D et à un affaiblissement des os dû à un état pathologique appelé ostéodystrophie rénale.

En l'absence de traitement, elle peut conduire à des douleurs osseuses en particulier au niveau du dos, des hanches, des jambes et des genoux.

- **L'hyperparathyroïdie** : L'hormone parathyroïdienne (PTH) est une substance produite par 4 minuscules glandes situées sur le devant du cou, appelées glandes parathyroïdiennes. La PTH participe à l'équilibre du taux sanguin de calcium.

En cas de dysfonctionnement rénal, le taux sanguin de calcium peut atteindre un niveau bas. L'organisme compense alors en produisant plus de PTH. Parfois, il réagit de manière excessive et produit trop de PTH qui aggrave alors l'ostéodystrophie rénale (Hoarau M;2011).

La dialyse rénale est un processus artificiel, qui accomplit les deux fonctions principales des reins sains : filtrer le sang (en éliminant ses déchets), et équilibrer les niveaux de liquides en éliminant les déchets du sang et l'eau en excès.

Si la dialyse est arrêtée, le décès du patient est probable en quelques jours ou quelques semaines. Les deux différents types de dialyse, l'hémodialyse (HD) et la dialyse péritonéale (DP), fonctionnent de manière similaire : elles nettoient le sang en le faisant passer à travers une membrane. En HD, la membrane est artificielle et située à l'extérieur du corps du patient. En DP, la membrane est naturelle et située à l'intérieur de l'abdomen du patient.

Les deux types de dialyse sont efficaces. Certains patients font l'expérience des deux formes de dialyse au cours de leur vie sous traitement. L'état clinique est l'un des facteurs déterminants dans le choix du mode de dialyse. L'information pré dialyse est très importante et permet au patient de faire son choix de dialyse rapport à sa vie quotidienne .La dialyse accomplit deux fonctions que les reins ne sont plus en mesure d'assurer : éliminer les déchets en excès et équilibrer les taux de liquide dans l'organisme (Hoarau M;2011).

Les déchets et l'eau en excès passent du sang dans un liquide spécial appelé liquide de dialyse, afin d'être éliminés de l'organisme par un processus appelé diffusion.

Une fine couche de tissu naturel (en dialyse péritonéale) ou de plastique synthétique (en hémodialyse), appelée membrane de dialyse, maintient le sang séparé de la solution de dialyse (également appelée liquide de dialyse ou dialysat). Les globules sanguins sont trop gros pour traverser la membrane de dialyse, qui permet en revanche aux déchets et à l'eau de diffuser (passer) dans la solution de dialyse. On dit que la diffusion est complète lorsqu'une quantité égale de déchets se trouve dans le sang et dans la solution de dialyse. Les déchets sont éliminés en éliminant le liquide de dialyse.

L'insuffisance rénale chronique (IRC) représente un enjeu majeur de santé publique, de tout premier plan du fait d'une augmentation régulière de son incidence. La maladie rénale chronique concerne plus d'un sujet sur dix dans la population générale, dont 4/100 000 atteindront le stade de la dialyse. Il est estimé que d'ici 2030, plus de 2 millions de personnes aux États-Unis auront besoin de dialyse.

L'IR constitue un syndrome fréquemment rencontré chez les humains. En Algérie, en 2011, plus de 14.500 patients ont été traités par hémodialyse, près de 400 patients ont bénéficié de la dialyse péritonéale, et plus de 1.000 patients vivaient avec un greffon fonctionnel (dont plus de 900 ont été transplantés en Algérie).

Notre étude, a porté sur 160 personnes de différents âges (16 à 80 ans) dans la région d'El-Oued, dont 80 saines et les autres souffrant d'insuffisance rénale chronique, nous avons constaté selon nos résultats obtenus; que l'augmentation des valeurs d'urée, du créatinine et parfois de la glycémie chez ces personnes, due au déficit rénale sous l'influence de plusieurs facteurs héréditaires et alimentaires. la prévalence d'IRC chez les femmes n'était pas significativement différente de celle retrouvée chez les hommes, en sachant que notre population comptait presque le même nombre de femmes que d'hommes. Les capacités du rein à maintenir l'homéostasie du milieu intérieur sont dépassées, et les troubles hydro-électrolytiques et métaboliques deviennent majeurs.

Néanmoins cette étude a démontré théoriquement la relation entre le métabolisme du fer et l'hémoglobine chez ces personnes. L'absence de signes fonctionnels, les déterminants de l'accès aux soins et à la prévention influent sur la réduction de la prévalence de la maladie et peuvent entraîner des complications, parmi l'intervention de l'anémie, maladies cardiovasculaire, et diabète....etc

L'IRC occupe donc une place prépondérante parmi les maladies chroniques et entraîne une charge importante pour les institutions de santé. le dialyse (l'hémodialyse) dans le cas de dernier stade d'insuffisance rénale, aussi la transplantation représentent la solution finale pour sauver la vie du malade.

## Références bibliographiques

1. **Abella Bourgès N., Trumel C., Chabanne L., Diquélou A.,(2005).** Myélogramme et biopsie de moelle osseuse. EMC -Vétérinaire, 2(2): p. 74-95.
2. **Alemayehui G.,Anne R.,(2007).** Réalisé et validé en collaboration avec des professionnels de la santé, Vol .17 n 7:p.2 .026-33.
3. **Andrews G.A., Smith J.E.,(2000).** Iron Metabolism in Feldman B.F., Zinkl J.G., Jain N.C., ed. Schalm's Veterinary Hematology. Lippincott Williams and Wilkins, Fifth Edition, Chap. 22: p. 129-134.
4. **Anonyme.,(2009).** Hémogramme (Indications et Interprétation. Doc.polyc. I.N.R.F. Alger. 16p.
5. **Anonyme., (2006).**Sang systeme. Doc.polyc. I.N.R.F. Alger. 7p.
6. **Athens, J.W., (1993).** The reticuloendothelial (mononuclear phagocyte) system and the spleen. Wintrobe's Clinical Hematology, ed. G.R. Lee, Ed., Philadelphia, PA: Lea & Febiger.
7. **Baker, E., Baker, S.M., and Morgan, E.H., (1998).** Characterisation of non-transferrin-bound iron (ferric citrate) uptake by rat hepatocytes in culture. Biochimie Biophys Acta,1380 (1): 21-30.
8. **Baldwin SL, Powell T., Wonderling RS, Keiser KC, Morales T, Hunter S, et al.,(2003).** Transient and stable transfection of Chinese hamster ovary cells with the recombinant feline erythropoietin gene and expression, purification, and biological activity of feline erythropoietin protein.Am. J. Vet. Res., 64(2): p. 1465-1471.
9. **BarthomeufC., Serre A.F. et Souweine B., (1996).** L'EPO recombinante. Biofiiiur, T55, 16-23.
10. **Beaumont, C., and Canonne-Hergaux, F., (2005).** [Erythrophagocytosis and recycling of heme iron in normal and pathological conditions; regulation by hepcidin]. Transfus Clin Biol12(2):123-30.
11. **Bloomberg RM., Pook H., Jacobs RM., Van Gorder JM., Human., (1992).**recombinant erythropoietin therapy in a cat with chronic renal failure.Can. Vet. J., 33(9): p. 612-613.
12. **Braun J.-P., Cotard J.-P., Delverdier M., ( 2003).**De A à Z : exploration biochimique des affections rénales du chien et du chat. Prat. Méd. Chir. Anim. Cie, 1996. Numéro spécial, supplément au N°4-96: p. 48-49.

13. **Burtis A., Prencipe I., (1999).** Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3<sup>rd</sup> ed AACCC, USA. 689p.
14. **Canaud B., (2005).** Insuffisance rénale aiguë périopératoire : définition, critères diagnostiques et pronostiques. *Ann Fr Anesth Réanim*, 24:125-33.
15. **Car B.D. Feldman B.F., linkl J.G., Jain N.e., ed., (2000) .** Erythropoiesis and Erythrokinetics in Schalm's Veterinary Hematology. lippincott Williams and Wilkins, Fifth Edition, Chap. 18: p. 105-109.
16. **Cheng, Y., Zak, O., Aisen, P., Harrison, S.C., and Walz, T.,(2004).** Structure of the human transferrin receptor-transferrin complex. *Cell*, 116(4): 565-76.
17. **Cianetti, L., Segnalini, P., Calzolari, A., Morsilli, O., Felicetti, F., Ramoni, C., Gabbianelli, M., Testa, U., and Sposi, N.M.,(2005).** Expression of alternative transcripts of ferroportin-1 during humanerythroid differentiation. *Haematologica*. 90(12): 1595-606.
18. **Cowgill L.D., (2003).** Advanced therapeutic approaches for the management of uraemia "the met and unmet needs",*J. Fel. Med. Surg.*, 5(1): p. 57-67.
19. **Dalton C., Sshmidt R.,( 2008).** Diagnosis and Treatment of Anemia of Chronic Kidney Disease in the Primary Care Setting : A Primer for Nurse Practitioners.*The Journal for Nurse Practitioners*, 4(3): p. 194-200.
20. **D'après Pietrangelo A, NEJM, 2004.**
21. **Delaby, C., Pilard, N., Hetet, G., Driss, F., Grandchamp, B., Beaumont, C., and Canonne-Hergaux,F., (2005).**A physiological model to study iron recycling in macrophages. *Exp Cell Res*, 310(1): 43-53.
22. **Dunham S.P.,( 1999).** Cytokines and anti-cytokine therapy: clinical potential for treatment of feline disease.*J. Fel.Med. Surg.*, 1(1): p. 7-14.
23. **Egrie J.,(1990).**The cloning and production of recombinant human erythropoietin. *Pharmacotherapy*, 10, 3S-8S.
24. **Elliott J., B.S.,(2004).** Assessment of renal failure, in Elliott J., Brown S., ed. *Pocket guide to renal disease in the dog and cat*.Nova Professionnal Media, Chap. 2, p. 19-49.
25. **Fagoonee, S., Gburek, J., Hirsch, E., Marro, S., Moestrup, S.K., Laurberg, J.M., Christensen, E.I., Silengo, L., Altruda, F., and Tolosano, E., (2005).** Plasma protein haptoglobin modulates renaliron loading. *Am J Pathol*, 166(4): 973-83.
26. **Fillet, G., Beguin, Y., and Baldelli, L., (1989).** Model of reticulo endothelial iron metabolism in humans: abnormal behavior in idiopathic hemochromatosis and in inflammation. *Blood*, 74(2): p.844-51.

27. **Fisher J.W.,(1997).** Erythropoietin :physiologie and pharmacologie aspects. Proc.Soc. Exp. Biol. Med., 216, 358-369.
28. **Flaharty K.K.,(1990).** Clinical pharmacology of recombinant human erythropoietin. Pharmacotherapy, 10, 9S-14S.
29. **Fleming, M.D., Romano, M.A., Su, M.A., Garrick, L.M., Garrick, M.D., and Andrews, N.C., (1998).**, Nramp2 is mutated in the anemic Belgrade (b) rat: evidence of a role for Nramp2 in endosomal iron transport. Proc Natl Acad Sci U S A, 95(3): 1148-53.
30. **Fossati P ., Prencipe I.,(1982).** Clin. Chem. .28-2077. Cité par Biomaghreb.
31. **Frimat L.,( 2008).**Transfusion en néphrologie .Transfusion Clinique et Biologique. 15: p. 214-216.
32. **Gabbianelli, M., Testa, U., and Sposi, N.M.,( 2005).** Expression of alternative transcripts of ferroportin-1 during human erythroid differentiation. Haematologica, 90(12): 1595-606.
33. **Ganong W.F.,(2001).** La digestion et l'absorption in Ganong W.F., ed. Physiologie Médicale. De Boeck Université, 19ème édition, Chap. 25: p. 447-458.
34. **Gelvan, D., Fibach, E., Meyron-Holtz, E.G., and Konijn, A.M., (1996).** Ferritin uptake by human erythroid precursors is a regulated iron uptake pathway. Blood, 88(8): 3200-7.
35. **Giger U., (1992).** Erythropoietin and its clinical use The Compendium - Small Animal, January. North American Edition. Vol. 14, W1: p. 25-34.
36. **Gilles C., (2012).** EPO et dopage. Annale de l'INA. vol. 24(1-2) : 1-4.
37. **Gobe G.C., Endre Z.H., Johnson D.W., (2007).** Administration of erythropoietin and its derivatives in renal disease: Advantages, mechanisms and concerns. Drug Discovery Today, 4(1).
38. **Guyton A.C., Hall J.E.,(2003).** Cellules sanguines, immunité et coagulation sanguine: Globules rouges, anémie et polyglobulie in Guyton A.C., Hall J.E., ed. Précis de Physiologie Médicale. Piccin, , 2ème édition, Chap. 32: p. 408-417.
39. **Cowgill L.D.,(2003).** Advanced therapeutic approaches for the management of uraemia "the met and unmet needs", J. Fel. Med. Surg., 5(1): p. 57-67.
40. **Harvey J.W.( 1997).** The erythrocyte: physiology, metabolism, and biochemical disorders in Kaneko J.J., Harvey J.W., Bruss M.L., ed. Clinical biochemistry of domestic animals. Academic Press, 5ème édition, Chap. 7: p. 157-169.

41. **Hasler A.H.,(2001).** Anemia of Chronic Renal Disease, in Day M., Mackin A., Littlewood J., ed. Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine.BSAVA, Chap. 5, p. 59-64.
42. **Henry P.A., (1994).** Human recombinant erythropoietin used to treat a cat with anemia caused by chronic renal failure Can. Vet. J., 35.
43. **Hillman R.S.,(2007).** Ault K.A., Rinder H.M. Hématologie en pratique Clinique: guide de diagnostic et de traitement Médecine-Sciences Flammarion,
44. **Hoarau Mélanie., (2011).** Traitements de l'insuffisance rénale . Annale de l'INA. vol. 24(1-2) : 1-24.
45. **Hodges V.M., R.S., Lappin T.R., Maxwell A.P., (2007).** Pathophysiology of anemiaand erythrocytosis.Crit. Rev. Oncol. Hematol., ,64(2): p. 139-158.
46. **Hörl W.H., (2007).** Iron therapy for renal anemia: how much needed, how much harmful? Pediatr.Nephrol., 22(4): p. 480-489.
47. **Hudson J.Q., Comstock T.J., (2001).** Considerations for optimal iron use for anemia due to chronic kidney disease. Clin. Ther., 23(10): p. 1637-1671.
48. **Inman, R.S. and Wessling-Resnick, M.,(1993).**Characterization of transferrin-independent iron transport in K562 cells. Unique properties provide evidence for multiple pathways of iron uptake. J Biol Chem, 268(12): 8521-8.
49. **Jain N.C.,(1993).**Blood loss orhemorrhagic anemias, in Essentials of Veterinary Hematology.Williams and Wilkins, Chap. 9, p. 173-176.
50. **Jain N.C., (1993).** Depression or Hypoproliferative Anemias, in Essentials of Veterinary Hematology, Williams and Wilkins, Chap. 12, p. 210-221
51. **Jelkmann W.,(1992).** Erythropoietin : structure, control of production and function. Physiol. Rev., 72, 449-489.
52. **Jutkowitz L.A., (2008).** Case-based approach to anemia (Proceedings).Vet. med.
53. **Kerl M.E., Langston C.E.,( 2009).**Treatment of Anemia in Renal Failure,in Bonagura J.D., Twedt D.C., ed. Kirk's Current Veterinary Therapy. Philadelphia : Sauderns and Elsevier, Chap 198, p. 914-918.
54. **Knutson, M. and Wessling-Resnick, M.,(2003).**Iron metabolism in the reticuloendothelial system. Crit Rev Biochem Mol Biol38(1): 61-88.
55. **Kwack C., Balakrishnan V.S.,( 2006).**Managing Erythropoietin Hyporesponsiveness. Semin. Dial., 19(2): p. 146-151.
56. **Langston C.E., ReinN.J., Kittrell D., (2003).** The use of erythropoietin.Vet. Clin. North Am. Small Anim Pract., 66(6): p. 1245-1260.

- 57. Langston C.E.,(2008).**Updates in feline chronic kidney disease (Proceedings) - Veterinary Healthcare.Vet. med.
- 58. Larin S.,Lavoie J.-M., Lei L., Morin C., (2002).**Fer et nutrition parentérale: doit-on ajouter un supplément en fer directement dans les sacs de nutrition parentérale?Pharmactuel, 35(1):p. 23-29.
- 59. Lefebvre H.P., Pouchelon J.L.,(2008).** La classification IRIS des maladies rénales chroniques des carnivores domestiques Le Nouveau Praticien Vétérinaire Canine-Féline, W36 : p. 14-16.
- 60. Lee Y.-T., Chiue H.-C., Su H.-M., Yang J.-E., Voon W.-C., Lin T.-H.,et al., (2008).** Lower hemoglobin concentrations and subsequent decline in kidney function in an apparently healthy population aged 60 years and older.Clin. Chim. Acta, 389: p. 25-30.
- 61. Lefebvre H., B.J.-P.,( 2001).** Un rein normal : comment ça marche?Point Vét. Numéro spécial : Urologie et Néphrologie clinique du chien et du chat, 32: p. 10-15.
- 62. Li, H. and Qian, Z.M., (2002).** Transferrin/transferrin receptor-mediated drug delivery. Medicinal Research Reviews, 22(3): 225-250.
- 63. Lim, J.E., Jin, O., Bennett, C., Morgan, K., Wang, F., Trenor, C.C., 3rd, Fleming, M.D., and Andrews, N.C., (2005).**Amutation in Sec15l1 causes anemia in hemoglobin deficit (hbd) mice. Nat Genet, 37(11): 1270-3.
- 64. Macdougall I.C.,(2007).** Anaemia of chronic kidney disease.Medicine, 35(8): p. 457-460.
- 65. Macdougall I.C., Cooper A.C.,(2005).** Hyporesponsiveness to erythropoietic therapy due to chronic inflammation.Eur. J. Clin. Invest ., 35(3): p. 32-35.
- 66. Madore F.,(2003).** Uremia- related metabolic cardiac risk factors in chronic kidney disease.Semin. Dial., 16(2): p. 148-156.
- 67. Malyszko J., Malyszko J.S., Pawlak K., Mysliwiec M., (2006).** Heparin, Iron Status, and Renal Function in Chronic Renal Failure, Kidney Transplantation, and Hemodialysis. Am. J. Hematol., 81: p. 832-837.
- 68. Mamadi N., Beriala A.,(2007).**Aperçu sur quelques techniques d'analyses hématologiques., cholestérol, créatinine et transaminases. Cas de la méthode spectrophotométrique . these de magister. université KASDI MERBAH OUARGLA, 63P.
- 69. Mills J., Anaemia, in Day M., Mackin A., Littlewood J., (2001).** ed. Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine. BSAVA, Chap. 3, p. 29-36.

- 70. Mills J.,(2001).** Anaemia, in Day M., Mackin A., Littlewood J., ed. Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine. BSAVA, Chap. 3, p. 29-36.
- 71. Murray R., (1984).** Creatinine Clin chem. The C.V. Mobsy Co. St Louis. Toronto. 1261-1266 and 478.
- 72. Murray R.K.,( 2006).** Erythrocytes et leucocytes in Murray R.K., Granner D.K., Mayes PA, Rodwell V.W., ed. Biochimie de Harper. De Boeck, 25ème édition, Chap. 60: p. 763-779.
- 73. Nelson R.W., Guillermo Couto C., (2003).** Chronic Kidney disease. Vet. Med.
- 74. Norman J.T., Fine L.G., (2006).** Intrarenal oxygenation in chronic renal failure. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol., 33: p. 989-996.
- 75. Oate K., Scott M., et al., (2010).** Chronic Consumption of a High-Fat/High-Fructose Diet Renders the Liver Incapable of Net Hepatic Glucose Uptake. American Journal of  
of  
76. Physiology. 299(6), E887-898.
- 77. Ohgami, R.S., Campagna, D.R., Greer, E.L., Antiochos, B., McDonald, A., Chen, J., Sharp, J.J., Fujiwara, Y., Barker, J.E., and Fleming, M.D., (2005).** Identification of a ferrireductase required for efficient transferrin-dependent iron uptake in erythroid cells. Nat Genet., 37(11). 1264-1269.
- 78. Park. K.,(2000).** Textbook of Preventive and Social Medicine, 15ème éd. M/s. Banarsidas Bhanot Publishers, Inde.465p.
- 79. Péchereau D.,(1994).** Erythropoïétine : physiologie, perspectives diagnostiques etthérapeutiques Prat. Méd. Chir. Anim. Cie, 29: p. 525-533.
- 80. Péchereau D., Mrtel P., Braun J.P., (1997).** Plasma erythropoietin concentrations in dogs and cats: reference values and changes with anaemia and/or chronic renal failure. Res. Vet. Sci., 62(2): p. 185-188.
- 81. Polzin D.J., Osborne C.A., James K.M., (1997).** Urinary System: Medical management of Chronic Renal Failure in C
- 82. Ponka, P., (1997).** Tissue-specific regulation of iron metabolism and heme synthesis: distinct control mechanisms in erythroid cells. Blood, 89(1): 1-25.
- 83. Poss, K.D. and Tonegawa, S., (1997).** Heme oxygenase 1 is required for mammalian iron reutilization. Proc Natl Acad Sci U S A, 94(20): 10919-24.
- 84. Quigley, J.G., Yang, Z., Worthington, M.T., Phillips, J.D., Sabo, K.M., Sabath, D.E., Berg, C.L., Sassa, S., Wood, B.L., and Abkowitz, J.L.,( 2004).** Identification of a human heme exporter that isessential for erythropoiesis. Cell, 118(6): 757-66.

85. **Raj D.S.C., (2008).** Role of Interleukin-6 in the Anemia of Chronic disease.Semin. Arthritis. Rheum.
86. **Raskin R.E., (2006).**Hématologie, Les anémies, in Schaer M., ed. Médecine clinique du chien et du chat. Paris: Masson, Chap. 6, p. 193-213.
87. **Rieu P.,(2008).**Erythropoïétine : du récepteur aux agents stimulateurs de l'érythropoïèse.Néphrologie et Thérapeutique, 4: p. 17-22.
88. **Sabbari T., Kessler D., Deom A.,(2009).** Fiche technique 25: Centrifugation, Swizerland.
89. **Sébahoun G., (2005).** Hématologie clinique et biologique 2<sup>ème</sup> édition, Arnette.
90. **Senior D.F., (2006).** Appareil urinaire : Insuffisance Rénale Chronique, in Shaer M., ed. Médecine clinique du chien et du chat.Paris : Masson, Chap11,p. 415-422.
91. **Schultz A., Kaplan A.,(1984).** Clin chem. The C.V. Mobsy Co. St Louis. Toronto. 1261-1266 and 478.
92. **Sidani. S., (2011).** L'exploration de l'érythropoïèse *via* le taux sérique des récepteurs solubles de la transferrine (Rs-Tf) chez les sujets anémique. Thèse magister . Université Farhat Abbas-Setif. INA. 129p
93. **Stamatoyannopoulos, G.,( 2005).** Control of globin gene expression during development and erythroid differentiation. Exp Hematol, 33(3): 259-71.
94. **Steph.,(2004).**Excertion (système urinaire) – Licence 2staps – . Annale de l'INA. vol. 24(1-2) : 1-11.
95. **Tabacco A ., Trinder P., (1979).** Cin Chem, 25: 336-337.
96. **Thorp M.L., Johnson E.S., Yang X., Petrik A.F., Platt R., Smith D.H., (2009).** Effect of anaemia on mortality, cardiovascular hospitalizations and end-stage renal disease among patients with chronic kidney disease.Nephrol., 14(2): p. 240-246.
97. **Thorstensen, K., Trinder, D., Zak, O., and Aisen, P., (1995).** Uptake of iron from N-terminal halftransferrin by isolated rat hepatocytes. Evidence of transferrin-receptor-independent iron uptake. Eur J Biochem, 232(1): 129-33.
98. **Trinder P., (1969).** Ann Biochem. 6: 24-33.
99. **Ventré C., RousseauS., Alabanèse J., Leone M., Martin C.,( 2004).** Indications et limites de l'utilisation d'érythropoïétine recombinée en réanimation.Ann. Fr. Anesth. Réanim., 23: p. 714-721.
100. **Weiss G., (2009).** Iron metabolism in the anemia of chronic disease. Biochim. Biophys. Act, 1790(7): p. 682689.
101. **White, R.A., Boydston, L.A., Brookshier, T.R., McNulty, S.G., Nsumu, N.N., Brewer, B.P., (2005).**and Blackmore, K., Iron metabolism mutant hbd mice have a

- deletion inSec1511, which has homology to a yeast gene for vesicle docking. *Genomics*, 86(6): 668-73.
- 102. Wilkins, S.J., Frazer, D.M., Millard, K.N., McLaren, G.D., and Anderson, G.J., (2005).** Iron metabolism in the hemoglobin deficit mouse: correlation of diferric transferrin with hepcidin expression. *Blood*.
- 103. Yang, J., Goetz, D., Li, J.Y., Wang, W., Mori, K., Setlik, D., Du, T., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., Strong, R., and Barasch, J., (2002).** An iron delivery pathway mediated by a lipocalin. *Mol Cell*, 10(5): 1045-56.
- 104. Zermati.Y.,(2004).** Régulation de l'érythropoïèse : applications pathologiques en néphrologie – Licence 2 steps. *Annale de l'INA*. vol. 24(1-2) : 1-22.
- 105. Zhuang H, Pate! SV, He T, Sonsteby SK, Niu Z, Wojchowski DM.,(1994).** Inhibition of erythropoietin- induced mitogenesis by a kinase-deficient form of Jak2. *J Biol Chem*;269 : 21411- 4.



## Résumé

L'insuffisance rénale chronique représente un problème majeur de santé publique. Parmi les nombreuses maladies associées à l'insuffisance rénale chronique, les plus fréquemment rencontrées sont l'hypertension artérielle, le diabète, et les dyslipidémies. L'IRC provoque également de nombreuses complications au niveau de l'organisme telles l'anémie, l'hyperkaliémie, l'acidose métabolique. Notre étude rétrospective, qui a concernée 160 personnes de différent âge (Homes et femmes) malades et saines dans le service de Néphrologie-Dialyse de l'hôpital d'El Oued, a pour objectif d'une part, l'évaluation de la proportion et de la nature des paramètres biochimiques dosés dans un échantillon de patients ont une insuffisance rénale chronique et d'autre part de développer la relation théorique entre le métabolisme du fer et celle de l'hémoglobine chez ces patients insuffisants rénaux. Les résultats obtenus montrent une augmentation du taux d'urée, créatinine et parfois la glycémie, cela est due à la déficience remarquable des fonctions des reins. Le traitement de l'insuffisance rénale chronique terminale est la dialyse rénale (hémodialyse et dialyse péritonéale) ou la transplantation rénale qui sont des moyens de prise en charge lourds et coûteux.

**Mots clés:** insuffisance rénale, anémie, urée, créatinine, fer, hémoglobine.

## ملخص

دراسة تأثير تفاعلات أيض الحديد على الهيموغلوبين عند الأفراد المصابين بالقصور الكلوي في منطقة الوادي

القصور الكلوي المزمن يشكل خطرا هاما للصحة العامة. من بين الامراض العديدة الناجمة عن القصور الكلوي الاكثر شيوعا نجد ارتفاع ضغط الدم، السكري و ارتفاع نسبة الدهون في الدم. يؤدي القصور الكلوي كذلك الى عدة تعقيدات في الجسم مثل الانيميا، ارتفاع نسبة البوتاسيوم في الدم و حموضة الدم. هذه الدراسة الشاملة حول 160 شخص (نساء و رجال) مرضى و أصحاء في مصلحة تصفية الكلى بمختلف الفئات العمرية بمستشفى الوادي بهدف تقدير نوعية التحاليل البيو كيميائية و الدموية و تغيراتها لدى عينة من المرضى المصابين بالقصور الكلوي من جهة و من اخرى تحديد العلاقة النظرية بين الحديد و الهيموغلوبين. النتائج المحصل عليها تبين ارتفاع نسبة اليوريا و الكرياتينين و في بعض الاحيان نسبة السكري في الدم لدى هذه الفئة و هذا يعود الى العجز الملاحظ في الكلى. العلاج الطبي للقصور الكلوي المزمن في طوره الاخير يتمثل في التصفية الاصطناعية او زراعة كلى و التي تعتبر كحلول هامة و جد مكلفة.

**الكلمات المفتاحية :** القصور الكلوي، الانيميا، اليوريا، الكرياتينين، الحديد، الهيموغلوبين.