

**UNIVERSITE DE NANTES  
FACULTE DE PHARMACIE**

---

ANNEE 2006

N° 32

**MEMOIRE  
DU DIPLOME D'ETUDES  
SPECIALISEES DE BIOLOGIE MEDICALE**

**Soutenu devant le Jury interrégional**

**Le 22 juin 2006**

**Par M. Anthony MOUCHERE**

Conformément aux dispositions de l'arrêté

du 23 janvier 2003 tient lieu de

**THESE  
POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**LE RÉCEPTEUR SOLUBLE DE LA TRANSFERRINE :  
INTÉRÊT DANS LE DIAGNOSTIC DE LA CARENCE MARTIALE  
CHEZ LE PATIENT INSUFFISANT RÉNAL CHRONIQUE HÉMODIALYSÉ.**

Président : M. Jean-Marie BARD, Professeur de Biochimie - Pharmacie

Membres : M. Patrick LUSTENBERGER, Professeur de Biochimie - Médecine

Mme Michèle DENIS, Praticien Hospitalier Biochimie

Mme Marie-Geneviève MOUTEL, Praticien Hospitalier Néphrologie

Mme Kalyane BACH-NGOHOU, AHU Biochimie

# Sommaire

<b>LISTE DES ABREVIATIONS .....</b>	<b>5</b>
<b>TABLE DES ILLUSTRATIONS.....</b>	<b>6</b>
<b>I. INTRODUCTION .....</b>	<b>10</b>
<b>A) MÉTABOLISME DU FER .....</b>	<b>10</b>
1. Equilibre et régulation du métabolisme martial .....	10
a. Répartition à l'échelle de l'organisme .....	10
• Compartiment fonctionnel.....	11
• Compartiment de réserve .....	11
• Compartiment de transport.....	12
b. Mouvements du fer : apports et besoins .....	12
• Pertes en fer .....	12
• Apports en fer .....	12
• Mouvements internes .....	13
c. Régulation de l'homéostasie ferrique .....	14
• Régulation de l'absorption du fer .....	14
• Le système IRE-IRP .....	16
• Erythrophagocytose et recyclage du fer héminique .....	17
• L'hepcidine.....	18
2. Perturbations du métabolisme martial.....	20
a. Carences.....	20
b. Surcharges.....	21
c. Déficits fonctionnels .....	21
• Fer et inflammation .....	21
• Fer et érythroïèse accélérée.....	22
<b>B) ERYTHROPOÏÈSE.....</b>	<b>22</b>
1. Généralités .....	23
2. L'érythropoïétine.....	23
a. Structure.....	23
b. Métabolisme.....	23
c. Régulation .....	24
d. Action .....	24
<b>C) LES MARQUEURS BIOLOGIQUES DU MÉTABOLISME MARTIAL ...</b>	<b>25</b>
1. Evaluation du compartiment circulant .....	25
a. Fer sérique .....	25
b. Transferrine.....	26
2. Evaluation du compartiment des réserves .....	27
a. Ferritine sérique .....	27
b. Fer médullaire .....	27

3. Evaluation du compartiment fonctionnel .....	29
a. Paramètres hématologiques .....	29
b. Paramètres biochimiques.....	30
• Zinc protoporphyrine.....	30
• Ferritine érythrocytaire.....	30
4. Nouveaux indices du compartiment fonctionnel .....	30
a. Pourcentage de globules rouges hypochromes .....	31
b. Contenu réticulocytaire en hémoglobine.....	31
<b>D) LE RÉCEPTEUR SOLUBLE DE LA TRANSFERRINE .....</b>	<b>32</b>
1. Le récepteur membranaire de la transferrine (RTf) .....	32
a. Répartition.....	33
b. Structure.....	33
c. Fonction du récepteur .....	34
d. Régulation du RTf .....	34
e. Le récepteur 2 de la transferrine .....	35
2. La forme soluble du RTf (RsTf).....	35
a. Formation, aspect structural.....	35
b. Aspects analytiques .....	36
c. Variations physiologiques.....	37
d. Applications cliniques.....	37
• RsTf et érythropoïèse .....	37
• RsTf et statut martial.....	39
<b>E) LE SUJET IRC HÉMODIALYSÉ .....</b>	<b>40</b>
1. Fonction érythropoïétique .....	40
2. Le statut martial.....	40
a. Carence absolue .....	40
b. Déficit fonctionnel.....	41
3. Recommandations .....	41
a. Agents stimulants de l'érythropoïèse (ASE).....	42
b. La supplémentation martiale .....	44
c. Pratiques du service d'hémodialyse du CHU de Nantes.....	45
4. Résistance à l'érythropoïétine .....	46
<b>II. OBJECTIFS DE L'ETUDE .....</b>	<b>48</b>
A) CONTEXTE CLINIQUE .....	48
B) QUESTIONS POSÉES.....	48
<b>III. MATERIEL ET METHODE.....</b>	<b>49</b>
A) POPULATION ÉTUDIÉE.....	49
B) DÉROULEMENT DE L'ÉTUDE .....	49
C) DOSAGES .....	49

D) ANALYSES STATISTIQUES .....	50
<b>IV. RESULTATS.....</b>	<b>51</b>
A) POPULATION ÉTUDIÉE.....	51
1. Caractéristiques de la population au mois 3 .....	51
2. Evolution des paramètres sur les 5 mois de l'étude.....	52
B) VALIDATION DU RSTf COMME MARQUEUR DU STATUT MARTIAL ET DE L'ACTIVITÉ ÉRYTHROPOÏÉTIQUE .....	54
1. Statut martial .....	54
2. Activité érythropoïétique.....	54
3. Déterminants de la concentration sérique du RsTf.....	55
C) EVALUATION DU RSTf COMME MARQUEUR DE CARENCE MARTIALE .....	55
D) EVALUATION DU RSTf COMME MARQUEUR DE DÉFICIT FONCTIONNEL .....	56
E) INFLUENCE DE L'INFLAMMATION .....	59
1. Influence de l'inflammation dans la population totale .....	59
2. Part de l'inflammation dans le déficit fonctionnel .....	59
F) EVALUATION DU RSTf COMME MARQUEUR DE RÉSISTANCE À L'ÉRYTHROPOÏÉTINE .....	60
<b>V. DISCUSSION ET CONCLUSION .....</b>	<b>63</b>
<b>VI. BILAN ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>73</b>
<b>VII. BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>74</b>
<b>VIII.ANNEXES.....</b>	<b>79</b>

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

ASE : Agent Stimulant de l'Erythropoïèse

BFU-E : Burst Forming Unit-Erythroïd

CFU-E : Colony Forming Unit-Erythroïd

Cp : céruléoplasmine

CRP : protéine C-réactive

CHr : Content Hemoglobin reticulocyte

CST : Coefficient de Saturation de la Transferrine

DMT-1 : Divalent Metal Transporter-1

EPO : érythropoïétine

ESAM : European Survey on Anemia Management

Hb : hémoglobine

HFE : hémochromatose-fer

HLA : Human Leukocyte Antigen

IRC : Insuffisant Rénal Chronique

IRE : Iron Responsive Element

IRE-BP / IRP : Iron Responsive Element Binding Protein / Iron Responsive Protein

kDa : kilo Dalton

Ret-He : reticulocyte hemoglobin equivalent

rHu-EPO : érythropoïétine humaine recombinante

RsTf : récepteur soluble de la transferrine

Tf : transferrine

ZPP : zinc protoporphyrine

# TABLE DES ILLUSTRATIONS

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Distribution du fer dans l'organisme .....	10
Figure 2 : Transport cellulaire du fer au niveau du macrophage.....	14
Figure 3 : Régulation de l'absorption intestinale du fer .....	15
Figure 4 : Mécanismes d'absorption du fer par les entérocytes duodénaux .....	16
Figure 5 : Régulation post-transcriptionnelle du métabolisme martial .....	17
Figure 6 : Régulation et action de l'hepcidine .....	20
Figure 7 : Régulation et action de l'érythropoïétine.....	25
F 33	
Figure 9 : Cycle d'endocytose-recyclage du récepteur de la transferrine. ....	34
Figure 10 : Production du récepteur soluble de la transferrine. ....	36
Figure 11 : Hypoplasies érythroïdes à RsTf bas.....	38
Figure 12 : Hyperplasies érythroïdes à RsTf élevé.....	38
Figure 13 : Anomalies du métabolisme martial et valeurs du RsTf.....	39
Figure 14a et 14b : Corrélations entre concentration sérique du RsTf et, respectivement, CST (14a) et ferritinémie (14b).....	54
Figure 15 : Corrélations entre concentration sérique du RsTf et numération réticulocytaire .....	54
Figure 16 : Comparaison des concentrations sériques du RsTf entre le groupe "carencés en fer" et le groupe "non carencés" .....	55
Figure 17 : Comparaison de la concentration sérique du RsTf entre le groupe "déficit fonctionnel" et le groupe "absence de déficit fonctionnel" .....	56
Figure 18 : Comparaison du rapport RsTf/log ferritine entre le groupe "déficit fonctionnel" et le groupe "absence de déficit fonctionnel" .....	56
Figure 19 : Comparaison du coefficient de saturation de la transferrine entre le groupe "déficit fonctionnel" et le groupe "absence de déficit fonctionnel".....	57
Figure 20 : Comparaison de la ferritinémie entre le groupe "déficit fonctionnel" et le groupe "absence de déficit fonctionnel".....	57
Figure 21 : Corrélations entre Ret-He et CST .....	58
Figure 22 : Corrélations entre Ret-He et concentration sérique du RsTf.....	58
Figure 23 : Corrélations entre RetHe et RsTf/log ferritine .....	58
Figures 24a et 24b : Corrélations entre résistance à l'EPO et, respectivement, concentration sérique du RsTf (24a) et RsTf/log ferritine (24b).....	61
Figures 25a et 25b : Corrélations entre résistance à l'EPO et, respectivement, CST (25a) et Ret-He (25b) .....	61
Figure 26 : Corrélations entre résistance à l'EPO et concentration de CRP.....	62

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Principales variations physiopathologiques des paramètres du bilan martial.....	28
Tableau 2 : Valeurs normales des paramètres du bilan martial.....	28
Tableau 3 : Valeurs normales en hématologie .....	29
Tableau 4 : Caractéristiques biologiques des patients au mois 3.....	51
Tableau 5 : Facteurs influençant de manière indépendante la concentration sérique du RsTf.....	55

Tableau 6 : Facteurs influençant de manière indépendante le Ret-He.....	58
Tableau 7 : Comparaison des paramètres martiaux et érythropoïétiques entre le groupe "CRP $\leq$ 5 mg/l" et le groupe "CRP > 5 mg/l" .....	59
Tableau 8 : Comparaison des taux de CRP entre le groupe "déficit fonctionnel" et le groupe "absence de déficit fonctionnel" .....	60
Tableau 9 : Facteurs influençant de manière indépendante la résistance à l'EPO. Modèle 1.....	62
Tableau 10 : Facteurs influençant de manière indépendante la résistance à l'EPO. Modèle 2.....	62
Tableau 11 : Comparaison du CST, de la ferritinémie et de la numération réticulocytaire entre le groupe "RsTf > 1,76 mg/l" et le groupe "RsTf <1,76 mg/l" parmi la population "CST > 20 %" .....	69

L'anémie est une complication très fréquente de l'insuffisance rénale chronique. Le diagnostic est établi par l'existence d'un taux d'hémoglobine inférieur à 11,5 g/dl chez la femme adulte, 13,5 g/dl chez l'homme adulte et 12 g/dl chez l'homme de plus de 70 ans. Chez les patients insuffisants rénaux, compte tenu du caractère multifactoriel de l'anémie, le traitement se conçoit à plusieurs niveaux :

- correction des carences,
- dialyse adéquate pour les patients en épuration extra-rénale,
- et depuis le début des années 90, supplémentation par érythropoïétine humaine recombinante (rHu-EPO).

L'apport de la rHu-EPO a été spectaculaire par l'amélioration des capacités physiques et intellectuelles des patients, la correction des anomalies cardiaques comme l'hypertrophie ventriculaire gauche et la quasi-disparition des besoins transfusionnels. Cependant, la généralisation de son utilisation a mis à jour des situations de résistance à la rHu-EPO. La cause principale de cette résistance est le déficit en fer, qu'il soit absolu ou fonctionnel. Le déficit fonctionnel est dû à une mobilisation insuffisante du fer à partir des réserves pour une synthèse correcte de l'hémoglobine dans le cadre d'une stimulation par rHu-EPO. Pour corriger l'anémie et ainsi améliorer la qualité de vie des patients, il est donc nécessaire d'être capable de poser le diagnostic de cette carence martiale. L'enjeu est aussi économique. Il faut en effet éviter que cette carence n'entraîne une surconsommation de rHu-EPO.

L'évaluation du statut martial et notamment le dépistage du diagnostic fonctionnel chez les patients insuffisants rénaux reste problématique dans la mesure où les marqueurs traditionnels du fer (ferritine, fer, transferrine) sont souvent pris en défaut. L'intérêt d'adapter étroitement les apports en fer vient aussi de la toxicité du fer libre intraveineux. Les nouvelles recommandations sur le traitement de l'anémie du patient insuffisant rénal chronique incluent de nouveaux paramètres (pourcentage de globules rouges hypochromes, teneur réticulocytaire en hémoglobine) qui ne sont malheureusement pas disponibles dans tous les laboratoires. Certaines études ont déjà évalué un nouveau paramètre du bilan martial, le récepteur soluble de la transferrine. C'est un paramètre qui a la propriété de refléter non pas les réserves en fer mais la concentration intracellulaire en fer, notamment des précurseurs érythroblastiques. Il reflète donc l'apport effectif du fer à la moelle. Il dépend aussi de l'activité érythropoïétique qui est stimulée par la rHu-EPO.

Nous nous sommes intéressés à ce paramètre chez la population d'insuffisants rénaux chroniques hémodialysés suivis dans le service de néphrologie du CHU de Nantes. Nous avons validé son rôle comme marqueur du statut martial et de l'érythropoïèse. Nous l'avons ensuite évalué comme marqueur de carence martiale puis de déficit fonctionnel. Enfin, nous l'avons évalué comme marqueur de résistance à l'érythropoïétine.

# I. INTRODUCTION

## A) Métabolisme du fer

### 1. Equilibre et régulation du métabolisme martial

Le fer joue un rôle essentiel dans de nombreuses fonctions biologiques. De par sa capacité à fixer l'oxygène et à changer d'état d'oxydoréduction, il intervient dans le transport d'oxygène au sein de l'hémoglobine, la synthèse de l'ADN (en tant que coenzyme de la ribonucléotide réductase) et dans l'activité d'oxydoréduction de nombreuses enzymes mitochondriales (Cadet, Gadenne et coll. 2005).

#### a. Répartition à l'échelle de l'organisme

Le stock en fer de l'organisme augmente au cours de l'existence, passant de 300 mg à la naissance (une grossesse à terme demandant 500 mg à la mère pour l'unité foetoplacentaire) pour atteindre 3 à 4 g à l'âge adulte, soit environ 50 mg/kg chez l'homme et 40 mg/kg chez la femme. Même si un stock suffisant est indispensable, le fer doit être correctement distribué entre les différents compartiments de l'organisme (Loreal, Troadec et coll. 2002) (Figure 1).

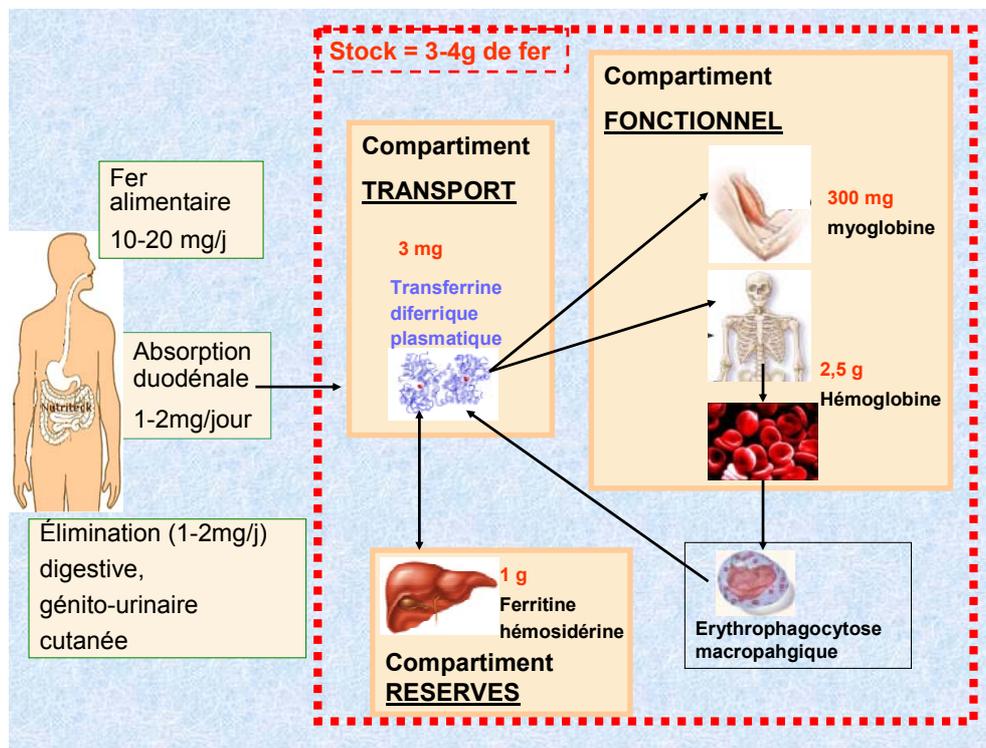


Figure 1 : Distribution du fer dans l'organisme

- Compartiment fonctionnel

Ce compartiment contient les protéines nécessitant la présence de fer, ce sont des protéines hémiques (Figure 1).

#### L'hémoglobine

60 à 70% du fer de l'organisme, soit environ 2,5 g, est incorporé au sein de l'hémoglobine des érythrocytes circulants et des précurseurs médullaires (3,3 mg de fer/g d'hémoglobine). L'hémoglobine est un tétramère constitué de quatre sous-unités identiques deux à deux, chacune étant constituée d'un noyau central d'hème (protoporphyrine de type IX + atome central de fer à l'état ferreux, l'état ferrique oxydé de la méthémoglobine étant impropre au transport d'oxygène). Dans l'oxyhémoglobine Hb(O<sub>2</sub>), l'atome de fer présente six valences, quatre dans la structure de l'hème, une liant l'hème à la chaîne protéique ou globine et la sixième fixant la molécule d'oxygène (Sébahoun 2004).

#### Autres protéines du compartiment fonctionnel

Environ 10% du fer total de l'organisme est contenu dans la myoglobine, protéine de structure hémique constituant des fibres musculaires, dans des enzymes hémiques (cytochrome, catalase...) intervenant dans les réactions d'oxydoréduction ainsi qu'au sein de la ribonucléotide réductase.

- Compartiment de réserve

Dans les conditions physiologiques, le pool de fer de stockage représente environ 1 gramme chez l'adulte, soit 25% du stock total. Ces réserves se situent essentiellement dans les cellules du système monocyttaire-macrophagique et dans les hépatocytes sous forme de ferritine et d'hémosidérine (Figure 1).

#### La ferritine

La ferritine est une hétéroprotéine hydrosoluble dont la partie protéique (apoferritine) est formée par l'assemblage de 24 chaînes légères L (Liver ou Light) et lourdes H (Heart ou Heavy) qui se distinguent par :

- leur pHi,
- leur degré de glycosylation et
- leur vitesse de libération des atomes de fer.

La proportion variable des chaînes H et L détermine une vingtaine d'isoferritines différentes dont un profil correspond à chaque organe, chaque cellule en contenant

plusieurs types. Cette apoferritine constitue une véritable coque protéique qui peut charger jusqu'à 4500 atomes de fer, formant ainsi la molécule de ferritine. Cette forme de réserve (50 % du total, soit 0,5 g) facilement mobilisable est principalement intracellulaire mais le dosage de la forme circulante peu riche en fer reflète l'état des réserves du système réticulo-endothélial (Beguin 2002; Sébahoun 2004).

### L'hémosidérine

Moins bien caractérisée que la ferritine, elle serait une forme de dégradation de celle-ci et constituerait des réserves (50 % du total) moins facilement mobilisables que la ferritine (Sébahoun 2004).

- **Compartiment de transport**

Ce compartiment est quantitativement réduit car il ne représente que 0,1 % du total, soit environ 4 mg, mais il reste primordial. Dans le plasma, il n'y a pas de fer libre en circulation car cette forme est trop toxique, il est presque exclusivement lié à la transferrine (ou sidérophilline) (Figure 1). La transferrine est une glycoprotéine formée de deux chaînes polypeptidiques, chaque molécule pouvant lier deux atomes de fer à l'état ferrique  $Fe^{3+}$ . Elle existe donc sous trois formes, diferrique, monoferrique et apotransferrine.

### **b. Mouvements du fer : apports et besoins**

Le métabolisme du fer se situe, pour la plus grande partie, dans un système fermé avec échanges entre les différents compartiments de l'organisme. Les apports, qui compensent simplement les pertes, représentent une part minime de la masse totale (Figure 1).

- **Pertes en fer**

Les pertes sont faibles. Elles sont liées à la desquamation physiologique de cellules épithéliales intestinales, cutanées et à l'élimination urinaire et représentent en moyenne 1 mg/jour. Elles sont plus élevées chez la femme en période d'activité génitale (surplus de 30 mg par cycle menstruel).

- **Apports en fer**

Les besoins quotidiens couvrant les pertes sont donc faibles mais varient selon l'âge et le sexe : 1 mg pour l'homme, 1,5 à 2 mg chez la femme, 2 mg pendant la

l'adolescence et jusqu'à 2,5 mg pendant la grossesse (Cattan 2004). La quantité de fer apportée quotidiennement par un régime équilibré est de 10 à 20 mg, elle couvre donc largement les besoins en situation physiologique. Il est à noter la biodisponibilité différente entre le fer héminique (viande rouge par exemple) et le fer non héminique (végétaux, œufs). Plus efficace, l'absorption du fer héminique passe par l'endocytose de l'hème puis par la libération du fer sous l'action de l'hème-oxygénase alors que le fer non héminique doit d'abord être extrait des aliments et se retrouve volontiers sous forme de complexes insolubles (Cattan 2004; Sébahoun 2004). Ainsi, le fer héminique représente environ 2/3 du fer absorbé alors qu'il ne constitue qu'1/3 des apports (Beguin 2002).

- **Mouvements internes**

La boucle la plus importante est réalisée par le circuit de l'érythropoïèse. L'incorporation du fer pour la synthèse quotidienne de l'hémoglobine est identique à la quantité libérée par l'hémolyse physiologique, c'est-à-dire 20 à 25 mg/jour (Goodnough, Skikne et coll. 2000; Beaumonte et Canonne-Hergaux 2005). Le macrophage (Figure 2) reconnaît diverses modifications biochimiques au niveau de la membrane des globules rouges sénescents. Il phagocyte alors le globule rouge à éliminer, induisant la formation d'un érythrophagolysosome dans lequel un complexe enzymatique constitué de cytochrome réductase, d'hème-oxygénase et de biliverdine réductase, va cataboliser l'hémoglobine. Ce catabolisme libère du CO, de la bilirubine et du fer. Ce fer recyclé, alors à l'état ferreux  $Fe^{2+}$ , va être soit capté par l'apoferritine intracellulaire pour former de la ferritine (stock de réserve en fer), soit être exporté par la ferroportine vers le plasma où il sera oxydé en fer ferrique  $Fe^{3+}$  par la céruléoplasmine (Cp), une ferroxidase cuivre-dépendante, pour être fixé par la transferrine (Tf) qui le distribue alors aux tissus qui en ont besoin, essentiellement les précurseurs érythroblastiques (Beaumont et Canonne-Hergaux 2005).

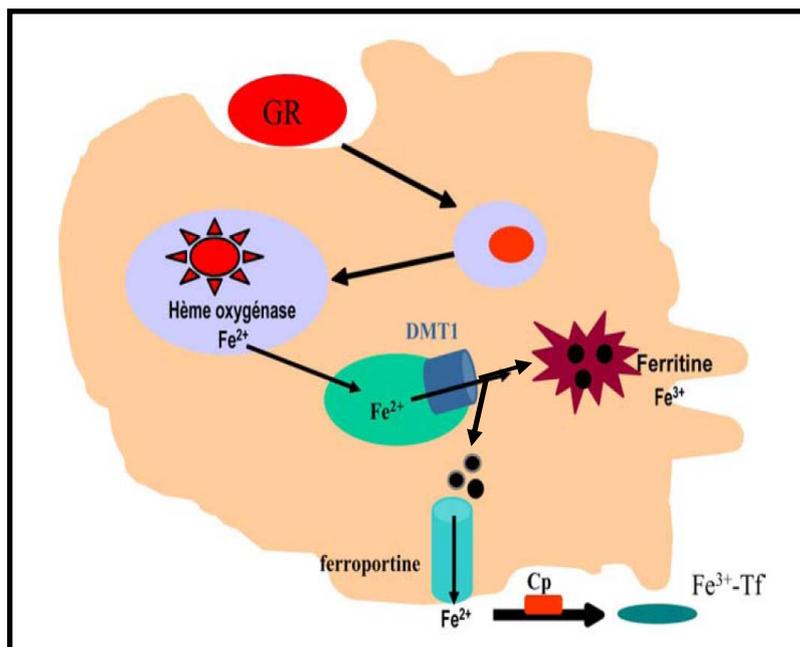


Figure 2 : Transport cellulaire du fer au niveau du macrophage

(Cadet, Gadenne et coll. 2005)

### c. Régulation de l'homéostasie ferrique

Depuis quelques années, la compréhension des mécanismes moléculaires qui contrôlent l'homéostasie du fer a considérablement progressé grâce au clonage et à la caractérisation d'un grand nombre de protéines effectrices impliquées dans le métabolisme du fer. De nombreuses revues récentes font le point sur les connaissances actuelles (Beaumont 2004; Cattán 2004; Andrews 2005; Cadet, Gadenne et coll. 2005).

- Régulation de l'absorption

L'organisme ne possède pas de moyen de contrôle actif d'excrétion du fer, l'absorption est donc une étape capitale dans le maintien d'un stock optimal en fer et est donc soumise à une régulation fine. La régulation de l'absorption occupe donc, malgré les minimes quantités absorbées quotidiennement (0,01 g) en regard du stock (3 à 4 g) une place essentielle dans le maintien de celui-ci (Beaumont 2004). Les entérocytes des villosités du duodénum et de la partie proximale du jéjunum sont responsables de la quasi-totalité de l'absorption du fer hémique et non hémique. Ces entérocytes matures sont issus de la migration de cellules plus indifférenciées situées dans les cryptes duodénales. Un modèle de la régulation de l'absorption intestinale a été proposé (Figure 3), suggérant que les cellules indifférenciées cryptales reçoivent des informations sur le statut en fer de l'organisme, leur

permettant d'exprimer, au cours de leur différenciation et de leur migration le long des villosités intestinales, les protéines nécessaires à l'absorption du fer, à un niveau adapté aux besoins de l'organisme. En effet, les cellules cryptales expriment au pôle baso-latéral, associés à la molécule HFE (protéine apparentée à un molécule HLA de classe I codée par le gène HFE sur le chromosome 6, gène muté en cause dans l'hémochromatose génétique) des récepteurs de la transferrine qui vont capter la transferrine diferrique circulante. L'internalisation du fer dans ces cellules cryptales va donc renseigner sur la quantité de fer circulant et contrôler l'acquisition du système protéique nécessaire à l'absorption (Andrews 2005; Beaumont et Canonne-Hergaux 2005).

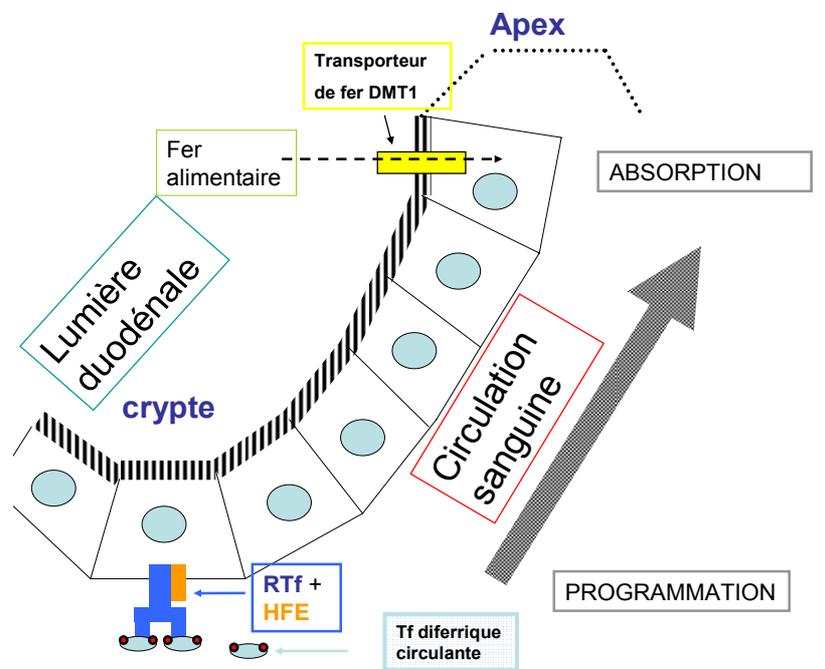
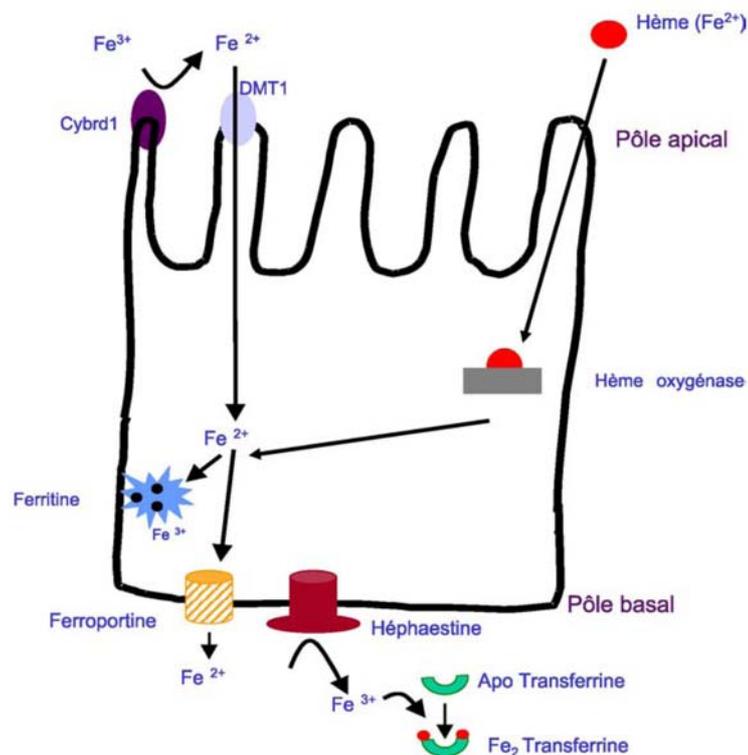


Figure 3 : Régulation de l'absorption intestinale du fer

En effet, pour passer de la lumière intestinale au plasma, le fer doit traverser la membrane apicale, l'entérocyte lui-même puis la membrane baso-latérale (Figure 4) :

- Le fer hémique est endocyté avec la molécule d'hème via un récepteur non encore identifié puis libéré dans l'entérocyte après clivage de la molécule d'hème par l'hème-oxygénase. L'absorption du fer non hémique fait intervenir le transporteur de cation divalent DMT 1 (Divalent Metal Transporter 1) après réduction du fer ferrique de l'alimentation en ion ferreux par une ferriréductase nommée Cybrd1.

- Le transport du fer à l'intérieur de l'entérocyte reste mal connu, le potentiel toxique du fer libre suggère qu'il est complexé à des molécules chaperonnes intracellulaires.
- Le fer peut être incorporé dans la synthèse de ferritine ou d'autres protéines de l'entérocyte, ou dirigé vers le pôle basal de la cellule.
- La libération du fer vers la circulation générale enrôle au moins deux protéines identifiées récemment : la ferroportine (ce pourrait être un des sites d'action de l'hepcidine), la molécule transmembranaire responsable du transport du fer ferreux, et l'héphaestine, ferroxidase oxydant les ions ferreux en ions ferriques, pour qu'ils puissent être pris en charge par l'apotransferrine circulante (Cadet, Gadenne et coll. 2005).



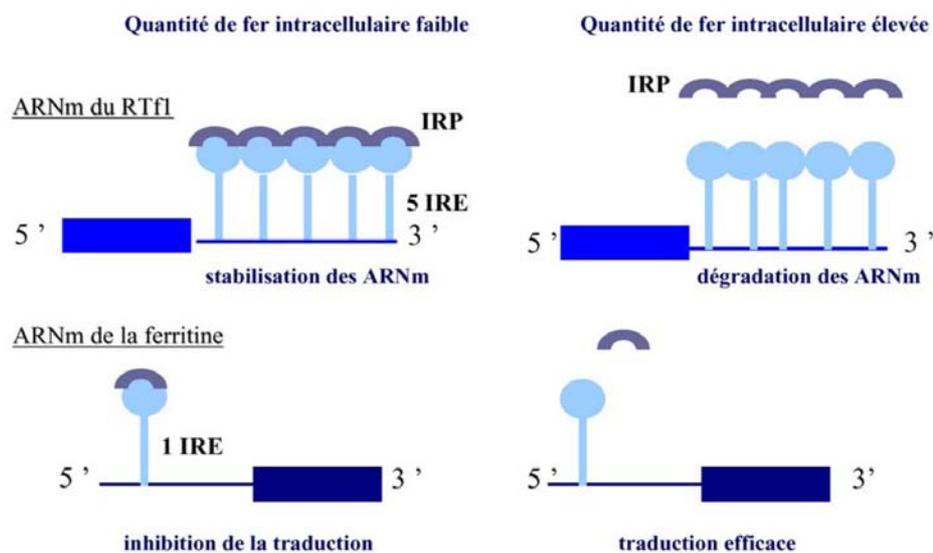
**Figure 4 : Mécanismes d'absorption du fer par les entérocytes duodénaux**  
(Cadet, Gadenne et coll. 2005)

- Le système IRE-IRP

Une étape maintenant relativement connue de la régulation du métabolisme martial est la régulation post-transcriptionnelle des ARNm codant pour la ferritine et le récepteur de la transferrine (Figure 5). Cette régulation fait intervenir des molécules chaperonnes que sont les IRP (*Iron Regulatory Proteins*) qui en cas de concentration

intracellulaire en fer diminuée expriment une affinité plus grande pour les IRE (*Iron Regulatory Elements*), séquences particulières situées sur les extrémités des ARNm codant pour les protéines essentielles au métabolisme du fer. Les ARNm codant pour les chaînes de la ferritine présentent cette séquence dans leur région 5' non traduite alors que les ARNm du récepteur de la transferrine l'expriment à leur extrémité 3' non traduite. L'effet de la liaison aux IRP est alors différent selon la position des IRE :

- La liaison en 3' stabilise et protège de la dégradation les molécules fragiles d'ARNm du récepteur de la transferrine et donc favorise la synthèse de nouveaux récepteurs de transferrine pour augmenter le potentiel de capture de fer extracellulaire en cas de concentration intracellulaire faible.
- La liaison en 5' sur les ARNm de la ferritine va perturber la fixation et l'action des ribosomes et donc diminuer la synthèse de ces molécules de réserve inutiles en cas de carence martiale (Cadet, Gadenne et coll. 2005).



**Figure 5 : Régulation post-transcriptionnelle du métabolisme martial**  
 (Cadet, Gadenne et coll. 2005)

- Erythrophagocytose et recyclage du fer héminique

Le fer qui est continuellement recyclé entre les différents compartiments est au centre d'un perpétuel échange entre deux types cellulaires, les globules rouges et les macrophages tissulaires. Or, la redistribution à la transferrine circulante du fer recyclé à partir des hématies sénescents dégradées à l'intérieur des macrophages

est aussi soumise à certains stimuli qui participent ainsi à la régulation du métabolisme martial. En effet, en pathologie, notamment au cours des anémies des maladies inflammatoires, le macrophage se retrouve au centre d'une perturbation de la redistribution du fer (Beaumont et Canonne-Hergaux 2005).

- L'hepcidine

L'hepcidine apparaît de plus en plus comme étant un acteur primordial du métabolisme du fer et a déjà fait l'objet de nombreux articles et de revues (Beaumont 2003; Ganz 2005; Vyorat et Petrak 2005).

#### Structure et données expérimentales

L'hepcidine est un peptide cationique caractérisé et découvert au départ pour ses propriétés antimicrobiennes. Deux formes d'hepcidine humaine comprenant 20 (hepc-20) et 25 (hepc-25) acides aminés (AA) ont été isolées et dérivent toutes deux d'un même précurseur de 84 AA qui comprend :

- du côté N-terminal une séquence signal de 24 AA,
- une pro-région intermédiaire de 35 AA et
- le peptide mature de 25 AA en C-terminal.

Chez les mammifères, le gène de l'hepcidine s'exprime majoritairement dans le foie et de façon minoritaire au niveau du cœur et du cerveau. Le premier lien entre l'hepcidine et le métabolisme du fer a été établi au cours d'un travail visant à caractériser les gènes dont l'expression était augmentée lors des surcharges en fer. Depuis, grâce à des modèles animaux, on a montré que :

- l'augmentation de production d'hepcidine
  - diminuait l'absorption intestinale du fer et
  - inhibait le relargage du fer à partir du système réticulo-endothélial
- l'absence de production d'hepcidine conduisait à une surcharge en fer par augmentation de son absorption intestinale.

L'hepcidine apparaît donc comme une molécule de régulation négative du fer. Il est maintenant établi que l'hepcidine est une protéine de l'inflammation reflétant probablement le rôle ancestral de ce peptide antimicrobien qui, par diminution de l'absorption et par rétention macrophagique, vise à diminuer le fer libre indispensable aux organismes pathogènes et aux cellules cancéreuses en prolifération importante et augmenter la teneur macrophagique en fer, élément nécessaire à ses fonctions de défense.

### Régulation de la production d'hepcidine

La régulation de l'hepcidine est triple : par le fer, l'oxygène et l'inflammation (Figure 6).

- Régulation par le fer :

L'hepcidine est régulée positivement par une concentration circulante en fer élevée lors d'apports alimentaires en fer excessifs ou de transfusions itératives, les mécanismes moléculaires restant là peu connus (le rôle du récepteur de la transferrine est parfois évoqué) (Vyoral et Petrak 2005). *A contrario*, une baisse de la saturation de la transferrine, signe d'une carence martiale, provoque une diminution de l'hepcidine. Ainsi, dans les hémochromatoses secondaires (transfusions répétées...), l'hepcidine apparaît être secondairement augmentée pour diminuer l'absorption digestive pour lutter contre la surcharge martiale. Dans les hémochromatoses dites primaires ou génétiques, dues à une mutation sur le gène HFE, les taux d'hepcidine ne seraient pas assez élevés en regard de la saturation en fer, un défaut d'hepcidine ferait ainsi peut-être partie du processus physiopathologique de la maladie (Ganz 2005).

- Régulation par l'oxygène :

La majorité du fer de l'organisme sert à la synthèse de l'hémoglobine qui permet l'oxygénation des différents tissus. Dans des situations d'anémie ou d'hypoxie tissulaire, les taux d'hepcidine diminuent, l'absorption intestinale et le relargage macrophagique du fer sont stimulés, favorisant la production de nouveaux globules rouges. Le promoteur du gène de l'hepcidine contiendrait des sites de fixation pour des facteurs de transcription induits par l'hypoxie (Ganz 2005).

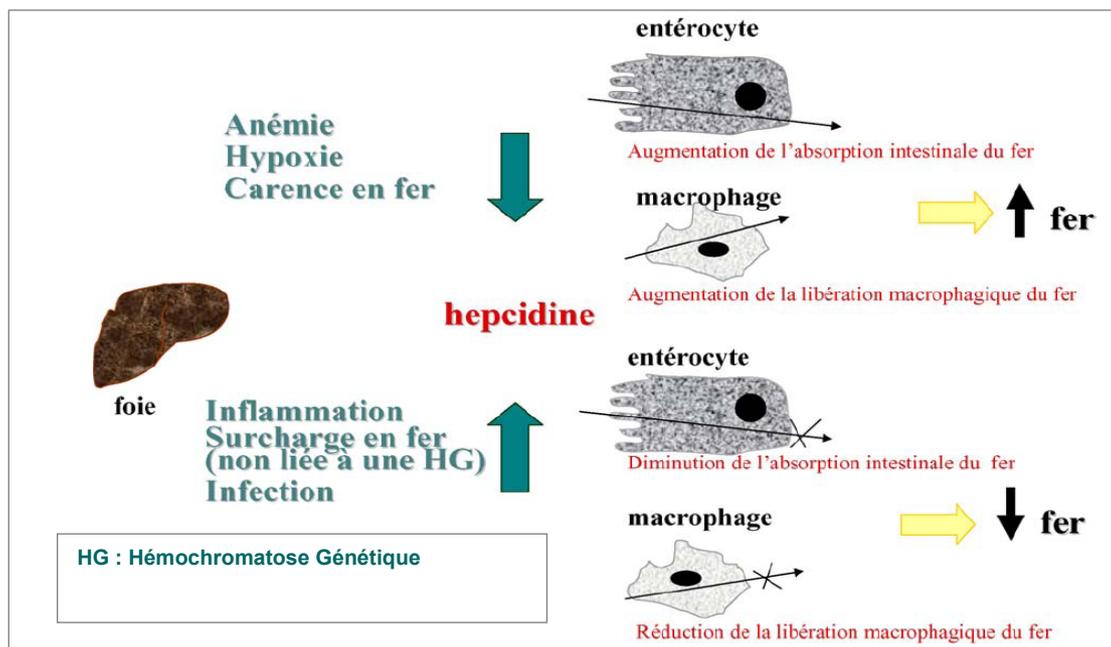
- Régulation par l'inflammation :

Il a été montré que la synthèse d'hepcidine était stimulée par l'inflammation, de cause infectieuse ou non, l'interleukine IL-6 en serait le médiateur (Ganz 2005; Vyoral et Petrak 2005). L'hepcidine serait alors responsable de la baisse du fer circulant, observée lors des anémies dites inflammatoires.

### Action de l'hepcidine

Même si le mode d'action de l'hepcidine reste à caractériser, les données actuelles conduisent à rechercher une interaction avec les protéines effectrices connues du métabolisme du fer (protéine HFE et ses molécules associées - récepteur 1 de la transferrine et bêta-2-microglobuline-, récepteur 2 de la transferrine et ferroportine).

La sortie du fer de la cellule (entérocyte, macrophage, hépatocyte...) vers la circulation sanguine fait appel à la ferroportine ainsi qu'à une enzyme oxydant l'ion ferreux en ion ferrique, nécessaire à sa prise en charge par la transferrine (enzyme différente selon le type cellulaire). De récentes études (Ganz 2005) laissent penser que l'hepcidine se lierait directement à la ferroportine et provoquerait son internalisation et sa dégradation, inhibant donc le passage du fer vers la circulation: le fer reste "emprisonné" dans l'entérocyte ou dans le macrophage, provoquant ainsi une hyposidérémie (Figure 6).



**Figure 6 : Régulation et action de l'hepcidine**

(Cadet, Gadenne et coll. 2005)

## 2. Perturbations du métabolisme martial

### a. Carences

La carence martiale est de loin la pathologie hématologique la plus largement rencontrée en pratique courante. Selon l'OMS, elle concernerait 20% de la population mondiale. La carence martiale peut être d'étiologie variée. Fréquente dans les pays en voie de développement, la carence par apports insuffisants reste rare dans nos sociétés (sauf cas particuliers de régimes très déséquilibrés). Elle reste néanmoins possible chez certaines populations à risque qui ont des besoins augmentés comme les femmes enceintes, les enfants et les adolescents en période

de croissance. En fait, la carence martiale est surtout due à des pertes de fer excessives lors d'hémorragies plus ou moins extériorisées, par exemple au niveau digestif ou gynécologique.

### b. Surcharges

Les surcharges de l'organisme en fer ou hémochromatoses sont définies par le dépassement d'une masse de réserve considérée comme normale (de 10 à 15 mg/kg) et sont classiquement divisées en deux catégories.

Les hémochromatoses primaires sont des maladies héréditaires dans lesquelles une mutation sur un gène codant pour une protéine effectrice du métabolisme du fer provoque un trouble de l'absorption ou de la redistribution du fer. L'exemple le plus représentatif est l'hémochromatose de type 1 causé par une mutation sur le gène de la protéine HFE régulant l'absorption intestinale du fer.

Les formes secondaires sont dues schématiquement à deux grands mécanismes :

- la répétition d'apports transfusionnels (1 mL de GR apportant environ 1 mg de fer) nécessaire dans les situations d'hypoplasie médullaire (aplasies congénitales ou acquises, insuffisances rénales chroniques réfractaires à l'érythropoïétine...), de dysérythropoïèse à moelle riche ( $\beta$ -thalassémies majeures...).
  - l'hyperabsorption digestive secondaire à une érythropoïèse inefficace et accélérée qui nécessite des apports en fer augmentés ( $\beta$ -thalassémies majeures...)
- (Galacteros 2000).

### c. Déficits fonctionnels

En dehors de ce schéma dichotomique de l'état des réserves (carence ou surcharge), il y a tout un ensemble de situations moins faciles à classer. Ce sont les situations où l'organisme n'arrive pas à fournir assez de fer aux tissus, donc essentiellement aux érythroblastes, pour la synthèse de l'hémoglobine malgré des réserves non épuisées (Kaltwasser et Gottschalk 1999; Brugnara 2003).

#### • Fer et inflammation

Au cours d'un syndrome inflammatoire, le métabolisme du fer est perturbé et peut conduire à l'anémie dite inflammatoire ou anémie des maladies chroniques. La physiopathologie de ce type d'anémie est complexe mais on admet maintenant qu'il y a au moins trois mécanismes en cause :

- ◆ une durée de vie des globules rouges diminuée,
- ◆ une érythropoïèse diminuée due à:
  - une sécrétion inappropriée d'érythropoïétine en regard du degré de l'anémie et
  - une action inhibitrice directe des cytokines de l'inflammation (notamment TNF- $\alpha$ , IL-1),
- ◆ une perturbation du métabolisme martial avec une diminution de la redistribution du fer vers la moelle en raison d'une séquestration macrophagique et d'une baisse de l'absorption intestinale du fer (Casadevall 2002). On attribue maintenant ces effets à l'hepcidine.

De plus, au cours du syndrome inflammatoire, la concentration de la ferritine augmente sans lien avec une augmentation des réserves (protéine "positive" de l'inflammation) et le catabolisme de la transferrine est accéléré (protéine "négative" de l'inflammation). Il y a donc une diminution de la biodisponibilité du fer pour les érythroblastes, définissant une carence fonctionnelle contrastant avec une ferritinémie élevée et une transferrine sérique diminuée. Il est donc difficile de mettre en évidence cette carence fonctionnelle avec les marqueurs classiques du bilan martial.

- Fer et érythropoïèse accélérée

Le terme de déficit fonctionnel ("iron-restricted erythropoiesis") a été largement utilisé dans la littérature en néphrologie en référence aux patients insuffisants rénaux chroniques qui reçoivent de l'érythropoïétine. En effet, la stimulation de l'érythropoïèse chez ces patients accroît considérablement les besoins en fer et la mobilisation du fer depuis les réserves peut devenir insuffisante même si les stocks ne sont pas épuisés. Encore une fois, le bilan martial classique se trouve en défaut pour caractériser cette situation (Drueke 2001).

## B) Erythropoïèse

L'érythropoïèse est le processus complexe qui aboutit à la formation de 100 milliards nouveaux globules rouges par jour à partir de cellules souches pluripotentes, cette production devant être constante et surtout adaptée aux besoins en oxygène des tissus (Sébahoun 2004).

## 1. Généralités

L'érythropoïèse se déroule successivement dans deux compartiments médullaires :

- les progéniteurs érythroblastiques, doués d'auto-renouvellement. Ce sont les BFU-E (*Burst forming Unit-Erythroïd*) dont le stade tardif est la première cellule à devenir sensible à l'action de l'érythropoïétine et les CFU-E (*Colony Forming Unit-Erythroïd*) très EPO-dépendantes,

- les précurseurs érythroblastiques morphologiquement reconnaissables sur un myélogramme. Successivement, on décrit le proérythroblaste, l'érythroblaste basophile, l'érythroblaste polychromatophile (où apparaît l'hémoglobine), l'érythroblaste acidophile (dernier stade nucléé) puis le réticulocyte (qui contient des restes d'ARN). Le réticulocyte rejoint la circulation sanguine et devient globule rouge après une maturation de 24 à 48 heures (dégradation des ARN résiduels et diminution de volume cellulaire). Schématiquement, un proérythroblaste subit quatre divisions pour donner de 8 à 32 globules rouges en environ 7 jours (Sébahoun 2004).

## 2. L'érythropoïétine

Bien que d'autres facteurs de croissance agissent en amont (SCF, IL-3, GM-CSF), l'érythropoïétine est le facteur spécifique de la lignée érythroblastique, actif à la fois *in vivo* et *in vitro*.

### a. Structure

L'érythropoïétine est une glycoprotéine de poids moléculaire 30 à 40 kDa. La partie protéique monocaténaire comporte 165 AA (18 kDa). La glycosylation est indispensable à son activité biologique (Royer et Arock 1998). Le gène de l'érythropoïétine a été cloné. Chez l'homme, il est situé sur le chromosome 7 dans la région q21 et code pour une forme immature comportant un peptide signal de 27 AA (Fisher 2003).

### b. Métabolisme

L'érythropoïétine est produite par des cellules spécialisées, les cellules péri-tubulaires du rein. Pendant la vie fœtale et la période néonatale, elle est produite par le foie qui assure encore chez l'adulte 10% de la production en annexe du rein. Il n'existe pas de réserve d'érythropoïétine dans le rein, sa libération exige une synthèse *de novo*.

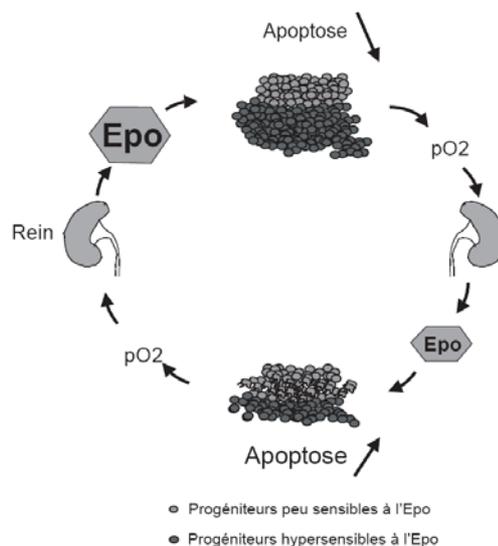
Le niveau de production reste constant par cellule, c'est le nombre total de cellules productrices qui détermine la concentration plasmatique d'hormone. La molécule est retrouvée dans la circulation, les concentrations physiologiques dans le plasma étant comprises entre 5 et 25 UI/L. Son catabolisme est essentiellement hépatique et urinaire (pour 5 à 10%) et sa demi-vie de 5 heures (Royer et Arock 1998).

### c. Régulation

Le taux d'érythropoïétine augmente dans la plupart des anémies en réponse à l'hypoxie rénale induite par la baisse du taux d'hémoglobine au niveau des cellules rénales (Figure 7). Sa concentration peut être multipliée par 1000 en cas de régulation efficace. Les mécanismes moléculaires de cette régulation impliqueraient des facteurs de transcription hypoxie-dépendants (*HIF* pour *Hypoxia Inductible Factors*) (Zermati 2003). Au cours des anémies inflammatoires, il existe une insuffisance relative de production d'EPO par rapport au degré d'anémie, probablement médiée par les cytokines pro-inflammatoires (Casadevall 2002).

### d. Action

Elle agit sur certains progéniteurs érythroïdes, les BFU-E tardifs et les CFU-E. En fait, sa cible cellulaire préférentielle est le CFU-E car c'est la cellule qui présente la densité en récepteurs de l'EPO la plus élevée. Ce récepteur spécifique est une glycoprotéine de poids moléculaire 65 kDa dont la constante d'affinité est de l'ordre du nanomole, l'érythropoïétine étant donc active à de très basses concentrations plasmatiques comme les autres facteurs de croissance. Ce récepteur ne possède pas de partie intracytoplasmique et fait appel pour la transduction du signal de protéines kinases (notamment Jak 2) qui vont activer des facteurs de transcription Stat (en particulier Stat 5) de certains gènes. En particulier, il y a augmentation de l'expression de Bcl-xL qui a une fonction anti-apoptique. L'action de l'érythropoïétine se ferait donc essentiellement par inhibition de l'apoptose des progéniteurs érythroblastiques et non pas sur la prolifération et la différenciation qui s'effectueraient de façon non régulable par l'hormone (Figure 7) (Royer et Arock 1998; Zermati 2003).



**Figure 7 : Régulation et action de l'érythropoïétine**  
(Zermati 2003)

## C) Les marqueurs biologiques du métabolisme martial

Nous avons vu que les échanges de fer s'opèrent entre trois compartiments métaboliques principaux, circulant, de réserves et fonctionnel. A chaque compartiment, correspondent des tests d'exploration spécifiques qui relèvent de la biochimie et de l'hématologie. En biochimie, les marqueurs classiques sont le fer sérique couplé à la transferrine sérique (permettant le calcul du coefficient de saturation en fer de la transferrine), et la ferritine sérique. En hématologie, il s'agit du taux d'hémoglobine et de la numération des érythrocytes et de leurs constantes (CCMH, TCMH, VGM).

### 1. Evaluation du compartiment circulant

Dans le plasma, le fer est lié à la transferrine, son principal transporteur. Ce compartiment est principalement exploré par la mesure du fer sérique, de la transferrine circulante et par le calcul de la capacité totale de fixation du fer par la transferrine et du coefficient de saturation en fer de la transferrine.

#### a. Fer sérique

Son dosage isolé n'a aucun intérêt, il ne se justifie que couplé à celui de la transferrine afin de calculer la saturation en fer de celle-ci. A l'état physiologique, le fer sérique se définit comme le fer non héminique, lié à la transferrine (la ferritine

circulante à l'état physiologique est très pauvre en fer). En raison des variations nyctémérales, le maximum se situant le matin, il convient de standardiser l'heure de prélèvement, comme le matin à jeun. Ces variations sont néanmoins considérablement amoindries en cas de franche hypo- ou hypersidérémie. Le fer est un élément trace dont le dosage doit être adapté à ses faibles concentrations et exempt de la moindre contamination. Les méthodes recommandées font appel à un chromogène qui, après déprotéinisation et réduction du  $\text{Fe}^{3+}$  en  $\text{Fe}^{2+}$  va former un complexe coloré avec le fer à l'état ferreux (Worwood 1997; Vernet 2000; Vernet, Corberet et coll. 2001). Les principales causes de variation du fer sérique sont résumées dans le tableau 1 et les valeurs normales dans le tableau 2.

Il est à noter qu'il existe une augmentation artificielle de la sidérémie après administration orale ou parentérale de spécialités contenant du fer, il est donc recommandé pour le suivi de patients recevant une supplémentation en fer de réaliser une fenêtre thérapeutique d'au moins 8 jours avant le dosage.

## b. Transferrine

La transferrine est une glycoprotéine remarquable pour son affinité pour les ions  $\text{Fe}^{3+}$ . Son dosage est réalisé par méthode immunochimique (turbidimétrie, néphélométrie, immunoenzymatique, radioimmunologie...) et grâce à l'existence d'un standard international (CRM 470) les résultats sont comparables d'une technique à l'autre. La capacité totale de fixation du fer par la transferrine (CTF) est calculée à partir de la concentration sérique de la transferrine. Chaque molécule de transferrine possède deux sites de fixation pour le fer, connaissant la masse moléculaire (80 kDa) et la concentration C (en g/l) de la transferrine, la CTF (en  $\mu\text{mol/l}$ ) s'écrit:

$$\text{CTF} = (\text{concentration de Tf en } \mu\text{mol/l}) \times 2$$

$$\text{Soit } \text{CTF} = (C \text{ (g/l)} / 80\,000) \times 2 \times 10^6$$

$$\text{Soit } \text{CTF} = C \text{ (g/l)} \times 25$$

Le coefficient de saturation de la transferrine (CST) s'obtient en divisant le fer sérique par la capacité totale de fixation:

$$\text{CST} = \text{Fer sérique } (\mu\text{mol/l}) / \text{CTF (en } \mu\text{mol/l)}$$

A l'état physiologique, la transferrine est saturée en moyenne à 30%. Dans les surcharges ou les cytolyses massives, le fer sérique peut être supérieur à la capacité totale de fixation (il y a donc du fer libre non lié à la transferrine), le CST est alors rendu au plus à 1 (Worwood 1997; Vernet 2000; Vernet, Corberand et coll. 2001).

Les principales causes de variation de la concentration sérique de la transferrine sont résumées dans le tableau 1 et les valeurs normales dans le tableau 2.

## 2. Evaluation du compartiment des réserves

Ce compartiment contient le fer séquestré sous forme non toxique, ferritine et hémosidérine, dont le rôle est de pourvoir aux besoins du compartiment fonctionnel lorsque ceux-ci sont supérieurs au fer absorbé. Seule la ferritine est accessible au dosage.

### a. Ferritine sérique

A l'état physiologique (hors épisode de lyse tissulaire), la ferritine circulante est pauvre en fer alors que la ferritine des réserves (le foie, rate et moelle osseuse) est riche en fer. Le dosage fait appel à des techniques immunochimiques (immunoenzymatique, immunonéphélométrie...). Malgré l'existence de standards internationaux (NIBSC 80/578 (purifié) et 94/572 (recombinant)), des écarts sont parfois observés entre les différents systèmes analytiques et sont dus à la variabilité de reconnaissance immunologique des réactifs (surtout dans les cas d'hyperferritinémie car les ferritines des différents tissus n'ont pas la même composition) (Worwood 1997; Vernet 2000; Vernet, Corberand et coll. 2001). Les principales causes de variation de la ferritinémie sont résumées dans le tableau 1 et les valeurs normales dans le tableau 2.

### b. Fer médullaire

Le gold standard pour l'étude des réserves en fer de l'organisme reste la coloration de Perls au bleu de Prusse sur ponction de moelle osseuse qui met en évidence l'hémosidérine contenue par les érythroblastes et permet de voir également le fer macrophagique (Vernet 2000). Cependant, cette technique de référence demande un prélèvement invasif et sa lecture est sujette à une grande variabilité interindividuelle. De plus, elle perd sa valeur après administration parentérale de fer (Beutler, Hoffbrand et coll. 2003).

	Diminution		Augmentation	
	Métabolisme du fer	Autres pathologies	Métabolisme du fer	Autres pathologies
<b>Fer sérique</b>	Carence martiale	Syndromes inflammatoires (infections, cancers...), IRC, état de choc	Surcharges en fer primitives et secondaires	Cytolyse hépatique (hépatites, cirrhoses...), hémolyses, syndromes myelodysplasiques
<b>Transferrine</b>	Surcharges en fer primitives et secondaires	Syndromes inflammatoires, insuffisance hépatocellulaire, néphropathies, malnutrition	Carence martiale	Imprégnation oestrogénique (grossesse, contraception orale)
<b>Coefficient de saturation de la transferrine</b>	Carence martiale	Grossesse, syndromes inflammatoires (inconstant)	Surcharges en fer primitives et secondaires	Anémies hypersidérémiques
<b>Ferritine</b>	Déletion des réserves		Surcharges en fer primitives et secondaires	Syndromes inflammatoires (infections, cancers...), hépatopathies, myolyse, hémolyse, lyse tumorale, hyperthyroïdies, syndrome d'activation macrophagique, maladie de Still

**Tableau 1 : Principales variations physiopathologiques des paramètres du bilan martial.**

D'après (Vernet, Corberand et coll. 2001)

	Homme	Femme	Nouveau-né	Enfant
<b>Fer sérique (µmol/l)</b>	10-30	9-29	16-36	11-23
<b>Ferritine (µg/l)</b>	20-250	15-150	50-600	15-100
<b>Transferrine (g/l)</b>	2-3,2		1,6-2,8	2-4
<b>Coefficient de saturation de la transferrine</b>	0,20-0,40 (20-40%)	0,15-0,35 (25-35%)	0,55-0,65	0,10-0,30

**Tableau 2 : Valeurs normales des paramètres du bilan martial**

D'après (Vernet, Corberand et coll. 2001)

### 3. Evaluation du compartiment fonctionnel

#### a. Paramètres hématologiques

Le compartiment fonctionnel correspond au fer impliqué dans le métabolisme cellulaire. La grande majorité est contenue dans l'hémoglobine. Le taux d'hémoglobine mesuré par colorimétrie permet de définir l'anémie. Les autres paramètres calculés sont la numération des érythrocytes et le volume globulaire moyen (VGM). Ces derniers sont aussi utiles pour le calcul de l'hématocrite (Ht) et des indices érythrocytaires (TCMH, teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine, et CCMH, concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine).

$$\text{Hématocrite (\%)} = (\text{GR } 10^6/\mu\text{l}) \times \text{VGM (fl)}$$

$$\text{TCMH (pg)} = (\text{Hb g/dl}) / (\text{GR } 10^6/\mu\text{l}) \times 10$$

$$\text{CCMH (\%)} = (\text{Hb g/dl}) / (\text{hématocrite \%}) \times 100$$

La diminution de la TCMH en dessous de 27 pg est le premier signe d'érythropoïèse carencée en fer après l'épuisement des réserves marqué par l'hypoferritinémie. Elle précède la diminution du volume globulaire moyen (VGM) en dessous de 85 fl. Si la carence reste méconnue et non traitée, se développe l'anémie hypochrome microcytaire hyposidérémique (Vernet, Corberand et coll. 2001). Les valeurs normales des différents paramètres hématologiques cités ci-dessus sont regroupées dans le tableau 3.

	Homme	Femme
<b>Hémoglobine (g/dl)</b>	13-17	12-15
<b>Numération érythrocytaire (<math>10^{12}/\text{l}</math> ou <math>10^6/\mu\text{l}</math>)</b>	4,5-5,7	4,2-5,2
<b>Hématocrite (%)</b>	42-54	37-47
<b>VGM (fl)</b>	80-100	
<b>TCMH (pg)</b>	27-32	
<b>CCMH (%)</b>	32-35	

Tableau 3 : Valeurs normales en hématologie

## b. Paramètres biochimiques

- Zinc protoporphyrine

La zinc protoporphyrine (ZPP) est un produit du métabolisme de l'hémoglobine. En effet, la dernière étape de la synthèse comprend l'incorporation du fer dans un cycle protoporphyrine pour constituer la molécule d'hème. En cas de carence en fer, ce sont des atomes de zinc qui sont incorporés à la place du fer, formant ainsi de la ZPP. De bonnes corrélations ont été trouvées avec la ferritine mais pas avec les résultats de coloration de Perls sur frottis médullaires, la mesure de la ZPP reste donc un paramètre controversé (Hudson et Comstock 2001).

- Ferritine érythrocytaire

La ferritine érythrocytaire est un résidu de la ferritine érythroblastique et reflète l'équilibre entre les entrées et les sorties de fer au niveau de la moelle érythropoïétique. Toute augmentation des entrées non justifiée par des besoins accrus (hémochromatose) a pour conséquence une augmentation de la concentration érythroblastique (et donc érythrocytaire) de ferritine. En revanche, toute carence d'apport en fer au niveau tissulaire ou toute utilisation accélérée (anémie hémolytique très régénérative) se traduit par des valeurs abaissées. Son intérêt réside dans son absence de variation en cas de syndrome inflammatoire. Elle présente aussi un certain intérêt dans le diagnostic étiologique de l'hémochromatose car elle est beaucoup plus élevée dans les formes primitives que dans les formes secondaires. Cependant, son dosage demande de nombreuses étapes de préparation et n'est pas automatisable. Il n'est donc réalisé que dans de rares laboratoires spécialisés (Wagner 2000).

## 4. Nouveaux indices du compartiment fonctionnel

Une ferritinémie effondrée est un critère très spécifique de carence martiale. Cependant, une ferritinémie non abaissée n'exclut pas un état de carence car elle est sensible à de nombreux facteurs autres que les réserves en fer (notamment l'inflammation). La transferrine est également soumise à de nombreuses variations physiopathologiques. De nombreux autres paramètres sont donc candidats à une évaluation plus spécifique de la carence martiale. Ces paramètres mettent en

évidence, non pas une diminution du stock en fer de l'organisme, mais une baisse de la disponibilité du fer pour les tissus utilisateurs.

#### a. Pourcentage de globules rouges hypochromes

De nouveaux modules utilisant la technologie de cytométrie en flux (Technicon H, Bayer®) permettent d'évaluer le pourcentage de globules rouges circulants dont la teneur en hémoglobine est faible (CCMH < 28 g/dl). Ce paramètre est plus sensible que la TCMH qui ne s'abaisse que lorsque l'hypochromie concerne un grand nombre de cellules. Des études ont montré qu'un pourcentage supérieur à 10% était bien corrélé à la carence martiale (Hudson et Comstock 2001).

#### b. Contenu réticulocytaire en hémoglobine

La durée de vie d'un globule rouge étant d'environ 120 jours, chaque jour, moins de 1% des GR sont renouvelés. Une telle stabilité limite de manière certaine la sensibilité des indices érythrocytaires. En revanche, les réticulocytes qui ont une durée de vie de 24 à 48 heures avant la maturation en érythrocyte, sont un reflet beaucoup plus instantané de l'érythropoïèse. La mesure du nombre de réticulocytes permet ainsi de classer les anémies. Un taux de réticulocytes supérieur à  $10^5/\mu\text{l}$  objective une réponse médullaire à la baisse de l'hémoglobine et permet de classer l'anémie comme régénérative. De nouveaux modules analytiques (utilisant la technologie de cytométrie en flux) sur les automates d'hématologie vont plus loin et permettent de caractériser ces réticulocytes. On peut ainsi, grâce au fluorochrome marquant l'ARN, individualiser cette population, puis l'étude de la diffraction de la lumière permet d'évaluer leur contenu (essentiellement en hémoglobine). Les automates Technicon H et Advia systems de Bayer diagnostics® calculent le paramètre CHr (*Content Hemoglobin reticulocyte*) ou contenu réticulocytaire en hémoglobine (en pg). C'est un indice instantané de la biodisponibilité médullaire en fer qui évalue donc spécifiquement le compartiment fonctionnel (Brugnara 1998). Un module plus récent ajouté sur l'automate SYSMEX XE-200 (Sysmex® corporation) analyse aussi la diffraction de la lumière par les réticulocytes et donne un paramètre en unités arbitraires RET-Y. Une très bonne corrélation a été retrouvée entre les mesures du CHr et du RET-Y, montrant que ces paramètres évaluent la même chose. De plus, en appliquant une formule mathématique, on transforme les mesures de RET-Y (en unités arbitraires) en "Reticulocyte Hemoglobin equivalent" (Ret-He)

de mêmes unités que le CHr (en pg) ( $\text{Ret-He} = 5.5569e^{0.001\text{RET-Y}}$ ) (Franck, Linssen et coll. 2004). Thomas et coll. dans leur évaluation des paramètres biologiques dans le diagnostic de la carence martiale ont défini le seuil décisionnel du CHr à 28 pg pour définir le déficit fonctionnel (Thomas et Thomas 2002). De nombreuses autres équipes ont montré que le contenu en hémoglobine des réticulocytes était un bon indicateur de déficit fonctionnel en fer. Mast et coll. en 2002 ont comparé les valeurs du CHr et les résultats de coloration de Perls et ont mis en évidence une corrélation positive et significative entre CHr et réserves en fer (Mast, Blinder et coll. 2002). Ce marqueur a été aussi beaucoup étudié chez les patients hémodialysés. Ainsi, l'administration de fer chez des patients qui présentent un CHr diminué isolément (ferritine et transferrine associées normales) provoque une remontée de l'hématocrite et du CHr, démontrant la présence d'un déficit fonctionnel en fer pour lequel la ferritinémie et la saturation de la transferrine manquent de sensibilité (Tsuchiya, Okano et coll. 2003). De même, Fishbane et coll. ont suivi une population d'hémodialysés après l'administration intraveineuse de fer et ont mis en évidence chez les patients déficitaires en fer une élévation précoce du Chr, témoin d'une reprise de l'érythropoïèse dans de bonnes conditions (Fishbane, Galgano et coll. 1997). Le contenu réticulocytaire en hémoglobine est ainsi entré dans les nouvelles recommandations européennes pour le dépistage et le suivi de la carence fonctionnelle des patients insuffisants rénaux chroniques (Locatelli 2004).

## D) Le récepteur soluble de la transferrine

Il a été mis en évidence dès 1986 par Kohgo qui avait mis au point un dosage radioimmunologique du RsTf sérique et montré que la concentration était influencée par le statut martial et le niveau de l'érythropoïèse (Kohgo, Nishisato et coll. 1986; Kohgo, Niitsu et coll. 1987). Depuis, de nombreuses études ont été réalisées pour mieux caractériser ce nouveau paramètre (Giraudet 1999; Vernet 1999; Beguin 2001; Gaillard, Fontan et coll. 2001; Beguin 2003).

### 1. Le récepteur membranaire de la transferrine (RTf)

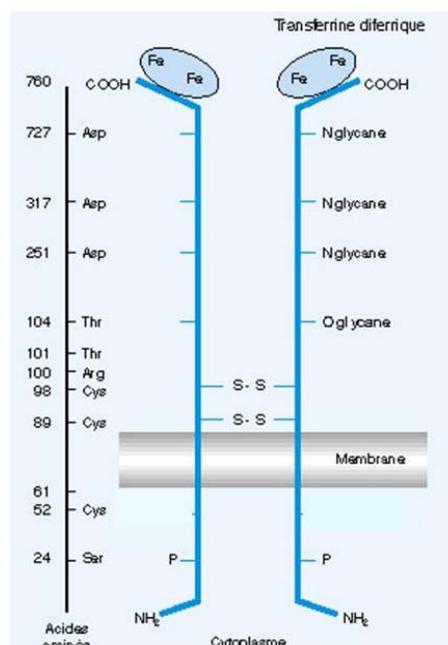
Il existe deux types de récepteur à la transferrine, le RTf1 et le RTf2. Le RTf1 est le plus étudié, c'est ce dernier qui sera développé dans les chapitres suivants.

## a. Répartition

Le récepteur membranaire de la transferrine est une protéine ubiquitaire présente sur toutes les cellules de l'organisme à l'exception des érythrocytes matures. Sa densité à la surface de la cellule est fonction de son besoin en fer. Les précurseurs érythroblastiques portent donc 2/3 à 4/5 de ces récepteurs. La densité varie au cours de la maturation médullaire, passant par un maximum au stade érythroblaste (800000 récepteurs par cellule) pour atteindre le minimum au stade réticulocyte, cette variation étant liée à la synthèse d'hémoglobine. Le placenta, les tissus néoplasiques présentent aussi une grande densité en RTf1 (Vernet 1999).

## b. Structure

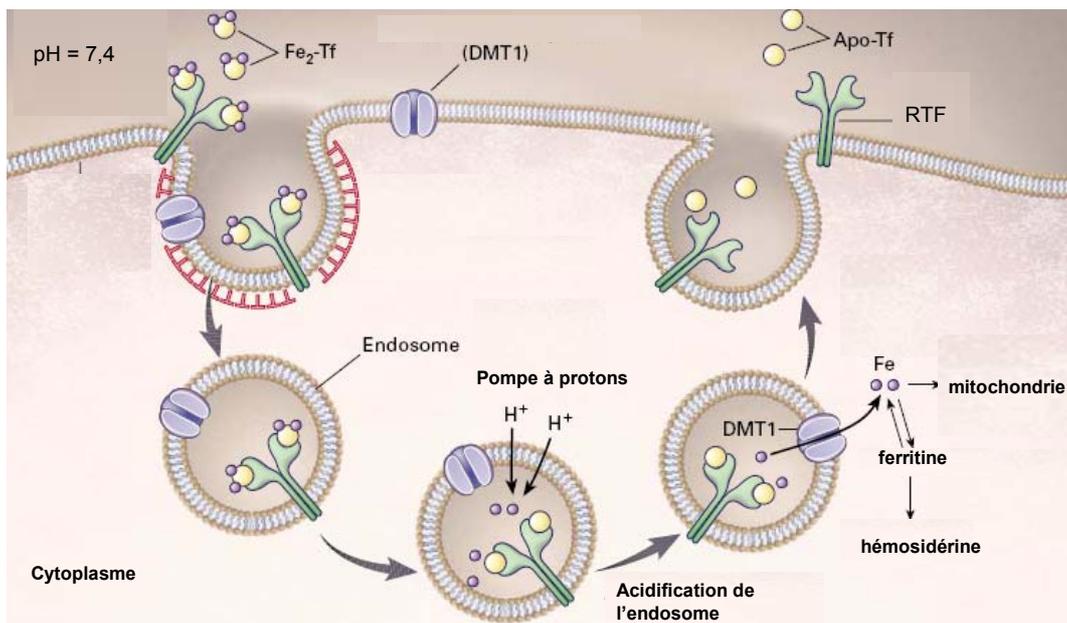
Le récepteur de la transferrine est une glycoprotéine de 760 AA, de masse moléculaire 190 kDa, formé de deux monomères reliés par deux ponts disulfures en position 89 et 98 (Figure 8). Il contient trois domaines : N-terminal cytoplasmique, transmembranaire et C-terminal extracellulaire. Le domaine intracytoplasmique possède un site de phosphorylation par des protéines kinases nécessaire à la transduction du signal. Le domaine transmembranaire qui sert à l'ancrage du récepteur est composé principalement d'acides aminés hydrophobes. La partie extracellulaire contient deux sites de fixation pour la transferrine (Beguin 2003).



**Figure 8 : Structure du récepteur de la transferrine**  
(Vernet 1999)

### c. Fonction du récepteur

Son rôle est de capter la transferrine circulante pour l'internaliser et en récupérer les atomes de fer. Au pH plasmatique physiologique (pH=7,4), l'affinité du récepteur est maximale pour la transferrine diférique. Elle est 30 à 500 fois plus élevée que pour la transferrine monoférique et l'apotransferrine, respectivement. Il en résulte que l'apport en fer aux cellules s'effectue principalement par la transferrine diférique dont la concentration circulante est suffisante pour saturer tous les RTf. Le mode d'internalisation du fer lié à la transferrine par le RTf recycle le complexe [transferrine-RTf] (Figure 9). Après liaison de la transferrine diférique à son récepteur spécifique à la surface cellulaire, le complexe [Transferrine-RTf] est internalisé par endocytose. Les vésicules d'endocytose (endosomes) subissent alors une acidification progressive ATPase-dépendante. La libération du fer lié à la transferrine s'effectue à un pH d'environ 5,5. Le fer est ainsi libéré pour être utilisé par la cellule ou y être stocké (Andrews 2000)



**Figure 9 : Cycle d'endocytose-recyclage du récepteur de la transferrine.**

D'après (Andrews 2000)

### d. Régulation du RTf

Le premier niveau de régulation est la régulation post-transcriptionnelle de la synthèse des récepteurs qui s'effectue dans tous les tissus. Elle s'effectue via le système IRP-IRE précédemment expliqué qui régule de manière conjointe les

synthèses de RTf et de ferritine (Figure 5 : Régulation post-transcriptionnelle du métabolisme martial). Ainsi, pour chacun des tissus, la stimulation de la synthèse des RTf est directement liée à une diminution de la concentration intracellulaire en fer de ce tissu. Le deuxième niveau (en importance mais le premier chronologiquement) intervenant spécifiquement dans la moelle osseuse est une régulation transcriptionnelle. Toutes les situations impliquant une érythropoïèse accélérée coïncident avec une élévation importante des ARNm des récepteurs.

La densité en RTf par cellule (notamment les érythroblastes) dépend du contenu intracellulaire en fer. Par ailleurs, la quantité d'érythroblastes dépend de l'activité érythropoïétique. La quantité totale de l'organisme en RTf dépend donc à la fois de la biodisponibilité médullaire du fer et de l'activité érythropoïétique (Giraudet 1999; Ponka et Lok 1999).

#### e. Le récepteur 2 de la transferrine

Il a été décrit récemment un deuxième type de récepteur membranaire de la transferrine: le récepteur 2 de la transferrine (RTf2). Son affinité pour la transferrine est 25 fois plus faible que le RTf1. De plus, contrairement au récepteur 1 de répartition ubiquitaire, celui-ci est exprimé principalement dans le foie et les entérocytes duodénaux, c'est-à-dire les tissus participant à la régulation de l'homéostasie martiale. Ces données suggèrent que la capture du fer pour la cellule elle-même n'est pas sa fonction principale et qu'il aurait plutôt un rôle régulateur. Cette hypothèse est confortée par la mise en évidence de mutations sur le gène codant pour ce récepteur chez des patients présentant un phénotype d'hémochromatose (Cadet, Gadenne et coll. 2005).

## 2. La forme soluble du RTf (RsTf)

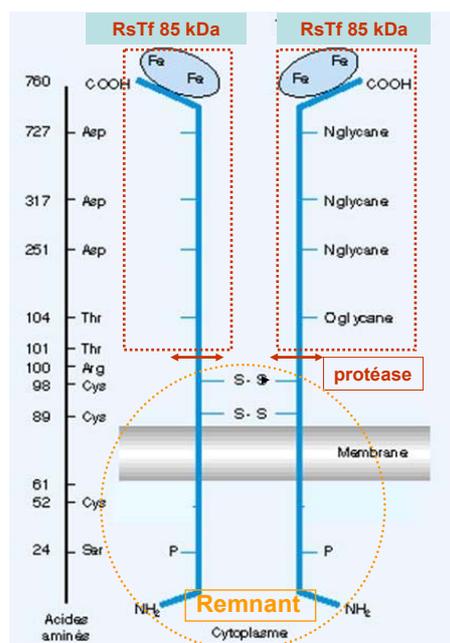
### a. Formation, aspect structural

Une forme soluble et circulante du RTf1, le RsTf, a été observée chez l'homme et chez l'animal. En effet, une partie des vésicules d'endocytose ne suit pas la voie principale de recyclage du complexe [Tf-RTf] mais se transforme en endolysosomes, aboutissant à la dégradation de l'apotransferrine et du récepteur membranaire de la transferrine puis à la sécrétion de sa forme soluble. Ces deux flux se réalisent dans un rapport quasi-constant, de sorte que la concentration sérique du RsTf est

directement proportionnelle à la quantité de récepteurs membranaires (Giraudet 1999; Beguin 2003). Le RsTf du sérum est un monomère tronqué du RTf cellulaire ayant perdu ses 100 premiers acides aminés (Figure 10). Il circule sous la forme d'un complexe associé à la transferrine. Cette forme tronquée provient de la protéolyse par une protéase entre les résidus Arg et Leu respectivement en position 100 et 101, dans la région extracellulaire qui génère :

- deux fragments peptidiques désolidarisés de 85 kDa, les RsTf et
- un remnant contenant les deux domaines, transmembranaire et cytoplasmique.

Ces remnants n'interfèrent pas avec le dosage du RsTf car les immuns sérums utilisés ne reconnaissent pas les séquences peptidiques résiduelles cytoplasmiques ou transmembranaires.



**Figure 10 : Production du récepteur soluble de la transferrine.**

D'après (Vernet 1999)

## b. Aspects analytiques

Depuis l'article princeps de Kohgo en 1986, de nombreuses techniques de dosage ont été proposées. Les méthodes de dosage actuelles varient entre elles par :

- la nature des anticorps (monoclonal, polyclonal),

- la nature du standard car il n'existe pas pour l'heure de standard international,
- Le type de marquage : isotope radioactif, enzyme (phosphatase alcaline, peroxydase),
- Le type de signal mesuré et
- La nature du chromogène pour les techniques photométriques.

### c. Variations physiologiques

Chez le nouveau-né, la concentration est au moins deux fois plus importante que chez l'adulte, en rapport avec une activité érythroblastique très importante. Contrairement à la ferritine, il n'existe pas de différence liée au sexe, ni à l'activité génitale pour les femmes. La variation intra-individuelle au cours du temps a été étudiée et elle apparaît très nettement inférieure à celle de la ferritine, du fer et du CST. Contrairement aux marqueurs traditionnels du fer (ferritine, transferrine) le RsTf n'est pas influencé par l'inflammation (Beguin 2003).

### d. Applications cliniques

Le dosage du RsTf appartient à la nomenclature des actes de biologie médicale depuis janvier 2004 (B60). Sa cotation n'est pas cumulable avec la cotation du dosage de la ferritine sérique ou érythrocytaire. En l'absence de standard international, les valeurs normales sont malheureusement différents selon les trousse de dosage et varient donc selon les études cliniques.

- RsTf et érythropoïèse

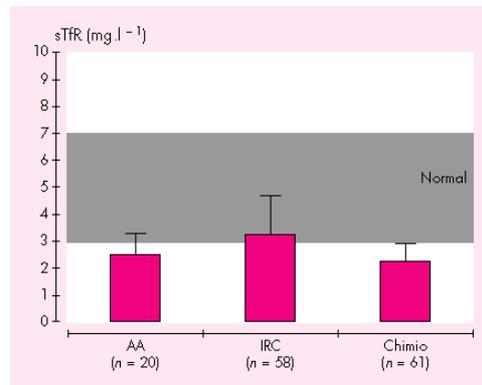
#### Activité érythropoïétique

La concentration du RsTf dépend de l'activité érythropoïétique comme le montre la corrélation positive entre la concentration de récepteurs solubles et les mesures d'incorporation ferrique (Lorenzo, Rodriguez et coll. 2001; Labbe et Dewanji 2004).

Des taux diminués de RsTf ont ainsi été trouvés dans les situations caractérisées par une hypoplasie érythroïde (Figure 11) comme :

- les transfusions à répétition mettant la moelle au repos,
- l'insuffisance rénale chronique par diminution de production d'érythropoïétine et
- les aplasies médullaires ainsi que les phases post-chimiothérapie sévère.

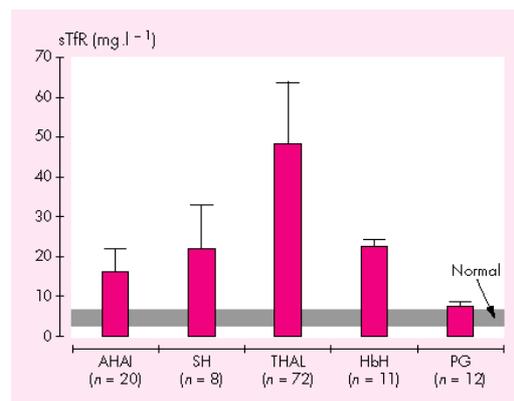
Un minimum décelable existe toujours, il correspond à la production par les tissus non érythroblastiques (Beguin 2003).



**Figure 11 : Hypoplasies érythroïdes à RsTf bas**

(AA: anémies aplastiques, IRC:insuffisants rénaux chroniques, Chimio: chimiothérapie intensive)  
(Beguin 2001)

Des taux élevés sont, au contraire, observés dans des contextes de stimulation médullaire importante (Figure 12) comme les dyséthropoïèses congénitales (thalassémies) et les anémies hémolytiques régénératives (drépanocytose, sphérocytose héréditaire...) où l'érythropoïèse est constamment stimulée et dans la maladie de Vaquez caractérisée par une hyperplasie érythroïde (Figure 12) (Beguin 2003).



**Figure 12 : Hyperplasies érythroïdes à RsTf élevé**

(AHAI:anémie hémolytique auto-immune, SH:sphérocytose héréditaire, THAL: β-thalassémie majeure, HbH : Hémoglobinoses H, PG : polyglobulie) (Beguin 2001)

### RsTf et caractérisation des anémies

Beguin et coll. ont cherché à utiliser le RsTf pour classer les différentes anémies. A partir de populations témoins, ils ont déterminé les valeurs attendues de RsTf et d'EPO pour chaque valeur d'hématocrite. En comparant les valeurs d'EPO et de RsTf aux

normes attendues, Beguin a proposé un schéma diagnostique des différents types d'anémies. En résumé, pour un hémocrite diminué, si le taux d'EPO est plus bas qu'attendu, il y a trouble de production de EPO (donc défaillance rénale). Par ailleurs, un taux de RsTf anormalement bas signe une hypo-érythropoïèse (anémie arégénérative) alors qu'un taux élevé mais attendu comme tel pour l'hémocrite donné démontre une stimulation adéquate de la moelle mais insuffisante pour compenser une hémolyse périphérique par exemple (Beguin 2001).

- RsTf et statut martial

L'homéostasie martiale fait intervenir le système IRE/IRP qui diminue la synthèse de récepteurs de la transferrine en cas de contenu intracellulaire en fer élevé et l'augmente en cas de déficit intracellulaire. Or, la concentration sérique du RsTf est proportionnelle à la quantité de RTf membranaires. Ainsi, le taux de RsTf va être diminué en cas de surcharge en fer et augmenté dans les situations de carence en fer (Figure 13). Alors que la ferritine apparaît comme le reflet des réserves de l'organisme en fer, le RsTf apparaît plus comme marqueur de la disponibilité en fer aux tissus en ayant besoin, c'est-à-dire essentiellement les précurseurs érythroblastiques. Le RsTf est donc un marqueur du compartiment fonctionnel du fer qui reste interprétable en cas d'inflammation, contrairement à la ferritinémie et la transferrine (Beguin 2003).

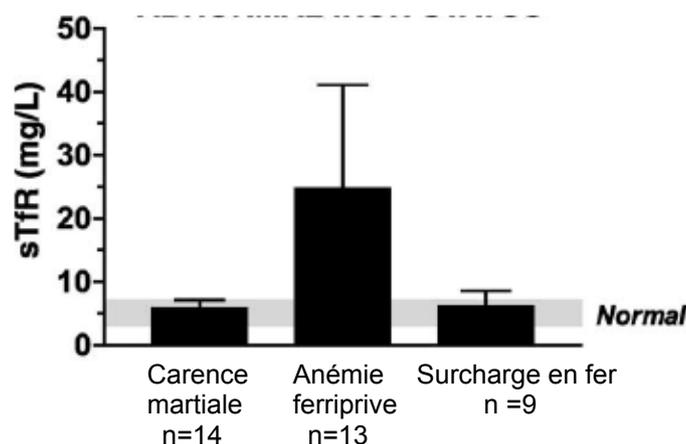


Figure 13 : Anomalies du métabolisme martial et valeurs du RsTf

Le rapport RsTf/log ferritine a été proposé par certains auteurs pour augmenter la sensibilité du RsTf et dépister des déficits latents en fer (Punnonen et coll. 1997).

## E) Le sujet IRC hémodialysé

L'insuffisance rénale terminale se définit comme l'altération des fonctions d'épuration des déchets du métabolisme cellulaire, du maintien de l'homéostasie du milieu intérieur et des fonctions endocrines. Au stade terminal, le recours à la dialyse (hémodialyse ou dialyse péritonéale) permet de corriger une partie de ces anomalies, notamment l'élimination des déchets, la transplantation rénale restant la solution thérapeutique idéale.

### 1. Fonction érythropoïétique

L'anémie du sujet IRC dialysé, multifactorielle, est due à :

- une diminution de l'érythropoïèse [déficit de synthèse d'érythropoïétine, action directe inhibitrice des toxines urémiques, fibrose médullaire favorisée par l'hyperparathyroïdie, carence en fer et vitamines (B12 et folates)],
- une diminution de la durée de vie des hématies (membrane érythrocytaire fragilisée par les toxines urémiques) et
- des pertes sanguines augmentées [perte dans les circuits de dialyse (environ 16 ml par séance), saignements digestifs et au point de ponction veineuse (thrombopathie due aux toxines urémiques), prélèvements sanguins fréquents] (Gidenne, Ceppa et coll. 2000; Hudson et Comstock 2001).

### 2. Le statut martial

Les altérations du métabolisme martial chez l'IRC dialysé résultent de la pathologie rénale mais aussi de la prise en charge médicale de celle-ci. Le patient IRC peut ainsi présenter deux types de déficit en fer : la carence absolue et le déficit fonctionnel. Ce dernier peut être dû à un défaut de mobilisation à partir des réserves en cas de demande en fer stimulée par la rHu-EPO ou être lié à la présence d'un syndrome inflammatoire.

#### a. Carence absolue

De multiples facteurs favorisent l'apparition d'une carence martiale chez les IRC dialysés :

- une absorption digestive du fer insuffisante (Hudson et Comstock 2001),
- la pratique de la dialyse elle-même qui entraîne des pertes sanguines donc en fer,

- des prélèvements veineux itératifs,
- de fréquents saignements gastro-intestinaux (toxicité urémique modifiant les muqueuses intestinales et engendrant une thrombopathie, héparinisation massive des circuits de dialyse)(Gidenne, Ceppa et coll. 2000) et
- la supplémentation en EPO exogène qui va augmenter les besoins en fer et diminuer les stocks.

Selon les recommandations françaises, la carence absolue est objectivée par une ferritinémie inférieure à 100 µg/l (AFSSAPS 2005).

#### b. Déficit fonctionnel

Chez les patients traités par rHu-EPO, l'érythropoïèse, stimulée, nécessite des apports médullaires en fer importants pour une synthèse correcte de l'hémoglobine. La vitesse de mobilisation du fer depuis les réserves peut devenir insuffisante et engendrer la fabrication d'érythrocytes faiblement concentrés en hémoglobine. Il y a appauvrissement en fer du compartiment fonctionnel. Cette situation est appelée carence fonctionnelle en fer (Drueke 2001).

Par ailleurs, au cours de l'inflammation, il y a également diminution de la biodisponibilité du fer au niveau médullaire en raison d'une séquestration macrophagique. D'autres mécanismes entrent en jeu dans la perturbation de l'érythropoïèse au cours d'un syndrome inflammatoire comme l'effet inhibiteur des cytokines sur les précurseurs érythroblastiques.

Mêmes si ces deux mécanismes peuvent coexister dans un contexte de déficit fonctionnel, il ne faut pas les confondre car dans l'inflammation, la ferritine est artificiellement augmentée alors que dans le déficit fonctionnel, où l'apport en fer à la moelle n'est pas assez rapide et important pour la synthèse d'hémoglobine, la ferritine, même si elle reste dans les valeurs normales ou hautes, voit sa concentration diminuer au cours du temps (Eschbach 2005).

### 3. Recommandations

Différentes recommandations existent pour le traitement de l'anémie du patient insuffisant rénal chronique. En 1999, l'association européenne *European Dialysis and Transplantation Association* a rédigé des recommandations ("*European Best Practice Guidelines*") au terme d'une étude de six mois nommée ESAM (*European Survey on Anemia Management*) (E.D.T.A 1999). Elles actualisaient les

recommandations américaines ("Dialysis Quality Outcomes Initiative") de l'association américaine National Kidney Fondation de 1997 (NKF-DOQI 1997 ). En 2004, les recommandations européennes ont été actualisées (Locatelli 2004). Depuis, des recommandations françaises ont été émises par l'AFSSAPS (mai 2005). Toutes ces recommandations abondent dans le même sens et définissent plus ou moins les mêmes seuils.

#### a. Agents stimulants de l'érythropoïèse (ASE)

Avant l'ère de l'érythropoïétine recombinante, les patients présentaient souvent des taux d'hémoglobine effondrés contre lesquels le clinicien ne disposait que de transfusions érythrocytaires, avec les inévitables complications infectieuses (risque viral) et les risques d'hémochromatose (Eschbach 2005).

A l'état physiologique, la concentration plasmatique d'EPO -de 5 à 25 mUI/ml- est régulée par le taux d'hémoglobine. En dialyse, la moyenne des concentrations d'EPO chez les patients non traités est de l'ordre de 20 à 300 mUI/ml mais n'est pas suffisante pour corriger l'anémie. Depuis les premiers essais cliniques en 1986 et la commercialisation en 1989, la rHu-EPO est devenue le traitement de référence de l'anémie de l'insuffisant rénal chronique. Une morbidité globale diminuée, des capacités physiques améliorées et une qualité de vie augmentée sont les bénéfices démontrés de l'administration d'EPO, qui permet de corriger les troubles liés à un défaut d'oxygénation tissulaire (Hudson et Comstock 2001).

#### Molécules utilisées

L'érythropoïétine humaine recombinante est commercialisée sous forme d'ampoule injectable d'époétine alfa (Eprex<sup>®</sup>) et d'époétine bêta (Neorecormon<sup>®</sup>). Ces deux molécules sont strictement identiques en ce qui concerne la séquence en acides aminés, elles ne présentent que des différences mineures au niveau de la glycosylation. La darbepoétin alfa (ARANESP<sup>®</sup>) est un ASE de synthèse qui possède cinq acides aminés différents par rapport à la séquence d'EPO humaine, lui permettant de lier davantage de chaînes d'hydrate de carbone, en l'occurrence cinq contre trois pour l'EPO humaine, ce qui confère à la darbepoétin une demi-vie environ trois fois supérieure (25 heures versus 8 heures) sans qu'il y ait d'accumulation nocive mise en évidence (AFSSAPS 2005).

### Cibles en hémoglobine

L'AFSSAPS recommande un traitement par rHu-EPO dès 11 g/dl d'hémoglobine après avoir éliminé les autres causes d'anémie (examen clinique, bilan biologique). Ce seuil doit motiver la prescription de rHu-EPO même en absence de signes cliniques de l'anémie, pour éviter les complications à long terme. Le traitement vise à obtenir une hémoglobine strictement supérieure à 11 g/dl sans dépasser 13 g/dl, notamment chez les patients ayant une pathologie cardiaque sévère (AFSSAPS 2005).

### Modalités d'administration

Après administration intraveineuse, la demi-vie de la rHu-EPO est de 6 heures et le pic n'est pas très utile car il y a saturation des récepteurs à l'EPO. L'administration sous-cutanée est plus efficace car elle entraîne un pic moins élevé, une diminution plus lente des concentrations d'EPO, donc une stimulation plus longue des récepteurs (AFSSAPS 2005). Sur la base de ces observations, l'AFSSAPS recommande l'utilisation de la voie sous-cutanée qui permet une épargne des doses d'environ 30% pour la rHu-EPO. Il n'y pas de différence pour la darbepoétin alfa. Selon les études analysées par l'AFSSAPS, la fréquence d'administration ne semble pas avoir d'influence sur la correction de l'anémie et sur les doses utilisées. Une dose de rHu-EPO de 150 à 300 UI/kg/semaine ou une dose de darbepoétin de 0.45 µg/kg/semaine ou de 0.75 µg/kg/deux semaines permet d'atteindre la concentration cible de l'hémoglobine chez 95% des patients (AFSSAPS 2005).

### Objectifs du traitement par les ASE

Le traitement de l'anémie de l'IRC vise plusieurs objectifs:

1. diminuer le recours aux transfusions (diminution du risque viral et d'immunisation anti-HLA),
2. combattre les symptômes de l'anémie et améliorer la qualité de vie (capacités physiques, intellectuelles, humeur...) et
3. diminuer les complications de l'anémie (hypertrophie ventriculaire gauche, troubles endocriniens...).

Par ailleurs, certaines études semblent mettre en évidence un rôle néphroprotecteur (ralentissement de la dégradation rénale et effet protecteur endothélial et vasculaire) mais cet effet n'est prouvé pour l'instant qu'*in vitro* et reste controversé (AFSSAPS 2005).

### Effets secondaires

Une trop grande efficacité des ASE, c'est-à-dire un taux d'hémoglobine trop haut, expose au risque d'hypertension artérielle et de thrombose. En hémodialyse, ceci augmente le risque de coagulation des circuits et conduit à une augmentation des besoins en anticoagulants et du risque hémorragique (AFSSAPS 2005). Les IRC dialysés présentent souvent d'autres facteurs de risque cardio-vasculaire (diabète, HTA...), la prise en charge doit donc être rigoureuse. Tous ces effets associés au coût important d'une prise en charge thérapeutique par rHu-EPO permettent aisément de comprendre qu'il est nécessaire d'optimiser le traitement par EPO, notamment par le biais d'une supplémentation martiale adaptée.

#### **b. La supplémentation martiale**

Une des causes les plus fréquentes de réponse insuffisante aux ASE est le déficit en fer. Selon les recommandations européennes, tous les patients IRC traités par rHu-EPO devraient bénéficier d'une supplémentation en fer (Locatelli 2004). Les besoins sont plus importants en hémodialyse.

### Préparations pharmaceutiques

Il existe diverses préparations de fer pour administration intraveineuse qui varient en fonction des pays (dextran, "sucrose"...). En France, seul est commercialisé Venofer<sup>®</sup> composé d'hydroxyde ferrique-saccharose (communément appelé "fer sucrose") (AFSSAPS 2005).

### Modalités d'administration

La voie intraveineuse a fait preuve de sa supériorité sur la voie orale pour maintenir les réserves en fer. Aucune fréquence optimale d'administration ne ressort des recommandations de l'AFSSAPS. La dose optimale recommandée est de 25 à 150 mg/kg/semaine pendant les six premiers mois de traitement par ASE (Locatelli 2004).

### Risques du traitement martial intraveineux

Des réactions de type anaphylactique ont été décrites avec le fer dextran mais sont moins fréquentes avec le Venofer<sup>®</sup> (0,002% de réactions sévères). La surcharge tissulaire, notamment hépatique, en fer était fréquente avant l'ère de la rHu-EPO même si les complications à type de cirrhoses étaient exceptionnelles en l'absence d'autres facteurs de risque. Aujourd'hui, le problème est plutôt celui de la carence

martiale. Le fer libre peut conduire à la formation de radicaux libres de l'oxygène et induire une peroxydation lipidique qui pourrait accélérer la maladie athéromateuse. Une augmentation du stress oxydant a été mise en évidence chez les hémodialysés après injection de 100 mg de Venofer® mais la signification clinique de ces anomalies demeure controversée. Le fer est un facteur de croissance bactérienne et à haute concentration entraîne une dysfonction des polynucléaires neutrophiles. Les conséquences cliniques sont cependant plus complexes à analyser. En effet, si les patients recevant du fer à forte dose présentent plus d'infections, le traitement martial est peut-être plus un marqueur de co-morbidités qu'un véritable facteur de risque d'infections (Kessler 2004).

### Suivi

Un monitoring régulier de l'état du métabolisme du fer des patients IRC est nécessaire. La mesure de la ferritine sérique renseigne sur le stock en fer de l'organisme, mais ce paramètre est soumis à de nombreuses causes de variation (inflammation, infection, cytolysse hépatique...). La ferritinémie n'évalue pas la carence fonctionnelle qui peut être dépistée par d'autres paramètres (AFSSAPS 2005).

Pour les diverses recommandations, l'apport en fer vise, alors, à atteindre :

- une ferritinémie supérieure à 100 µg/l

et

- un coefficient de saturation de la transferrine supérieur à 20 % ou

- un pourcentage de globules rouges hypochromes inférieur à 10 % ou

- un contenu réticulocytaire en hémoglobine supérieur à 29 pg (AFSSAPS 2005).

Ces deux derniers paramètres ne sont pas disponibles sur tous les automates de cytologie. De plus, les recommandations européennes nuancent le seuil en fonction de la technologie utilisée (26 pg pour Technicon H® et 29 pg pour ADVIA®120) (Locatelli 2004).

Il est recommandé d'attendre une semaine après la dernière injection de fer avant le bilan biologique afin d'évaluer l'état réel des réserves en fer (Locatelli 2004).

### c. Pratiques du service d'hémodialyse du CHU de Nantes

Les pratiques des médecins du service d'hémodialyse du CHU de Nantes en matière de supplémentation (rHu-EPO, fer IV) sont résumées ci-dessous :

Traitements	Cibles	Décisions thérapeutiques
Agents stimulants de l'érythropoïèse ASE:  -époétine bêta (Neorecormon®) -darbepoetin (Aranesp®)	Hb : 11-13 g/dl	Hb < 11 g/dl ⇒ ↑ 25 % doses d'ASE
		11 < Hb < 13 g/dl pas de changement
		13 < Hb < 14 g/dl ⇒ ↓ 25 % doses d'ASE
		Hb > 14 g/dl ⇒ ARRÊT ASE
Venofer® 100 mg IV	Ferritinémie : 100-600 µg/l et CST : 0,20-0,50	Ferritinémie > 800 µg/l ⇒ ARRÊT fer IV
		Ferritinémie > 600 µg/l ⇒ diminution fer IV
		Ferritinémie < 100 µg/l et/ou CST < 0,20 ⇒ ↑ posologie fer IV
		<b>Autres cas:</b> <b>En fonction du contexte</b>

#### 4. Résistance à l'érythropoïétine

Même s'il est vrai que l'introduction de la rHu-EPO a radicalement changé le pronostic des patients IRC hémodialysés, la généralisation de son utilisation a mis à jour un certain pourcentage de situations de résistance à l'EPO exogène (jusqu'à 10% des patients). Cette résistance est plus souvent relative qu'absolue, voilà pourquoi on parle plutôt de réponse diminuée ("hyporesponsiveness") (Macdougall et Cooper 2002). Une résistance doit être suspectée quand le patient n'atteint pas la cible en hémoglobine alors qu'il reçoit plus 300 UI/kg/semaine de rHu-EPO ou plus de 1,5 µg/kg/semaine de darbepoetin alfa (AFSSAPS 2005). La cause la plus fréquente de résistance à un ASE est la carence en fer. Dans l'étude européenne ESAM, sur 370 patients recevant des doses de rHu-EPO supérieures à 300 UI/kg/semaine, 11 % avaient toujours une ferritinémie inférieure à 100 µg/l et 39 % une saturation de la transferrine inférieure à 20 % (Macdougall, Horl et coll. 2000). La proportion importante de patients ne répondant pas aux recommandations souligne la difficulté de prise en charge des patients sous EPO. D'autres études suggèrent que les recommandées actuelles sont mal adaptées. En effet, certains auteurs,

s'intéressant aux relations entre ferritine et état inflammatoire des patients, proposent que, pour des concentrations de ferritine supérieures à 600 mais inférieures à 2000 µg/l, la prescription de fer ne soit pas à exclure mais à discuter à la recherche d'un déficit fonctionnel (Kalantar-Zadeh, Rodriguez et coll. 2004). Le CST est aussi critiqué au vu de certaines études. L'essai randomisé de Besarab comparant deux cibles pour le CST a mis en évidence qu'un CST entre 20 et 30 % était parfois insuffisant pour prévenir le déficit fonctionnel. En effet, une cible pour la saturation de la transferrine entre 30 et 50 % permettait de diminuer les doses de rHu-EPO de 40 %, démontrant le manque de sensibilité du CST (aux seuils actuels) pour le diagnostic de carence fonctionnelle (Besarab, Amin et coll. 2000). Fishbane a montré par ailleurs que le CST était un critère moins spécifique que la teneur réticulocytaire en hémoglobine (CHr). En effet, les patients suivis par le CST recevaient plus de fer que les patients suivis par le CHr sans avantage sur les doses d'EPO ou sur les taux d'hémoglobine obtenus. Le CST manquait donc de spécificité et contribuait à administrer du fer à tort (Fishbane, Shapiro et coll. 2001). D'autres facteurs peuvent être responsables de cette baisse de réponse comme un syndrome inflammatoire persistant (infection, néoplasie...), une hyperparathyroïdie, une intoxication aluminique, des carences vitaminiques ou une dialyse insuffisante (Drueke 2001; AFSSAPS 2005).

Le syndrome inflammatoire est une cause importante et fréquente de résistance à l'érythropoïétine par le déficit fonctionnel en fer qu'il entraîne. Ainsi, l'étude européenne ESAM 2003 retrouve des doses d'EPO plus élevées quand le taux de CRP est élevé (Jacobs, Frei et coll. 2005). Par ailleurs, on a montré que des cultures cellulaires de progéniteurs érythroblastiques étaient inhibées *in vitro* en présence de sérums de patients IRC dialysés présentant un syndrome inflammatoire et que cette inhibition était levée par ajout d'anti-TNF $\alpha$  (Macdougall et Cooper 2002). Or, la présence d'un syndrome inflammatoire n'est pas rare chez l'IRC dialysé. En effet, de nombreux facteurs y prédisposent comme la pratique même de l'hémodialyse utilisant des membranes bioincompatibles et la présence fréquente de comorbidités telles que les maladies sous-jacentes (diabète, tumeurs, collagénoses...) et les infections intercurrentes (infections des abords veineux...).

## II. OBJECTIFS DE L'ETUDE

### A) Contexte clinique

Les marqueurs traditionnels du bilan martial (ferritine, transferrine) apparaissent insuffisants pour dépister le déficit fonctionnel en fer, qui correspond à un appauvrissement en fer du compartiment fonctionnel (essentiellement l'hémoglobine des globules rouges) en présence de stocks non effondrés. La biodisponibilité insuffisante du fer pour une érythropoïèse correcte peut être due à un traitement par rHu-EPO. En effet, l'érythropoïèse ainsi stimulée nécessite des apports en fer considérablement augmentés, et la mobilisation du fer depuis les réserves peut devenir insuffisante dans ce contexte. L'autre cause de la carence fonctionnelle est la présence d'un syndrome inflammatoire au cours duquel une séquestration macrophagique conduit à une diminution de la biodisponibilité du fer. Certains patients nécessitent alors des doses exagérément élevées de rHu-EPO, définissant un état de "résistance à l'érythropoïétine" malgré un stock en fer non épuisé objectivé par une ferritinémie normale. Il serait particulièrement intéressant de pouvoir mettre en évidence ce déficit fonctionnel afin de mieux prescrire la supplémentation en fer et ainsi éviter d'inefficaces et coûteuses doses supplémentaires d'érythropoïétine.

### B) Questions posées

Les marqueurs biologiques classiques du bilan martial, notamment la ferritine, constituant de piètres indicateurs du déficit fonctionnel en fer chez l'IRC dialysé, nous sommes demandés quels paramètres biologiques pouvaient être utilisés. Le RsTf constitue un marqueur du bilan martial moins soumis aux variations physiopathologiques que la ferritine ou la transferrine. Nous avons donc évalué l'intérêt de ce paramètre dans une population de sujets IRC dialysés, sur 5 mois, en :

1. validant la concentration sérique du RsTf comme marqueur du statut martial et de l'érythropoïèse,
2. étudiant le rôle du RsTf comme marqueur de carence martiale,
3. étudiant le rôle du RsTf comme marqueur de déficit fonctionnel en fer,
4. étudiant l'influence de l'inflammation sur la concentration sérique du RsTf et
5. en évaluant son rôle comme marqueur de résistance à l'érythropoïétine.

### **III. MATERIEL ET METHODE**

#### **A) Population étudiée**

Notre avons étudié l'ensemble des patients hémodialysés dans le secteur Hémodialyse du service de Néphrologie de l'hôpital Hôtel-dieu de Nantes entre mai et septembre 2005. Le nombre de sujets par mois a varié selon l'arrivée de nouveaux patients et le départ d'autres et en raison des congés d'été. Un seul patient a été volontairement exclu car il présentait de trop lourdes pathologies associées qui perturbaient fortement les paramètres à évaluer (drépanocytose homozygote et hémochromatose secondaire).

Nous avons choisi de présenter les résultats du mois 3 qui comporte le plus grand nombre de bilans complets et qui est représentatif des autres mois.

La population au mois 3 est composée de 66 patients (36 hommes et 30 femmes) d'âge moyen  $67,5 \pm 1,86$  ans (de 29 à 92 ans). Les principales étiologies de l'insuffisance rénale terminale ayant nécessité la prise en charge en hémodialyse étaient la néphro-angiosclérose (19,7 %), les complications d'un diabète (16,7 %) et une glomérulonéphrite (15,2 %).

#### **B) Déroulement de l'étude**

Sur une période de 5 mois, pour chacun des patients, nous avons réalisé une fois par mois un bilan biologique complet (bilan martial incluant le dosage du RsTf, et un hémogramme complet avec numération des réticulocytes et mesure du Ret-He) après fenêtre thérapeutique d'une semaine du traitement martial. La prise en charge médicale, notamment la prescription d'agents stimulants de l'érythropoïèse et de fer intraveineux, suivait les recommandations et n'était pas influencée par notre étude purement observationnelle.

#### **C) Dosages**

Les paramètres cytologiques (taux d'hémoglobine, numération réticulocytaire) ont été mesurés sur l'automate SYSMEX XE-2100<sup>®</sup> qui a également permis de calculer le paramètre Ret-He. En nous basant sur les travaux de Thomas et Thomas et de Franck et coll. (Thomas et Thomas 2002; Franck, Linssen et coll. 2004), nous avons

utilisé 28 pg comme seuil pour définir la carence fonctionnelle en fer. Le fer sérique a été mesuré par technique colorimétrique à la ferrozine sur HITACHI MODULAR® (ROCHE DIAGNOSTICS®). Les concentrations sériques de la protéine C-réactive, de la transferrine et du Rstf ont été mesurées par méthode immunonéphélométrique sur l'appareil BN II de DADE BEHRING®. La ferritine sérique a été dosée sur l'analyseur ELECSYS 2010® (ROCHE DIAGNOSTICS®) par technique immunologique électrochimiluminescente utilisant deux anticorps ("technique sandwich"), le couple streptavidine-biotine et l'ion ruthénium.

## D) Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été effectuées avec les logiciels Medcalc software 7.3.0.1 (Mariakerke, Belgique) et Statview 5.0 (S.A.S Institute Berkeley, USA). Les tests de comparaison ont été effectués avec le test non paramétrique de Mann Whitney, les corrélations avec le test de Spearman et les régressions multiples pas à pas ont été effectuées sur des variables log transformées.

## IV. RESULTATS

### A) Population étudiée

Nous avons étudié d'une part les paramètres biologiques des sujets hémodialysés mois par mois (présentation du mois 3, représentatif des autres mois) et d'autre part l'évolution des différents paramètres sur les 5 mois.

#### 1. Caractéristiques de la population au mois 3

Les caractéristiques biologiques des soixante-six patients (36 hommes et 30 femmes d'âge moyen  $67,5 \pm 1,86$  ans (de 29 à 92 ans)) sont résumées dans le Tableau 4.

	Moyenne $\pm$ erreur standard	min	max	Valeurs normales
Fer ( $\mu\text{mol/l}$ )	11,88 $\pm$ 0,61	3	28	10-30
Ferritine ( $\mu\text{g/l}$ )	465,52 $\pm$ 38,16	45	1892	100-600*
Transferrine (g/l)	1,70 $\pm$ 0,04	0,7	2,94	2-3,2
CST	0,29 $\pm$ 0,02	0,1	0,74	0,20-0,50*
RsTf (mg/l)	1,93 $\pm$ 0,08	0,9	3,62	0,76-1,76 **
RsTf/log ferritine	0,77 $\pm$ 0,04	0,4	1,5886	0,38-1,54 **
Réticulocytes ( $10^3/\mu\text{l}$ )	59,10 $\pm$ 2,56	20	110	40-100
Hb (g/dl)	11,62 $\pm$ 0,15	8,4	14,3	11-13 *
Ret-He (p)	32,94 $\pm$ 0,39	25	39,5	28-35 ***
CRP (mg/l)	15,76 $\pm$ 3,47	< 3,5	150	< 5

Tableau 4 : Caractéristiques biologiques des patients au mois 3

\* D'après les pratiques du service d'hémodialyse de Nantes

\*\* Valeurs fournies par le laboratoire Dade Behring®, d'après Van den Bosch (Van den Bosh et coll. 2001)

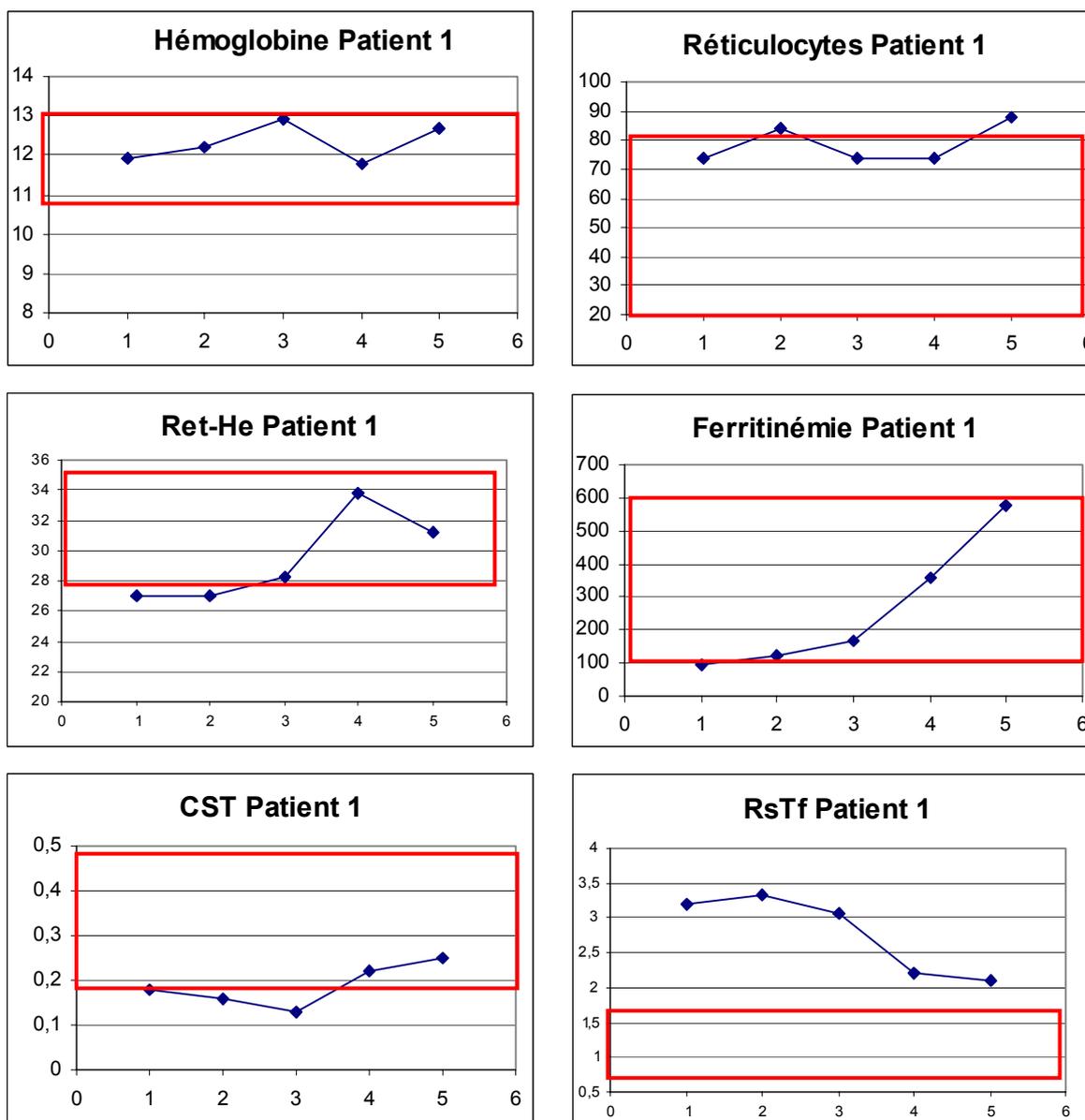
\*\*\* D'après (Thomas et Thomas 2002)

Cinquante-trois patients (80,3 %) étaient traités par époétine bêta (Neorecormon®) à la dose moyenne de  $140,7 \pm 15,9$  UI/kg/semaine. Huit patients (12,1 %) recevaient de la darbepoétin alpha (ARANESP®) à la dose moyenne de  $1,44 \pm 0,7$   $\mu\text{g/kg/15}$

jours. Cinquante-sept patients (86.4 %) recevaient du fer intraveineux à la dose moyenne de  $284,2 \pm 27,4$  mg/mois.

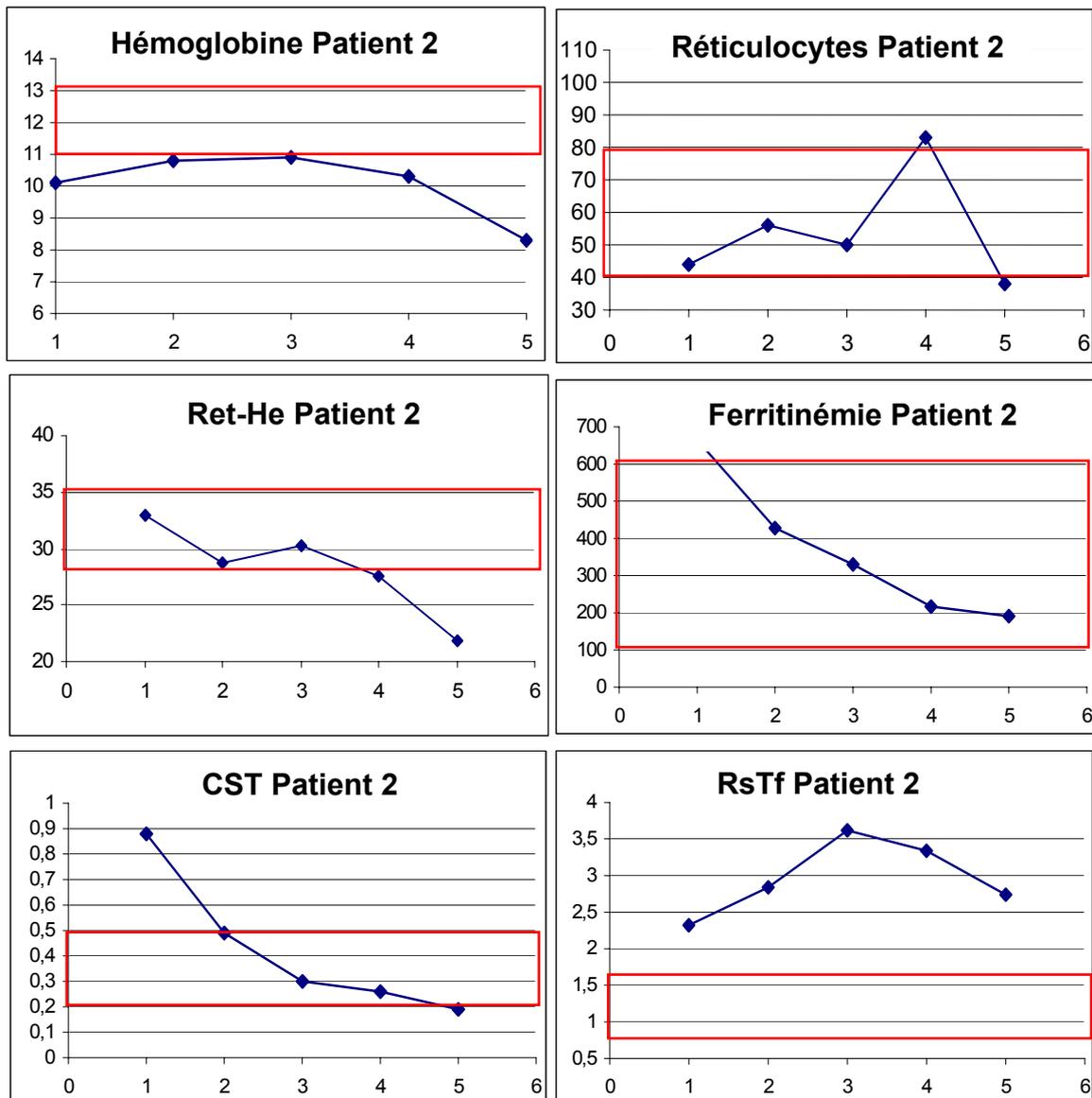
## 2. Evolution des paramètres sur les 5 mois de l'étude

L'objectif principal des cliniciens est d'obtenir et de maintenir un taux d'hémoglobine entre 11 et 13 g/dl. Quarante-sept patients ont pu être suivis durant la totalité de l'étude. Ce suivi nous a permis de voir que la prise en charge selon les critères recommandés est parfois difficile comme l'illustrent les deux exemples ci-dessous.



Pour le patient 1, nous observons que tout au long de l'étude, bien que l'hémoglobine soit maintenue dans les valeurs cibles, les paramètres du bilan du fer varient. La supplémentation martiale, maintenue tout au long des 5 mois en raison

d'un CST < 20 %, entraîne une hausse progressive de la ferritinémie ainsi qu'une diminution de la concentration sérique du RsTf, bien que celle-ci reste toujours au-dessus des valeurs normales, suggérant une carence martiale dès le premier mois. En revanche, nous observons que la ferritinémie n'a jamais mis en évidence de carence martiale.

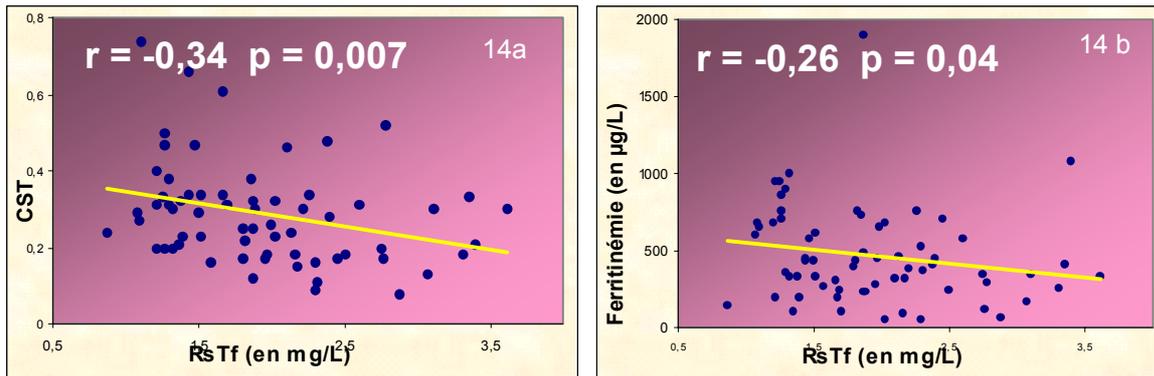


Pour le patient 2, le taux d'hémoglobine reste constamment en dessous des valeurs attendues malgré l'administration continue d'EPO. La supplémentation martiale n'est instaurée qu'à partir du cinquième mois en raison d'une diminution du CST et de la ferritinémie alors que la concentration sérique du RsTf était largement au-dessus des valeurs normales dès le premier mois, suggérant que le déficit martial était présent dès le premier mois.

## B) Validation du RsTf comme marqueur du statut martial et de l'activité érythropoïétique

### 1. Statut martial

Afin de vérifier que la concentration sérique du RsTf constitue un bon marqueur du statut martial, nous avons déterminé si ce paramètre était corrélé aux marqueurs classiques, à savoir le CST et la ferritinémie.

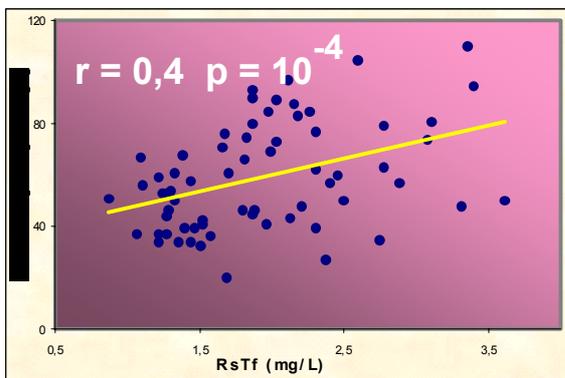


**Figure 14a et 14b : Corrélation entre concentration sérique du RsTf et, respectivement, CST (14a) et ferritinémie (14b).**

Nos résultats montrent que la concentration sérique du RsTf est significativement et négativement corrélée avec le CST (Figure 14a) et la ferritinémie (Figure 14b).

### 2. Activité érythropoïétique

De façon similaire, nous avons effectué la corrélation entre concentration sérique du RsTf et numération réticulocytaire, marqueur de l'activité érythropoïétique.



**Figure 15 : Corrélation entre concentration sérique du RsTf et numération réticulocytaire**

La concentration sérique du RsTf est corrélée significativement et positivement avec la numération de réticulocytes (Figure 15).

### 3. Déterminants de la concentration sérique du RsTf

La concentration sérique du RsTf étant à la fois corrélée aux marqueurs du statut martial et de l'activité érythropoïétique, nous avons voulu déterminer quel(s) paramètre(s) l'influence(nt) de façon indépendante. Nous avons pour cela effectué une régression multiple incluant les trois paramètres corrélés significativement avec le RsTf (CST, ferritinémie, numération réticulocytaire). Nos résultats montrent que les facteurs qui influencent de manière indépendante la concentration sérique du RsTf sont le CST et la numération réticulocytaire (Tableau 5).

	$\beta$	r	p
<b>Saturation de la transferrine</b>	-0,23	-0,34	0,007
<b>Numération réticulocytaire</b>	0,32	0,36	0,03

Tableau 5 : Facteurs influençant de manière indépendante la concentration sérique du RsTf (sur variables log transformées)

### C) Evaluation du RsTf comme marqueur de carence martiale

Nous avons divisé la cohorte en deux groupes selon les critères de l'AFSSAPS définissant la carence martiale (ferritinémie < 100  $\mu\text{g/l}$  et/ou CST < 20 %) et avons comparé les concentrations moyennes du RsTf du groupe "carencés en fer" (n = 18) et du groupe "non carencés" (n = 48).

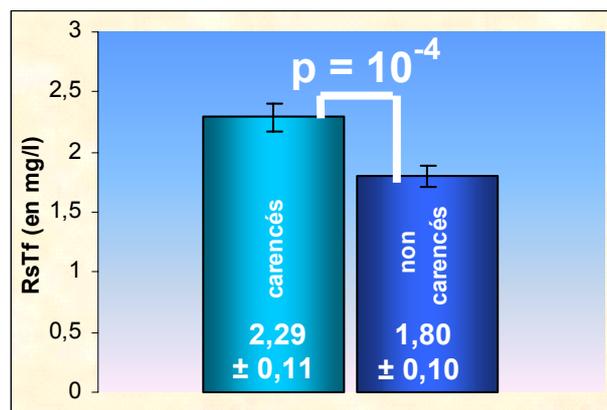


Figure 16 : Comparaison des concentrations sériques du RsTf entre le groupe "carencés en fer" et le groupe "non carencés"

Nos résultats montrent que la concentration moyenne du RsTf du groupe "carencés" est significativement plus élevée que celle du groupe "non carencés" (Figure 16).

## D) Evaluation du RsTf comme marqueur du déficit fonctionnel

Le critère de déficit fonctionnel en fer que nous avons choisi est la teneur réticulocytaire en hémoglobine inférieure à 28 pg (gold standard selon Thomas et Thomas 2002). Nous avons divisé les patients en deux groupes, "déficit fonctionnel" (Ret-He  $\leq$  28 pg, n = 6) et "absence de déficit fonctionnel" (Ret-He > 28 pg, n = 60) et comparé les moyennes des différents paramètres du bilan martial (concentration sérique du RsTf, rapport RsTf/log ferritine, CST et ferritinémie).

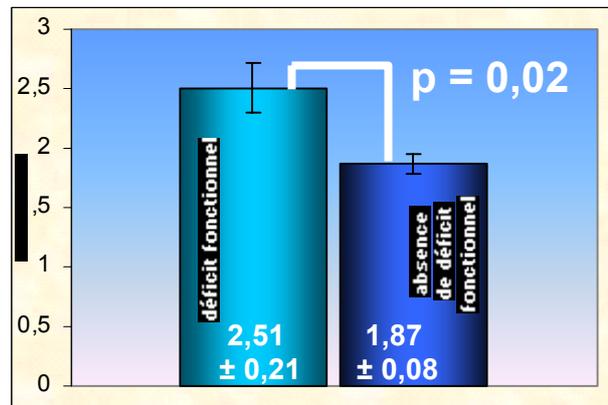


Figure 17 : Comparaison de la concentration sérique du RsTf entre le groupe "déficit fonctionnel" et le groupe "absence de déficit fonctionnel"

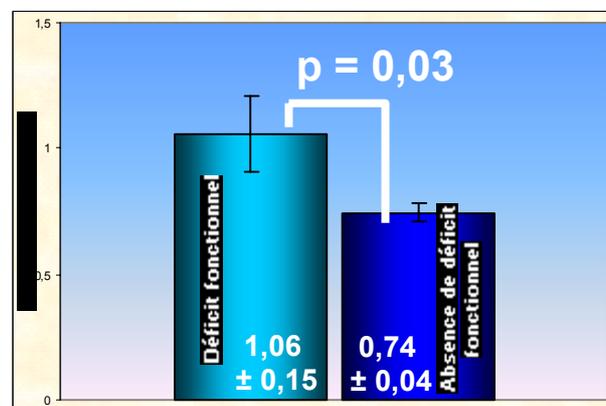


Figure 18 : Comparaison du rapport RsTf/log ferritine entre le groupe "déficit fonctionnel" et le groupe "absence de déficit fonctionnel"

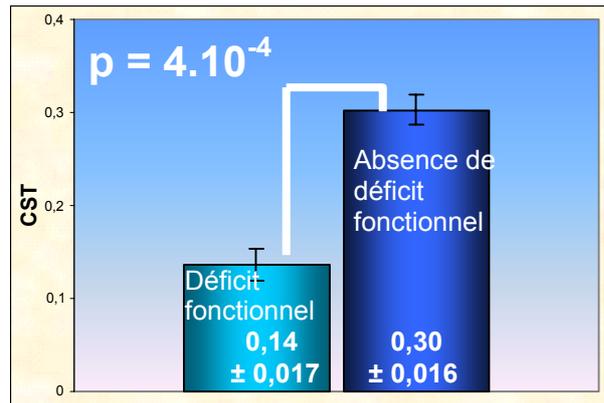


Figure 19 : Comparaison du coefficient de saturation de la transferrine entre le groupe "déficit fonctionnel" et le groupe "absence de déficit fonctionnel"

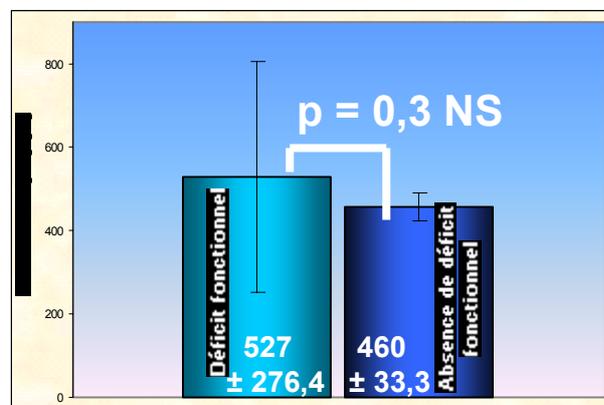


Figure 20 : Comparaison de la ferritinémie entre le groupe "déficit fonctionnel" et le groupe "absence de déficit fonctionnel"

La concentration sérique du RsTf est significativement plus élevée dans le groupe "déficit fonctionnel" (Figure 18). Il en est de même pour le rapport RsTf/log ferritine (Figure 19). Le CST est significativement plus bas dans le groupe "déficit fonctionnel" (Figure 20). En revanche, la ferritinémie n'est pas significativement différente entre les deux groupes (Figure 20).

Tous les paramètres significativement différents entre le groupe "déficit fonctionnel" et le groupe "absence de déficit fonctionnel" sont significativement corrélés au Ret-He. Le CST est positivement et significativement corrélé au Ret-He (Figure 21) tandis que la concentration sérique du RsTf et le rapport RsTf/log ferritine le sont négativement (Figures 22 et 23).

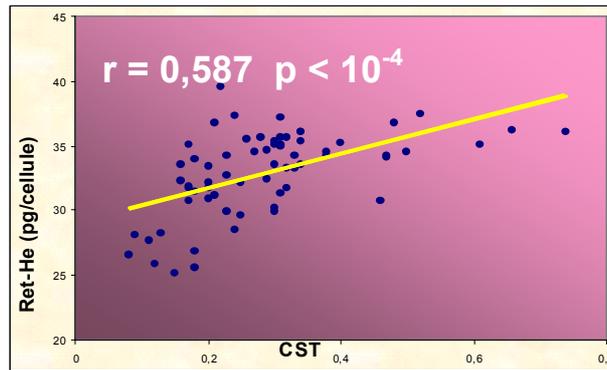


Figure 21 : Corrélation entre Ret-He et CST

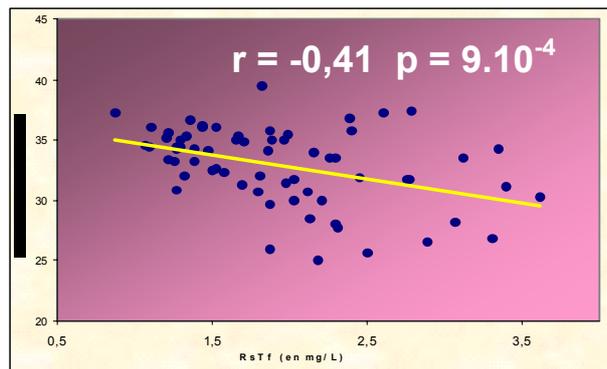


Figure 22 : Corrélation entre Ret-He et concentration sérique du RSTf

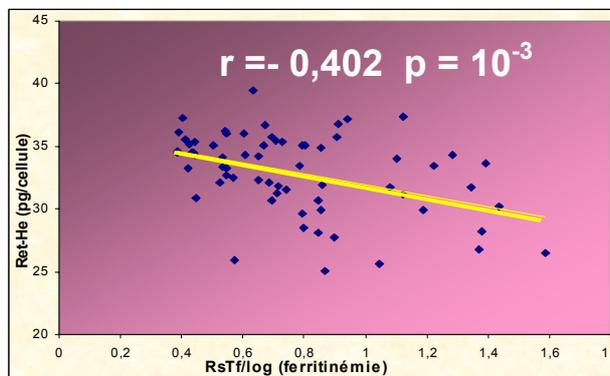


Figure 23 : Corrélation entre RetHe et RSTf/log ferritine

Une régression multiple incluant les paramètres significativement corrélés au Ret-He (concentration sérique du RSTf, CST, rapport RSTf/log ferritine) montre que les facteurs qui l'influencent de manière indépendante sont le CST et la concentration sérique du RSTf (Tableau 6).

	$\beta$	r	p
RSTf	-0,08	-0,44	0,015
CST	0,12	0,63	$<10^{-4}$

Tableau 6 : Facteurs influençant de manière indépendante le Ret-He

## E) Influence de l'inflammation

### 1. Influence de l'inflammation dans la population totale

Nous avons divisé la population (n=66) selon la présence ou non d'un syndrome inflammatoire (CRP  $\leq$  5 ou  $>$  5 mg/l). Nous avons ensuite comparé les moyennes des paramètres associés à l'érythropoïèse (taux d'hémoglobine, numération réticulocytaire) et des paramètres du bilan martial (ferritinémie, CST) ainsi que le Ret-He et la concentration sérique de RsTf entre les deux groupes (Tableau 7).

	<b>CRP<math>\leq</math>5 mg/l (n=34)</b>	<b>CRP<math>&gt;</math>5 mg/l (n=32)</b>	<b>p (Mann Whitney)</b>
<b>Hémoglobine (g/dl)</b>	11,8 $\pm$ 0,2	11,4 $\pm$ 0,2	0,17 NS
<b>Num. réticulocytaire (10<sup>3</sup> /<math>\mu</math>l)</b>	56,6 $\pm$ 4,0	61,8 $\pm$ 3,1	0,15 NS
<b>Ret-He (pg)</b>	34,4 $\pm$ 0,4	31,4 $\pm$ 0,6	$<10^{-4}$
<b>CST</b>	0,34 $\pm$ 0,2	0,24 $\pm$ 0,02	0,002
<b>Ferritinémie (<math>\mu</math>g/l)</b>	386,5 $\pm$ 36,6	549,5 $\pm$ 65,9	0,07 NS
<b>RsTf (mg/l)</b>	1,85 $\pm$ 1,1	2,02 $\pm$ 0,12	0,27 NS

**Tableau 7 : Comparaison des paramètres martiaux et érythropoïétiques entre le groupe "CRP  $\leq$  5 mg/l" et le groupe "CRP  $>$  5 mg/l"**

Seuls le taux d'hémoglobine, la numération réticulocytaire et la concentration sérique du RsTf ne sont pas significativement modifiés en cas d'inflammation. La ferritinémie tend à être augmentée en cas d'inflammation mais cette augmentation n'est pas significative (p = 0,07 ; proche de la signification). En revanche, le CST et la teneur réticulocytaire en hémoglobine sont significativement diminués en cas d'inflammation.

### 2. Part de l'inflammation dans le déficit fonctionnel

Le déficit fonctionnel peut être dû à la fois à une composante inflammatoire (séquestration macrophagique du fer...) ou à une cinétique de mobilisation trop lente à partir des réserves (traitement par EPO).

Nous avons voulu déterminer :

1. le pourcentage de syndromes inflammatoires parmi les sujets présentant un déficit fonctionnel et

2. comparer l'état inflammatoire de ces sujets par rapport au reste de la population.

Nous n'avons pas pu étudier la part d'inflammation dans le groupe déficit fonctionnel, l'ensemble des sujets (n=6) présentant une CRP > 5mg/l. En revanche, nous avons comparé les concentrations moyennes de CRP entre le groupe "déficit fonctionnel" et le groupe "absence de déficit fonctionnel" (Tableau 8).

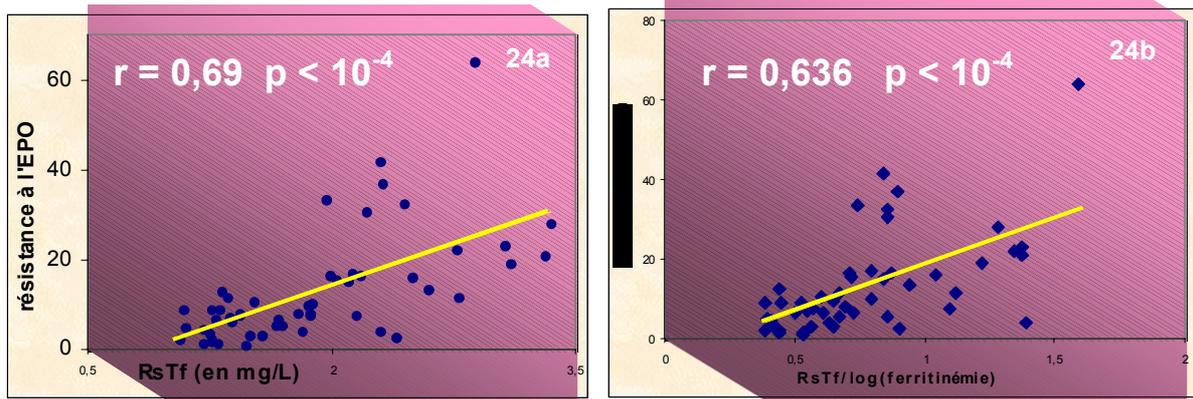
	"Déficit fonctionnel"	"Absence de déficit fonctionnel"	p (Mann Whitney)
CRP (mg/l)	57,7 ± 24,01 (min 14,4 – max 150)	11,57 ± 2,53 (min < 3,5 – max 131)	p = 0,002

Tableau 8 : Comparaison des taux de CRP entre le groupe "déficit fonctionnel" et le groupe "absence de déficit fonctionnel"

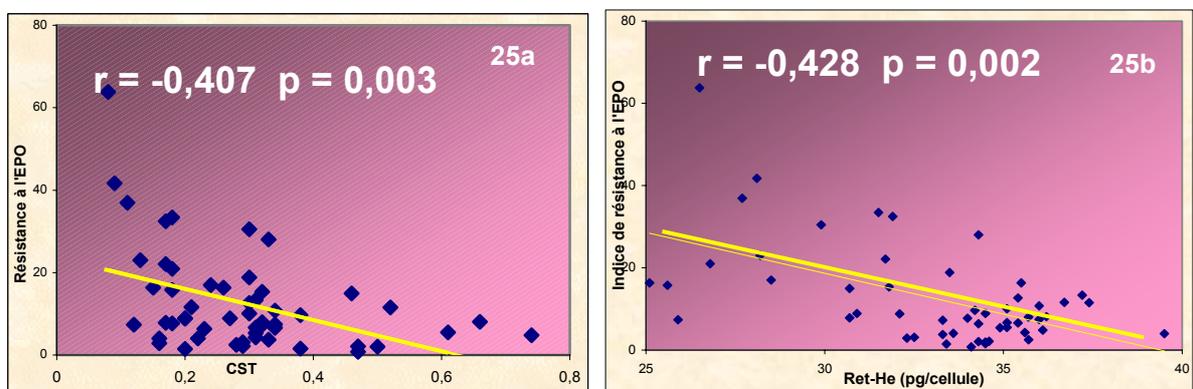
Nos résultats montrent que la concentration sérique de CRP est significativement plus élevée dans le groupe "déficit fonctionnel".

## F) Evaluation du RsTf comme marqueur de résistance à l'érythropoïétine

La résistance à l'érythropoïétine peut être évaluée par le rapport (doses de rHu-EPO en UI/kg/semaine)/(taux d'hémoglobine). Aucun seuil de résistance n'a été clairement défini pour mais un rapport élevé démontre un manque de sensibilité de l'EPO (Daschner, Mehls et coll. 1999). Nous avons cherché quels paramètres biologiques étudiés précédemment étaient corrélés à cet indice de résistance chez nos patients traités par rHu-EPO (n = 53).



**Figures 24a et 24b : Corrélations entre résistance à l'EPO et, respectivement, concentration sérique du RsTf (24a) et RsTf/log ferritine (24b)**



**Figures 25a et 25b : Corrélations entre résistance à l'EPO et, respectivement, CST (25a) et Ret-He (25b)**

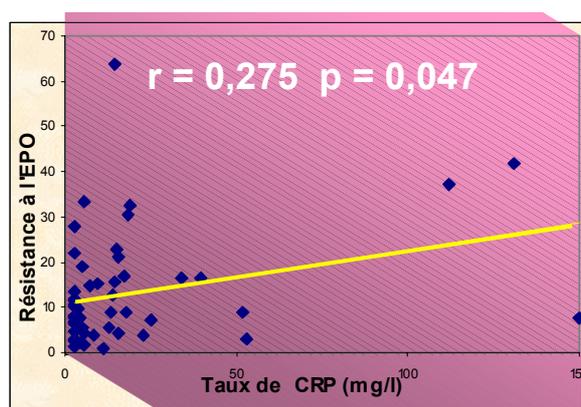
Nos résultats montrent une corrélation positive très significative entre la résistance à l'EPO et la concentration sérique du RsTf (Figure 24a) et le rapport RsTf/log ferritine (Figure 24b). A l'inverse, le CST (Figure 25a) et la teneur réticulocytaire en hémoglobine (Figure 25b) le sont négativement. En revanche, nous n'avons pas trouvé de corrélation significative entre ferritinémie et résistance à l'EPO ( $p = 0,15$  NS).

Nous avons ensuite effectué une régression multiple incluant les facteurs significativement corrélés à la résistance à l'EPO. Seuls la concentration sérique du RsTf et le Ret-He influencent de manière indépendante la résistance à l'érythropoïétine (Tableau 9).

	$\beta$	r	p
RsTf	1,66	0,66	<0,0001
Ret-He	- 2,18	-0,48	0,03

**Tableau 9 : Facteurs influençant de manière indépendante la résistance à l'EPO. Modèle 1**  
(Concentration sérique de RsTf ; RsTf /log ferritine, CST et Ret-He)

Par ailleurs, la concentration de CRP est corrélée significativement et positivement avec la résistance à l'EPO (Figure 26).



**Figure 26 : Corrélation entre résistance à l'EPO et concentration de CRP**

Quand on introduit la CRP dans le modèle de régression multiple, le Ret-He n'influence plus de manière indépendante la résistance à l'EPO. Seules les concentrations sériques de la CRP et du RsTf influencent de manière indépendante la résistance à l'EPO (Tableau 10).

	$\beta$	r	p
RsTf	1,91	0,66	<0,0001
CRP	0,21	0,31	0,02

**Tableau 10 : Facteurs influençant de manière indépendante la résistance à l'EPO. Modèle 2**  
(Concentration sérique de RsTf ; RsTf /log ferritine, CST, Ret-He et concentration de CRP)

## V. DISCUSSION ET CONCLUSION

Notre travail, effectué sur une population de patients insuffisants rénaux chroniques hémodialysés confirme tout d'abord les données de la littérature, à savoir que le récepteur soluble de la transferrine constitue un bon marqueur à la fois du bilan martial et de l'activité érythropoïétique et montre aussi que le RsTf et le coefficient de saturation de la transferrine constituent d'excellents marqueurs du déficit fonctionnel et de résistance à l'érythropoïétine.

### Limites de notre étude

Les principales limites de notre étude sont la nature observationnelle de l'étude, le nombre restreint de patients ainsi que l'absence de critère de sélection. Nous avons simplement introduit le RsTf et le Ret-He dans la pratique quotidienne d'un centre de dialyse. Du fait de la nature observationnelle de l'étude, les patients ont été pris en charge selon les recommandations actuelles et ont donc été soumis à des changements de posologie en fer et ASE et certains ont pu avoir subi des transfusions sanguines, ce qui peut perturber l'interprétation de certains bilans.

L'étude du RsTf comme marqueur du déficit fonctionnel nécessite de définir un critère de référence de ce déficit. Pour beaucoup, le gold standard reste l'augmentation du taux d'hémoglobine de 1 g/dl ou de 15 % un mois après administration de fer par voie parentérale. Cependant, les recommandations européennes actualisées de 2004 (Locatelli 2004) proposent le contenu réticulocytaire en hémoglobine (CHr) comme nouveau marqueur de déficit fonctionnel. C'est un indice récent proposé sur différents automates BAYER®. Dans notre étude, nous utilisons une autre technologie qui fournit le paramètre RET-Y en unités arbitraire, transformable par formule mathématique en pg (Ret-He). Le Ret-He a montré d'excellentes corrélations avec le CHr. Nous nous sommes basés sur des travaux récents (Thomas et Thomas 2002; Franck, Linssen et coll. 2004) qui définissent pour le Ret-He le seuil de déficit fonctionnel à 28 pg.

## Validation de la concentration sérique du RsTf comme marqueur du statut martial et de l'activité érythropoïétique

Dans notre population, la concentration sérique du RsTf est significativement corrélée à la fois aux paramètres du statut martial (ferritinémie, CST) et à un témoin d'activité érythropoïétique (numération réticulocytaire), les deux facteurs influençant de manière indépendante la concentration sérique du RsTf étant le CST et la numération réticulocytaire. Ces observations valident le RsTf comme marqueur du statut martial et de l'activité érythropoïétique. Nos résultats sont cohérents avec les mécanismes de régulation du récepteur soluble de la transferrine. En effet, le RsTf est directement proportionnel à la quantité totale de l'organisme en RTf membranaires qui dépend d'une part, de la concentration intracellulaire du fer (principalement érythroblastique) déterminant la densité membranaire en RTf et d'autre part, de la quantité d'érythroblastes liée à l'activité médullaire. Nos résultats sont aussi en accord avec ceux de la littérature. Dans leur étude multicentrique basée sur une grande population de patients anémiés, Matsuda et coll. retrouvent également une corrélation positive entre concentration sérique de RsTf et numération réticulocytaire (Matsuda, Bessho et coll. 2002). Il en est de même pour Tarng et Huang qui montrent une corrélation négative entre le RsTf et la ferritinémie ainsi qu'avec le CST. Cependant, contrairement à nos résultats, ils ne retrouvent pas de corrélation avec le taux de réticulocytes. Cette absence de corrélation pourrait être liée au fait que leurs patients n'étaient pas supplémentés en fer alors qu'ils recevaient de l'EPO (Tarng et Huang 2002). Notre travail est également en accord avec les résultats de Lorenzo, qui a étudié le RsTf et les paramètres du fer et de l'érythropoïèse chez des patients hémodialysés traités par rHu-EPO. Ils trouvent en effet une corrélation positive entre RsTf et numération réticulocytaire et négative avec le CST et la ferritinémie. En revanche, leur partie prospective, qui étudiait l'effet de l'administration de fer sur les paramètres du fer et de l'érythropoïèse, a montré que la ferritine et le CST ne montraient pas de variation significative. En revanche, le taux d'hémoglobine et le taux de réticulocytes s'élevaient de manière significative en même temps que le RsTf. Par ailleurs, les mesures ferrocinétiques (temps de demi-vie de fer radioactif), montrant une activité érythropoïétique augmentée, étaient corrélées au RsTf mais non à l'hémoglobine, ni à l'hématocrite, ni aux réticulocytes. Les auteurs en ont conclu que le RsTf était un bon paramètre de l'activité

érythropoïétique, moins contraignant que les mesures ferrocinétiques, et non un critère d'évaluation du statut martial (Lorenzo, Rodriguez et coll. 2001). Il faut cependant noter que le fer était administré par voie orale et non par voie intraveineuse alors qu'il est maintenant établi que l'absorption digestive du fer est insuffisante pour rétablir une biodisponibilité satisfaisante du fer chez les patients IRC. Pour certains auteurs, chez les patients traités par rHu-EPO et fer IV, l'augmentation de la concentration du RsTf est corrélée à l'augmentation de l'hémoglobine et de l'hématocrite, même si de manière statique, le RsTf reste significativement corrélé au CST (Chiang, Tsai et coll. 2002). D'autres auteurs ont effectué des corrélations entre la concentration sérique du RsTf et, respectivement, les marqueurs du fer et de l'activité érythropoïétique chez des adolescents atteints d'anémie ferriprive ou sains. Ils ont noté que le RsTf est un double marqueur de l'érythropoïèse et du statut martial quand les réserves en fer sont normales, mais qu'il perd sa corrélation avec l'érythropoïèse en cas de carence (Choi et Son 2005). La population qu'ils ont étudiée est cependant très différente de la notre. Chez des patients IRC hémodialysés, d'autres travaux retrouvent une corrélation positive entre RsTf et numération réticulocytaire et une négative avec les paramètres martiaux, faisant apparaître, comme nous, la double régulation du RsTf (Beerenhout, Bekers et coll. 2002).

Ainsi, nos résultats mettent en évidence la double régulation du RsTf, marqueur à la fois du statut martial et de l'activité érythropoïétique. Cependant, certaines études ont montré que dans certaines situations, selon les pathologies ou les traitements associés, le RsTf ne reflétait plus qu'un seul mécanisme. Ces résultats, nuancés, impliquent de préciser dans quelles conditions nous pouvons évaluer le statut martial par la concentration sérique du RsTf, chez les patients de notre étude (IRC hémodialysés traités à la fois par rHu-EPO et fer).

### Evaluation de la concentration sérique du RsTf comme marqueur de carence martiale

Dans notre étude, nous avons défini la carence martiale d'après les critères des recommandations françaises (AFSSAPS 2005), à savoir une ferritinémie < 100 µg/l et/ou un CST < 20 %. La première observation est que 27 % (18/66) des patients n'atteignent pas les cibles recommandées malgré un suivi biologique régulier, ce qui souligne les difficultés de la prise en charge thérapeutique de ce type de patients.

Quand nous avons comparé les concentrations sériques moyennes du RsTf de ces deux groupes, nous avons mis en évidence une concentration significativement plus élevée chez les patients carencés, ce qui suggère que le RsTf constitue un très bon marqueur de carence martiale. Ces résultats sont également en accord avec ceux de la littérature. En se basant sur les mêmes critères que nous, Fusaro retrouve la même différence significative dans leur population de sujets IRC dialysés, majoritairement traités par rHu-EPO et fer (Fusaro, Munaretto et coll. 2005). Tarng et Huang ont aussi montré dans leur population d'hémodialysés sous rHu-EPO, que la concentration sérique du RsTf était significativement plus élevée chez leurs patients carencés, la carence étant définie par une ferritinémie inférieure au 25<sup>ème</sup> percentile de leur population (48 µg/l). Ils retrouvent également une concentration sérique de RsTf plus élevée chez les patients présentant un CST diminué quand ils utilisent comme seuil le 25<sup>ème</sup> percentile (Tarng et Huang 2002). Matsuda et coll. retrouvent aussi dans leur population d'insuffisants rénaux chroniques des valeurs de RsTf et un rapport RsTf/log ferritine significativement plus élevés en cas de carence martiale. Ils notent aussi que cette différence, même si elle reste significative, diminue en cas de traitement par rHu-EPO (Matsuda, Bessho et coll. 2002). Fernandez-Rodriguez et coll., qui ont utilisé la coloration de Perls comme critère de carence martiale, ont montré que, dans leur population de dialysés, le RsTf était significativement plus élevé chez les patients carencés. En revanche, pour eux, la ferritinémie était un meilleur marqueur de la carence martiale. Mais leur étude avait exclu les patients présentant un syndrome inflammatoire et donc les situations où la ferritinémie manque de spécificité (Fernandez-Rodriguez, Guindeo-Casasus et coll. 1999). Notre étude a confirmé les données de la littérature qui valident le RsTf comme marqueur de carence martiale, y compris dans la population particulière des IRC dialysés traités par rHu-EPO et fer intraveineux.

### Marqueurs de déficit fonctionnel en fer

Dans la prise en charge de l'anémie du patient IRC dialysé, la correction d'une carence martiale absolue est nécessaire pour maintenir un taux d'hémoglobine satisfaisant. Cependant, des stocks suffisants n'empêchent pas l'apparition d'un déficit fonctionnel, qu'il soit dû à une accélération de l'érythropoïèse augmentant les besoins en fer sous rHu-EPO ou à une séquestration macrophagique en cas d'inflammation. La difficulté en pratique clinique est d'identifier ce déficit fonctionnel.

Dans notre étude, nous avons profité du nouveau paramètre mis en place au laboratoire de cytologie, le Ret-He sur l'automate Sysmex XE (Sysmex Corporation<sup>®</sup>) pour l'utiliser comme critère définissant le déficit fonctionnel pour évaluer le RsTf comme d'autres auteurs avant nous (Thomas et Thomas 2002).

Notre étude met en évidence que le déficit fonctionnel, évalué par la teneur réticulocytaire en hémoglobine, est bien mis en évidence par le RsTf. En effet, le groupe "déficit fonctionnel" a des taux de RsTf significativement plus élevés que le groupe "absence de déficit fonctionnel". Le CST est aussi significativement diminué en cas de déficit fonctionnel. La ferritine est, en revanche, un mauvais marqueur du déficit fonctionnel, sa concentration sérique ne présentant pas de différence significative entre les deux groupes. Le rapport RsTf/log ferritine que l'on retrouve dans la littérature n'apporte pas d'élément supplémentaire, il reste cependant significativement plus élevé en cas de déficit fonctionnel. La corrélation négative significative entre RsTf et Ret-He est un argument de plus pour proposer le RsTf comme marqueur de déficit fonctionnel en fer. Cette corrélation a d'ailleurs été retrouvée par d'autres auteurs (Fusaro, Munaretto et coll. 2005 ; Besarab, Amin et coll. 2000). Il faut aussi noter que le CST est significativement et positivement corrélé au Ret-He et constitue dans notre étude un bon marqueur de déficit fonctionnel. Pour Tarng et Huang qui définissent le déficit fonctionnel par un pourcentage de globules rouges hypochromes supérieur à 10 %, le RsTf est aussi significativement plus élevé en cas de carence fonctionnelle. Ces auteurs retrouvent également une corrélation forte entre le RsTf et leur paramètre définissant le déficit fonctionnel (Tarng et Huang 2002).

Les recommandations françaises et européennes hiérarchisent les paramètres du bilan martial et reconnaissent la ferritinémie comme marqueur de carence martiale absolue. Le CST est, quant à lui, un marqueur de carence fonctionnelle, comme le pourcentage de globules rouges hypochromes et la teneur réticulocytaire en hémoglobine (AFSSAPS 2005 ; Locatelli 2004). Ces derniers paramètres ne sont pourtant pas équivalents. Dans notre étude, par exemple au mois 3, 16 patients présentent un CST < 20 % contre 6 montrant un Ret-He < 28 pg. La teneur réticulocytaire serait donc plus spécifique que le CST pour le diagnostic de la carence fonctionnelle. Ce résultat rejoint celui de Fishbane qui a montré que la teneur réticulocytaire en hémoglobine était plus spécifique que le CST pour le diagnostic de carence fonctionnelle. En effet, le suivi du statut martial par le contenu

réticulocytaire en hémoglobine permettait de diminuer l'administration de fer de 40 % sans pour autant augmenter les doses de rHu-EPO (Fishbane, Shapiro et coll. 2001). La transferrine manquerait aussi parfois de sensibilité. En effet, dans l'étude de Besarab, le groupe supplémenté en fer qui avait pour cible un CST entre 30 et 50 % (groupe 1) a consommé moins de rHu-EPO que le groupe dont la cible était 20-30 % (groupe 2). Ces résultats montrent que le suivi de la supplémentation en fer selon le CST (aux cibles actuellement recommandées) ne détecte pas l'ensemble des déficits fonctionnels responsables d'une augmentation des doses d'EPO (Besarab, Amin et coll. 2000). Le gold standard pour le diagnostic du déficit fonctionnel reste pour beaucoup l'augmentation du taux d'hémoglobine (1 g/dl ou 15 %) un mois après administration parentérale de fer. Partant de ce principe, Chaing et coll. ont étudié les facteurs prédictifs de cette réponse à l'apport de fer. Pour eux, le taux de RsTf n'était pas significativement différent entre les répondeurs et les non répondeurs contrairement au CST (Chiang, Tsai et coll. 2002). Néanmoins, leurs sujets étaient traités par rHu-EPO à la dose moyenne de  $56,05 \pm 37,87$  UI/kg/semaine alors que dans notre population, la dose moyenne était  $140,7 \pm 5,9$  UI/kg/semaine. Cette différence suggère une sensibilité à l'EPO plus importante dans la population de Chiang et coll., suggérant une proportion moins importante de déficit fonctionnel. Leur étude avait aussi exclu les patients présentant un syndrome inflammatoire. Or, c'est notamment dans ce contexte que le RsTf peut présenter plus d'intérêt que la transferrine et son coefficient de saturation.

Utilisant le même gold standard, Tessitore et coll. ont évalué tous les paramètres du bilan martial, traditionnels et plus récents, comme facteurs prédictifs d'une augmentation de l'hémoglobine c'est-à-dire comme marqueurs de déficit fonctionnel chez des patients IRC hémodialysés sous rHu-EPO. Le RsTf est pour eux un bon marqueur (sensibilité = 81 % et spécificité = 71% pour un seuil à 1,5 mg/l), meilleur que le CST (sensibilité=59 % et spécificité=78 % pour un seuil à 19 %). Cependant, l'association d'un pourcentage de globules rouges hypochromes > 6 %, associé à une teneur réticulocytaire en hémoglobine < 29 pg, demeure pour eux le meilleur marqueur d'un déficit fonctionnel (Tessitore, Solero et coll. 2001). Dans notre étude, la teneur réticulocytaire en hémoglobine nous a d'ailleurs servi comme critère de référence pour définir ce déficit (déficit fonctionnel si Ret-He<28 pg). Certains auteurs ont affiné les définitions et pour eux, le véritable déficit fonctionnel doit être caractérisé à la fois par un critère de déficit fonctionnel (teneur réticulocytaire en

hémoglobine, pourcentage de globules rouges hypochromes, réponse à l'administration de fer intraveineux) et par une ferritinémie supérieure à 100 µg/l, permettant d'exclure la carence absolue. En pratique, dans notre étude, cette nuance n'a eu que peu d'importance car la carence absolue était rare (n=2 au mois 3), ce qui met en évidence le faible intérêt de la ferritinémie dans le bilan martial pour notre population.

En somme, nos résultats suggèrent qu'en cas de déficit fonctionnel, les meilleurs marqueurs seraient le récepteur soluble de la transferrine et le CST.

Il existe cependant un groupe de sujets pour lesquels nous avons observé un CST inférieur à 20 % associé à une concentration sérique de RsTf supérieure à 1,76 mg/l (seuil fourni par le laboratoire Dade Behring® d'après Van den Bosch et coll.2001). Nous nous sommes demandés quelle était la signification d'un tel bilan. Au mois 3, sur les 50 patients ayant un CST>20 %, 22 ont une concentration sérique de RsTf supérieure à 1,76 mg/l et 28, inférieure. Nous avons cherché les différences entre ces deux groupes (Tableau 11).

	<b>RsTf &gt; 1,76mg/l n=22</b>	<b>RsTf &lt; 1,76mg/l n=28</b>	<b>p Mann Whitney</b>
<b>CST</b>	0,31 ± 0,02 (0,20-0,52)	0,35 ± 0,03 (0,2-0,74)	0,37 NS
<b>Ferritinémie (µg/l)</b>	473,8 ± 48,8 (51-1077)	502,8 ± 53 (97-1006)	0,9 NS
<b>Numération Réticulocytaire (10<sup>3</sup>/l)</b>	70,36 ± 5,03 (27-110)	48,4 ± 2,58 (20-76)	0,001

**Tableau 11 : Comparaison du CST, de la ferritinémie et de la numération réticulocytaire entre le groupe "RsTf > 1,76 mg/l" et le groupe "RsTf <1,76 mg/l" parmi la population "CST > 20 %"**

Nous observons que dans ce groupe (n=50) ne présentant pas de carence selon les valeurs du CST, les patients ayant un RsTf élevé ont un taux de réticulocytes plus élevé alors que ni le CST, ni la ferritinémie ne sont significativement différents. De même, dans ce groupe de patients à CST normal, le CST n'est plus corrélé au RsTf (p=0.76 NS) contrairement aux résultats dans la population totale étudiée (n=66). Cette observation rejoint les résultats de Choi et coll., selon lesquels le RsTf est un marqueur plus spécifique de l'activité érythropoïétique en l'absence de carence en fer (Choi et Son 2005).

Nos résultats montrent, comme d'autres études, que le RsTf constitue un bon marqueur de déficit fonctionnel en fer. Dans notre population, le CST apparaît être également un bon marqueur, même si certains auteurs ont mis en évidence un manque de sensibilité et de spécificité de ce dernier. Le RsTf restant dépendant à la fois du fer et de l'érythropoïèse, il convient de définir dans quelles conditions le RsTf peut permettre d'identifier un déficit fonctionnel.

### Influence de l'inflammation sur les paramètres biologiques étudiés

Dans notre étude, nous avons choisi un seuil de CRP à 5 mg/l pour définir les sujets présentant ou non un syndrome inflammatoire. Les deux groupes ainsi définis ne présentent pas de différence significative en ce qui concerne le taux d'hémoglobine et la numération réticulocytaire. La ferritinémie tend à être significativement plus élevée dans le groupe "CRP>5 mg/l" ( $p=0,07$ ) alors que le CST est significativement diminué dans le groupe "CRP > 5 mg/l". Le RsTf, quant à lui, ne présente pas de différence significative. Ces résultats soulignent l'influence de l'inflammation sur les paramètres traditionnels du bilan martial. La transferrine est une protéine "négative" et la ferritine une protéine "positive" de l'inflammation aiguë. L'absence de significativité de la différence de la ferritinémie provient peut-être du seuil choisi. A un seuil à 3,5 mg/l, soit la limite de détection du dosage, la ferritinémie devient significativement plus élevée dans le groupe "inflammation" ( $539,42 \pm 57,42 \mu\text{g/l}$  [min 51-max 762] pour le groupe "inflammation" vs.  $365,21 \pm 38,53 \mu\text{g/l}$  [min 45-max 1892] pour le groupe "absence d'inflammation"  $p = 0,04$ ). En revanche, l'absence de variation du RsTf confirme l'indépendance de sa régulation vis-à-vis de l'inflammation. Le Ret-He, significativement plus bas dans le groupe "CRP>5mg/l", ainsi que le taux de CRP significativement plus élevé dans le groupe "déficit fonctionnel" mettent en lumière l'importance que peut avoir l'inflammation dans la composition du déficit fonctionnel. Même si ce déficit peut se développer sans inflammation, dans le cadre d'une augmentation des besoins en fer sous rHu-EPO, dans notre population d'étude, les déficits fonctionnels comportent tous une composante inflammatoire, les six sujets du groupe "déficit fonctionnel" présentant tous une concentration de CRP supérieure à 5 mg/l. Cette particularité est peut-être à rattacher à la spécificité du centre d'hémodialyse de notre étude qui suit des patients aux comorbidités importantes (diabète compliqué, athérosclérose, pathologies tumorales...).

## Evaluation des paramètres biologiques étudiés comme marqueurs de résistance à l'érythropoïétine

L'introduction de la rHu-EPO dans le traitement de l'anémie des patients IRC a amélioré profondément leur qualité de vie. Cependant, la généralisation de son utilisation a mis à jour des situations de résistance à l'EPO. Cette situation, définie par la nécessité d'utiliser des doses de rHu-EPO supérieures à 300 UI/kg/semaine, intéresse 6 de nos patients au mois 3, soit 9,1 % de la population totale et 11,3 % des patients sous rHu-EPO. Dans notre étude, nous avons voulu savoir quels paramètres du bilan biologique étaient corrélés à cette résistance. Au delà du seuil de 300 UI/kg/semaine, nous avons utilisé le rapport (doses de rHu-EPO)/(taux d'hémoglobine) pour évaluer la résistance au traitement, un rapport élevé montrant une sensibilité moins grande. Nous avons observé que la concentration sérique du RsTf était corrélée positivement de manière très significative avec la résistance à l'EPO ( $r = 0,69$  ;  $p < 10^{-4}$ ). Les autres paramètres corrélés significativement étaient le rapport RsTf/log ferritine, le CST et le Ret-He. En revanche, encore une fois, la ferritinémie n'apparaît pas corrélée ( $p=0,15$  NS). Une analyse par régression multiple a montré que les seuls paramètres influençant de manière indépendante la résistance à l'EPO sont la concentration sérique du RsTf et le Ret-He, soit les deux paramètres évaluant le déficit martial absolu et la carence fonctionnelle en fer. Dans un deuxième temps, nous nous sommes demandés quelle était l'influence de l'inflammation sur la résistance à l'EPO. Nos résultats ont montré que le taux de CRP était corrélé significativement et positivement avec la résistance à l'EPO. De plus, quand on introduit le taux de CRP dans la régression multiple, le Ret-He n'apparaît plus comme facteur indépendant et les deux seuls paramètres restants, influençant de manière indépendante la résistance à l'EPO, étaient la concentration sérique du RsTf et le taux de CRP. Ces résultats peuvent être liés au fait que dans notre population, les six patients du groupe "déficit fonctionnel" avaient tous des taux CRP élevés, la moyenne étant même significativement supérieure au reste de la population.

Nos résultats sont en accord avec ceux de la littérature. La première étude européenne ESAM sur la prise en charge de l'anémie du patient IRC retrouvait une corrélation significative entre taux de CRP et doses de rHu-EPO, ainsi que des doses utilisées significativement plus élevées pour le groupe CRP < 50mg/l par

rapport au groupe CRP > 50mg/l (Horl, Jacobs et coll. 2000). La seconde étude ESAM 2003 a, depuis, mis en évidence que les patients présentant un déficit fonctionnel (défini par ferritinémie >1 00 µg/l et CST < 20% ou pourcentage de globules rouges hypochromes > 10%) présentaient une moins bonne réponse à l'EPO que les autres (Jacobs, Frei et coll. 2005). Hackeng et coll. ont également mis en évidence dans leur population de dialysés une corrélation entre résistance à l'EPO et, respectivement, pourcentage de globules rouges hypochromes et teneur réticulocytaire en hémoglobine, deux autres marqueurs du déficit fonctionnel. Dans leur étude, la ferritinémie et le CST ne sont pas non plus des facteurs influençant de manière indépendante la résistance à l'EPO (Hackeng, Beerenhout et coll. 2004). Daschner et coll. ont également observé une corrélation positive très significative entre le RsTf et indice de résistance à l'EPO dans sa population constituée d'enfants dialysés et concluent qu'une intensification de la supplémentation en fer permettrait peut-être de diminuer les doses d'EPO et d'améliorer son action (Daschner, Mehls et coll. 1999).

## VI. BILAN ET PERSPECTIVES

La prise en charge thérapeutique de l'anémie du patient IRC hémodialysé a été révolutionnée par l'introduction de la rHu-EPO dans les années 90. Cependant, ce traitement a changé la problématique du statut martial et la balance du métabolisme du fer est passée du risque de surcharge en fer lié aux transfusions itératives au risque de carence martiale. En effet, l'érythropoïétine exogène augmente les besoins en fer au niveau médullaire et peut aboutir à un déficit fonctionnel en fer en cas de mobilisation insuffisante à partir des réserves. De plus, la présence fréquente d'un syndrome inflammatoire (membranes de dialyse bioincompatibles, comorbidités...) diminue également la biodisponibilité du fer par séquestration macrophagique et perturbe l'interprétation des marqueurs classiques du bilan martial (ferritinémie, CST). Notre étude, qui a évalué le récepteur soluble de la transferrine dans ce contexte, a confirmé les données de la littérature et montré que le RsTf était un bon marqueur de carence martiale absolue et de déficit fonctionnel en fer chez le patient IRC hémodialysé. Etant donnée la double régulation du RsTf, il reste néanmoins à déterminer dans quelles conditions ce paramètre peut être utilisé comme marqueur de carence martiale, indépendamment de l'influence de l'activité érythropoïétique, surtout chez les patients sous rHu-EPO. Il conviendra aussi de définir des valeurs usuelles chez le patient IRC dialysé en gardant à l'esprit l'absence de standard international. Enfin, la corrélation très significative de la concentration sérique du RsTf avec la résistance à l'EPO suggère d'utiliser ce paramètre pour dépister le déficit en fer, première cause de résistance à l'érythropoïétine. Nos résultats ont également montré que le CST constituait un bon marqueur de déficit fonctionnel en fer. Seul un essai randomisé comparant le suivi du statut martial selon la concentration sérique du RsTf et selon le CST permettrait de démontrer la supériorité de l'un ou l'autre même si la littérature nous prouve que le bilan martial doit comprendre plusieurs paramètres et qu'aucun ne semble suffisant à lui seul, de par la multitude des situations cliniques.

## VII. BIBLIOGRAPHIE

- AFSSAPS (2005). "Recommandations pour le traitement de l'anémie au cours de l'insuffisance rénale chronique de l'adulte."
- Andrews, N. C. (2005). "Molecular control of iron metabolism." Best Pract Res Clin Haematol 18(2): 159-69.
- Andrews, P. A. (2000). "Disorders of iron metabolism." N Engl J Med 342(17): 1293; author reply 1294.
- Beaumont, C. (2003). "L'hepcidine, un régulateur majeur du métabolisme du fer." Hématologie vol. 9(n°1): 27-36.
- Beaumont, C. (2004). "[Molecular mechanisms of iron homeostasis]." Med Sci (Paris) 20(1): 68-72.
- Beaumont, C. et F. Canonne-Hergaux (2005). "[Erythrophagocytosis and recycling of heme iron in normal and pathological conditions; regulation by hepcidin]." Transfus Clin Biol 12(2): 123-30.
- Beerenhout, C., O. Bekers, et coll. (2002). "A comparison between the soluble transferrin receptor, transferrin saturation and serum ferritin as markers of iron state in hemodialysis patients." Nephron 92(1): 32-5.
- Beguin, Y. (2001). "Intérêt du dosage du récepteur soluble de la transferrine pour l'évaluation de l'érythropoïèse et de l'état du fer." Hématologie 7(n°3 Mai Juin ): 161-169.
- Beguin, Y. (2002). "Le métabolisme du fer." Hématologie 8 (n° spécial): 7-11.
- Beguin, Y. (2003). "Soluble transferrin receptor for the evaluation of erythropoiesis and iron status." Clin Chim Acta 329(1-2): 9-22.
- Besarab, A., N. Amin, et coll. (2000). "Optimization of epoetin therapy with intravenous iron therapy in hemodialysis patients." J Am Soc Nephrol 11(3): 530-8.
- Beutler, E., A. V. Hoffbrand, et coll. (2003). "Iron deficiency and overload." Hematology (Am Soc Hematol Educ Program): 40-61.
- Brugnara, C. (1998). "Use of reticulocyte cellular indices in the diagnosis and treatment of hematological disorders." Int J Clin Lab Res 28(1): 1-11.
- Brugnara, C. (2003). "Iron deficiency and erythropoiesis: new diagnostic approaches." Clin Chem 49(10): 1573-8.

- Cadet, E., M. Gadenne, et coll. (2005). "[Advances in iron metabolism: a transition state]." Rev Med Interne 26(4): 315-24.
- Casadevall, N. (2002). "Physiopathologie des anémies inflammatoires." Hématologie vol.8, N° spécial: 13-16.
- Cattan, D. (2004). "Regulation of iron absorption: new data." EMC-Hépatologie 1: 82-97.
- Chiang, W. C., T. J. Tsai, et coll. (2002). "Serum soluble transferrin receptor reflects erythropoiesis but not iron availability in erythropoietin-treated chronic hemodialysis patients." Clin Nephrol 58(5): 363-9.
- Choi, J. W. et B. K. Son (2005). "Soluble transferrin receptor concentration is not superior to log ferritin for evaluating erythropoiesis in adolescents with iron deficiency anemia." Clin Chim Acta 355(1-2): 83-9.
- Daschner, M., O. Mehls, et coll. (1999). "Soluble transferrin receptor is correlated with erythropoietin sensitivity in dialysis patients." Clin Nephrol 52(4): 246-52.
- Drueke, T. (2001). "Hyporesponsiveness to recombinant human erythropoietin." Nephrol Dial Transplant 16 Suppl 7: 25-8.
- E.D.T.A (1999). "European best practice guidelines for the management of anaemia in patients with chronic renal failure. Working Party for European Best Practice Guidelines for the Management of Anaemia in Patients with Chronic Renal Failure." Nephrol Dial Transplant 14 Suppl 5: 1-50.
- Eschbach, J. W. (2005). "Iron requirements in erythropoietin therapy." Best Pract Res Clin Haematol 18(2): 347-61.
- Fernandez-Rodriguez, A. M., M. C. Guindeo-Casasus, et coll. (1999). "Diagnosis of iron deficiency in chronic renal failure." Am J Kidney Dis 34(3): 508-13.
- Fishbane, S., C. Galgano, et coll. (1997). "Reticulocyte hemoglobin content in the evaluation of iron status of hemodialysis patients." Kidney Int 52(1): 217-22.
- Fishbane, S., W. Shapiro, et coll. (2001). "A randomized trial of iron deficiency testing strategies in hemodialysis patients." Kidney Int 60(6): 2406-11.
- Fisher, J. W. (2003). "Erythropoietin: physiology and pharmacology update." Exp Biol Med (Maywood) 228(1): 1-14.
- Franck, S., J. Linssen, et coll. (2004). "Potential utility of Ret-Y in the diagnosis of iron-restricted erythropoiesis." Clin Chem 50(7): 1240-2.

- Fusaro, M., G. Munaretto, et coll. (2005). "Soluble transferrin receptors and reticulocyte hemoglobin concentration in the assessment of iron deficiency in hemodialysis patients." J Nephrol 18(1): 72-9.
- Gaillard, T., E. Fontan, et coll. (2001). "[Laboratory study of a new marker of iron deficiency diagnosis: the soluble transferrin receptor]." Ann Biol Clin (Paris) 59(5): 632-5.
- Galacteros, F. (2000). "[Secondary iron overload]." Rev Prat 50(9): 983-7.
- Ganz, T. (2005). "Hepcidin--a regulator of intestinal iron absorption and iron recycling by macrophages." Best Pract Res Clin Haematol 18(2): 171-82.
- Gidenne, S., F. Ceppa, et coll. (2000). "[Biological monitoring of chronic hemodialysis]." Ann Biol Clin (Paris) 58(6): 663-74.
- Giraudet, P. (1999). "Le récepteur soluble de la transferrine: du métabolisme à l'intérêt clinique." Revue Française des Laboratoires avril 1999, n° 312: 99-105
- Goodnough, L. T., B. Skikne, et coll. (2000). "Erythropoietin, iron, and erythropoiesis." Blood 96(3): 823-33.
- Hackeng, C. M., C. M. Beerenhout, et coll. (2004). "The relationship between reticulocyte hemoglobin content with C-reactive protein and conventional iron parameters in dialysis patients." J Nephrol 17(1): 107-11.
- Horl, W. H., C. Jacobs, et coll. (2000). "European best practice guidelines 14-16: inadequate response to epoetin." Nephrol Dial Transplant 15 Suppl 4: 43-50.
- Hudson, J. Q. et T. J. Comstock (2001). "Considerations for optimal iron use for anemia due to chronic kidney disease." Clin Ther 23(10): 1637-71.
- Jacobs, C., D. Frei, et coll. (2005). "Results of the European Survey on Anaemia Management 2003 (ESAM 2003): current status of anaemia management in dialysis patients, factors affecting epoetin dosage and changes in anaemia management over the last 5 years." Nephrol Dial Transplant 20 Suppl 3: iii3-24.
- Kalantar-Zadeh, K., R. A. Rodriguez, et coll. (2004). "Association between serum ferritin and measures of inflammation, nutrition and iron in haemodialysis patients." Nephrol Dial Transplant 19(1): 141-9.
- Kaltwasser, J. P. et R. Gottschalk (1999). "Erythropoietin and iron." Kidney Int Suppl 69: S49-56.

- Kessler, M. (2004). "Traitement martial du patient en insuffisance rénale chronique terminale." *Actualités néphrologiques 2004*, éditions Flammarion
- Kohgo, Y., Y. Niitsu, et coll. (1987). "Serum transferrin receptor as a new index of erythropoiesis." *Blood* 70(6): 1955-8.
- Kohgo, Y., T. Nishisato, et coll. (1986). "Circulating transferrin receptor in human serum." *Br J Haematol* 64(2): 277-81.
- Labbe, R. F. et A. Dewanji (2004). "Iron assessment tests: transferrin receptor vis-a-vis zinc protoporphyrin." *Clin Biochem* 37(3): 165-74.
- Locatelli, F. (2004). "Revised European Best Practice Guidelines for the Management of Anaemia in Patients with Chronic Renal Failure." *Nephrol. Dial. Transplant* 19, suppl. 2.
- Loreal, O., M.-B. Troadec, et coll. (2002). *Le métabolisme du fer : De nouveaux gènes pour des pathologies historiques*. J. d. d. 2002.
- Lorenzo, J. D., M. M. Rodriguez, et coll. (2001). "Assessment of erythropoiesis activity during hemodialysis therapy by soluble transferrin receptor levels and ferrokinetic measurements." *Am J Kidney Dis* 37(3): 550-6.
- Macdougall, I. C. et A. C. Cooper (2002). "Erythropoietin resistance: the role of inflammation and pro-inflammatory cytokines." *Nephrol Dial Transplant* 17 Suppl 11: 39-43.
- Macdougall, I. C., W. H. Horl, et coll. (2000). "European best practice guidelines 6-8: assessing and optimizing iron stores." *Nephrol Dial Transplant* 15 Suppl 4: 20-32.
- Mast, A. E., M. A. Blinder, et coll. (2002). "Clinical utility of the reticulocyte hemoglobin content in the diagnosis of iron deficiency." *Blood* 99(4): 1489-91.
- Matsuda, A., M. Bessho, et coll. (2002). "Diagnostic significance of serum soluble transferrin receptors in various anemic diseases: the first multi-institutional joint study in Japan." *Haematologia (Budap)* 32(3): 225-38.
- NKF-DOQI (1997 ). " NKF-DOQI clinical practice guidelines for the treatment of anemia of chronic renal failure. National Kidney Foundation-Dialysis Outcomes Quality Initiative." *Am J Kidney Dis* Oct;30(4 Suppl 3) S192-240.
- Ponka, P. et C. N. Lok (1999). "The transferrin receptor: role in health and disease." *Int J Biochem Cell Biol* 31(10): 1111-37.

- Royer, B. and M. Arock (1998). "[Therapeutic use of hematopoietic growth factors. I. Erythropoietin et thrombopoietin]." Ann Biol Clin (Paris) 56(2): 143-52.
- Sébahoun, G. (2004). Hématologie clinique et biologique. éditions Arnette
- Tarng, D. C. et T. P. Huang (2002). "Determinants of circulating soluble transferrin receptor level in chronic haemodialysis patients." Nephrol Dial Transplant 17(6): 1063-9.
- Tessitore, N., G. P. Solero, et coll. (2001). "The role of iron status markers in predicting response to intravenous iron in haemodialysis patients on maintenance erythropoietin." Nephrol Dial Transplant 16(7): 1416-23.
- Thomas, C. et L. Thomas (2002). "Biochemical markers and hematologic indices in the diagnosis of functional iron deficiency." Clin Chem 48(7): 1066-76.
- Tsuchiya, K., H. Okano, et coll. (2003). "Content of reticulocyte hemoglobin is a reliable tool for determining iron deficiency in dialysis patients." Clin Nephrol 59(2): 115-23.
- Van den Bosch, G., J. Van den Bossche, et coll. (2001). "Determination of iron metabolism-related reference values in a healthy adult population." Clin Chem 47(8): 1465-7.
- Vernet, M. (1999). "[The transferrin receptor: its role in iron metabolism and its diagnosis utility]." Ann Biol Clin (Paris) 57(1): 9-18.
- Vernet, M. (2000). "[Assessment of iron status]." Rev Prat 50(9): 950-6.
- Vernet, M., J. Corberand, et coll. (2001). "[Recommended algorithms of prescription in the diagnosis of iron deficiency and overload]." Ann Biol Clin (Paris) 59(2): 149-55.
- Vyoral, D. et J. Petrak (2005). "Hepcidin: a direct link between iron metabolism and immunity." Int J Biochem Cell Biol 37(9): 1768-73.
- Wagner, A. (2000). "Le rôle du laboratoire dans l'exploration du métabolisme du fer." Revue de l'ACOMEN vol.6(n°1): 23-27.
- Worwood, M. (1997). "The laboratory assessment of iron status--an update." Clin Chim Acta 259(1-2): 3-23.
- Zermati, Y. (2003). "Régulation de l'érythropoïèse: Applications physiopathologiques en néphrologie." Flammarion Médecine-Sciences -- Actualités néphrologiques 2003.

## VIII.ANNEXES

Corrélation entre RsTf et	MOIS 1	MOIS 2	MOIS 3	MOIS 4	MOIS 5
Hémoglobine	NS	NS	0,02 (-0,285)	NS	NS
Réticulocytes	0,005 (0,36)	0,06 (0,23)	0,001 (0,397)	0,03 (0,286)	0,002(0,416)
Ret-He	0,001 (-0,41)	<0,0001 (-0,522)	0,0009 (-0,41)	0,0008 (-0,436)	0,001 (-0,418)
Transferrine	0,01 (0,32)	0,02 (0,292)	NS	NS	NS
CST	<0,0001 (-0,52)	<0,0001 (-0,613)	0,007 (-0,336)	<0,0001 (-0,553)	0,0008 (-0,437)
Ferritine	0,001 (-0,42)	0,003 (-0,373)	0,04 (-0,255)	NS	NS

Annexe 1 : Corrélation entre concentration sérique du RsTf et principaux paramètres étudiés

Carence martiale		effectifs	Moyenne mg/l	Min mg/l	Max mg/l	déviaton standard	erreur standard	p Mann Whitney
RsTf 1	carence=0	44	1,5766	0,69	2,46	0,431	0,065	0,0002
	carence=1	19	2,3384	1,13	3,86	0,7556	0,1733	
RsTf2	carence=0	49	1,6714	0,77	3,44	0,5554	0,0793	<0,0001
	carence=1	17	2,6324	1,51	3,69	0,6726	0,1631	
RsTf3	carence=0	48	1,799	0,87	3,62	0,6621	0,0956	0,001
	carence=1	18	2,2856	1,58	3,31	0,4774	0,1125	
RsTf4	carence=0	48	1,7183	0,89	3,34	0,5258	0,0759	0,002
	carence=1	13	2,2623	1,36	3,39	0,5538	0,1536	
RsTf5	carence=0	53	1,7683	0,81	4,19	0,6696	0,092	0,2012 NS
	carence=1	7	2,0286	1	2,74	0,6289	0,2377	

Annexe 2 : Comparaison des concentrations sériques moyennes du RsTf entre le groupe carencé et le groupe non carencé

Déficit fonctionnel		effectifs	moyenne	min	max	déviati standard	erreur standard	p Mann Whitney
RsTf1 (mg/l)	def fonct =0	56	1,6809	0,69	2,81	0,508	0,0679	0,001
	def fonct =1	7	2,81	7,71	3,86	0,7998	0,3023	
RsTf2	def fonct =0	60	1,8585	0,77	1,8585	0,7011	0,0905	0,03
	def fonct =1	6	2,5233	1,56	3,34	0,6772	0,2765	
RsTf3	def fonct =0	60	1,874	0,87	3,62	0,6384	0,0824	0,02
	def fonct =1	6	2,5083	1,87	3,31	0,5168	0,211	
RsTf4	def fonct =0	59	1,8046	0,89	3,39	0,5465	0,0711	0,10NS
	def fonct =1	2	2,71	2,08	3,34	0,891	0,63	
RsTf5	def fonct =0	57	1,7828	0,081	4,19	0,6545	0,0867	0,05
	def fonct =1	2	2,65	2,56	2,74	0,1273	0,09	
Sat Tf1	def fonct =0	59	0,3188	0,08	1	0,1848	0,0241	0,03
	def fonct =1	7	0,1871	0,08	0,38	0,1092	0,0413	
Sat Tf2	def fonct =0	61	0,3059	0,08	0,69	0,1293	0,0166	0,002
	def fonct =1	6	0,15	0,07	0,23	0,0651	0,0266	
Sat Tf3	def fonct =0	60	0,303	0,09	0,74	0,1273	0,0164	0,0004
	def fonct =1	6	0,1367	0,08	0,18	0,0403	0,0165	
Sat Tf4	def fonct =0	60	0,3015	0,1	0,68	0,1227	0,0158	0,2
	def fonct =1	2	0,18	0,1	0,26	0,1131	0,08	
Sat Tf5	def fonct =0	59	0,3666	0,16	1,04	0,1589	0,0207	0,02
	def fonct =1	2	0,17	0,15	0,19	0,0283	0,02	

Rétic1 (10 <sup>3</sup> /μl)	def fonct =0	59	60,678	10	117	21,9218	2,854	0,0978 NS
	def fonct =1	7	74,5714	38	101	21,7704	8,2285	
Rétic2	def fonct =0	59	63,9153	21	130	25,6423	3,3383	0,2297 NS
	def fonct =1	6	70,6667	49	84	12,8167	5,2324	
Rétic3	def fonct =0	61	59,377	20	126	22,522	2,8836	0,2628 NS
	def fonct =1	6	67,5	48	90	18,0748	7,379	
Rétic4	def fonct =0	63	61,5714	22	128	23,6757	2,9829	0,6081 NS
	def fonct =1	2	67,5	52	83	21,9203	15,5	
Rétic5	def fonct =0	59	62,339	24	118	24,0148	3,125	0,5170 NS
	def fonct =1	2	49,5	38	61	16,2635	11,5	

Déficit fonctionnel		effectifs	moyenne	min	max	déviations standard	erreurs standard	p Mann Whitney
Ferritinémie 1 (µg/l)	def fonct =0	59	424,678	20	1549	279,864	36,4325	0,0423
	def fonct =1	7	350	20	1660	592,141	223,808	
Ferritinémie 2	def fonct =0	61	451,656	27	1176	288,673	36,9608	0,035
	def fonct =1	6	219	73	400	147,694	60,2959	
Ferritinémie 3	def fonct =0	60	459,367	45	1077	258,105	33,3212	0,3155 NS
	def fonct =1	6	527	65	1892	676,967	276,37	
Ferritinémie 4	def fonct =0	60	423,783	88	978	212,267	27,4035	0,7199 NS
	def fonct =1	2	567	217	917	494,975	350	
Ferritinémie 5	def fonct =0	59	477,168	61	1145	239,973	21,2418	0,073 NS
	def fonct =1	2	174	157	191	24,0416	17	

RsTf/log ferritine 1	def fonct =0	56	0,7018	0,2978	2,1137	0,3161	0,0422	p=0,005
	def fonct =1	7	0,462	0,531	2,9669	0,8499	0,3212	
RsTf/log ferritine 2	def fonct =0	60	0,7739	0,3382	2,5498	0,4228	0,0546	p=0,03
	def fonct =1	6	1,1702	0,6	1,5955	0,4404	0,1798	
RsTf/log ferritine 3	def fonct =0	60	0,7449	0,385	1,4374	0,2859	0,0369	p=0,03
	def fonct =1	6	1,0569	0,5707	1,5886	0,3686	0,1505	
RsTf/log ferritine 4	def fonct =0	59	0,714	0,3306	1,4245	0,2414	0,0314	p=0,2 NS
	def fonct =1	2	1,0658	0,7021	1,4295	0,5143	0,3637	
RsTf/log ferritine 5	def fonct =0	57	0,6949	0,3758	2,0029	0,2901	0,0384	p=0,03
	def fonct =1	2	1,1835	1,1658	1,2012	0,025	0,0177	

Annexe 3 : Comparaison des moyennes des différents paramètres étudiés entre le groupe "déficit fonctionnel" et le groupe "absence de déficit fonctionnel"

MOUCHERE, Anthony, Gilles, Philippe

Le récepteur soluble de la transferrine : Intérêt dans le diagnostic de la carence martiale chez le patient insuffisant rénal chronique hémodialysé.

---

Le récepteur soluble est apparu comme un nouveau marqueur du statut martial évaluant spécifiquement la biodisponibilité du fer. Nous l'avons étudié dans une population de patients IRC hémodialysés chez qui le bilan martial classique (ferritine, CST) est parfois pris en défaut par l'existence d'un déficit fonctionnel lié à des besoins en fer augmentés sous rHu-EPO ou à une inflammation. Notre travail a montré que le RsTf constituait un très bon marqueur de la carence martiale, du déficit fonctionnel en fer et de la résistance à l'EPO, cette dernière étant le plus souvent due à un déficit en fer. Cependant, nos résultats montrent que le RsTf est également un marqueur de l'activité érythropoïétique. D'autres études sont maintenant nécessaires afin 1/ de préciser les valeurs seuils du RsTf permettant d'affirmer une carence martiale et/ou une résistance à l'EPO et 2/ de déterminer les conditions dans lesquelles il peut constituer un marqueur de carence martiale, indépendamment de l'activité érythropoïétique, chez l'IRC dialysé.

---

**MOTS-CLES :** RECEPTEUR SOLUBLE DE LA TRANSFERRINE

INSUFFISANCE RENALE CHRONIQUE

DEFICIT FONCTIONNEL EN FER

RÉSISTANCE A L'ERYTHROPOÏÉTINE

---

**JURY**

**Président :** M. Jean-Marie BARD, Professeur de Biochimie  
UFR de Pharmacie de Nantes

**Assesseurs :** M. Patrick LUSTENBERGER, Professeur de Biochimie  
UFR de Médecine de Nantes  
Mme Michèle DENIS, Praticien Hospitalier  
Service de Biochimie, CHU de Nantes  
Mme Marie-Geneviève MOUTEL, Praticien Hospitalier  
Service de Néphrologie, secteur Hémodialyse, CHU de Nantes  
Mme Kalyane BACH-NGOHOU, Assistant Hospitalo-Universitaire  
Service de Biochimie, CHU de Nantes

---

**Adresse de l'auteur :** 20, Avenue des roitelets 44800 SAINT HERBLAIN