



HAL
open science

Évaluation de la concentration de la parathormone, de la 25-hydroxyvitamine D et de l'érythropoïétine chez les insuffisants rénaux chroniques et les patients hémodialysés adultes

Roméo Maxime Kouadio

► **To cite this version:**

Roméo Maxime Kouadio. Évaluation de la concentration de la parathormone, de la 25-hydroxyvitamine D et de l'érythropoïétine chez les insuffisants rénaux chroniques et les patients hémodialysés adultes. Sciences du Vivant [q-bio]. Université Félix Houphouët-Boigny (Abidjan, Côte d'Ivoire), 2022. Français. NNT : . tel-04191869

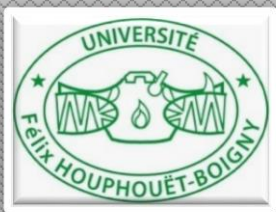
HAL Id: tel-04191869

<https://hal.science/tel-04191869>

Submitted on 30 Aug 2023

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

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



REPUBLIQUE DE COTE
D'IVOIRE
Union-Discipline-Travail

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique



Laboratoire de Biologie et Santé

Année Universitaire
2021-2022

THESE

Présentée pour l'obtention du Titre de Docteur de
l'Université Félix HOUPHOUËT- BOIGNY

Spécialité : Biologie Fonctionnelle et Moléculaire

KOUADIO Maxime Roméo

Numéro d'ordre
2553 / 2022

EVALUATION DE LA CONCENTRATION DE LA PARATHORMONE, DE LA 25-HYDROXYVITAMINE D ET DE L'ERYTHROPOÏËTINE CHEZ LES INSUFFISANTS RENAUX CHRONIQUES ET LES PATIENTS HEMODIALYSES ADULTES

Commission du jury

M. YAPO Adou Francis	Professeur Titulaire	UFHB	Président
M. DJAMAN Allico Joseph	Professeur Titulaire	UFHB	Directeur
M. YEO Dodéhé	Maître de Conférences	UFHB	Rapporteur
M. YASSONGUI M. Sékongo	Maître de Recherches	CNTS	Rapporteur
Mme. SAWADOGO Duni	Professeur Titulaire	UFHB	Examineur

Soutenue publiquement
le 29/06/2022



DEDICACES

A mon père **Koffi Kouadio Valentin**

A ma mère **Mme Koffi née Kouassi Adjoua Honorine**

Pour votre amour, vos prières et votre soutien. Vous êtes mon plus grand miracle. Merci pour m'avoir inculqué le goût du travail et la force de toujours avancer. Je vous aime et je ne pense pas avoir meilleurs parents que vous.

A mes frères et sœurs,

Kouadio Célestin, Cher aîné, merci du fond du cœur pour tes conseils, ta grande générosité et ton implication dans tout mon parcours scolaire et universitaire.

Kouadio Hermann, Kouadio Henri-Joël, Kouadio Olivier, Agoh Blandine et Kouadio Syntyche, merci pour tous vos encouragements, votre dévouement, votre tendresse et vos prières à mon endroit. Merci d'être toujours présents à mes côtés pour me rassurer quelle que soit la situation.



AVANT-PROPOS

L'incidence et la prévalence croissante (augmentation de 29,3 % entre 1990 et 2017) de l'insuffisance rénale chronique (IRC), le coût élevé de son traitement et ses effets indésirables sont des problèmes de santé publique majeurs dans le monde. Cependant, c'est une maladie méconnue, insidieuse, avec peu de symptômes spécifiques. Au cours de l'insuffisance rénale, il se développe de nombreuses complications. Les anomalies du métabolisme minéral et osseux sont importantes et accompagnées d'une morbi-mortalité non négligeable. La régulation du métabolisme phosphocalcique est soumise à un contrôle particulièrement précis et complexe de la parathormone (PTH) et de la vitamine D (25-hydroxyvitamine D). Le défaut d'activation de la vitamine D est à l'origine d'une hyperparathyroïdie secondaire. Les complications de l'insuffisance rénale chronique sont également dues à un déficit de synthèse de l'érythropoïétine (EPO). C'est une fonction importante du rein très souvent méconnue. La surveillance de ces paramètres (PTH, vitamine D et EPO) est très importante car, d'elles dépendent par la suite la sévérité des anomalies constatées ainsi que la vitesse de progression de cette pathologie. Notre étude vise à contribuer à une meilleure prise en charge de l'insuffisance rénale chronique.

Ce travail a été mené au sein de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI), en collaboration avec le laboratoire de Biologie-Santé de l'UFR Biosciences de l'Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan.



REMERCIEMENTS

Que de personnes rencontrées pendant cette thèse et de moments partagés dont je ne pourrais tout retranscrire ici, mais je garderai en moi, soyez en sûr, de bon souvenir.

Au Président de l'Université Félix Houphouët-Boigny de Cocody, le Professeur **BALLO Zié** et au Doyen de l'UFR Biosciences, le Professeur **KOUAMELAN Essétchi Paul**. Je voudrais vous exprimer toute ma gratitude pour avoir autorisé la réalisation de ce projet de Thèse.

A Monsieur **YAPI Ahoua**, Professeur Titulaire de Parasitologie et Directeur du Laboratoire de Biologie et Santé de l'UFR Biosciences (UFHB), je vous remercie de votre disponibilité et de vos précieux conseils.

Qu'il me soit permis d'exprimer ma profonde reconnaissance et ma gratitude à Madame **DOSSO Mireille**, Professeur titulaire de Bactériologie-Virologie, Directrice de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI). Merci pour l'opportunité que vous m'avez donné d'effectuer mes travaux de recherche dans cette institution dont la renommée dépasse les frontières de notre pays.

A Monsieur **DJAMAN Allico Joseph**, Professeur Titulaire de Biochimie-Parasitologie à l'Université Félix Houphouët-Boigny, UFR Biosciences, Laboratoire de Biologie et Santé, Responsable de l'Unité Pédagogique et de Recherche (UPR) Pharmacodynamie-Biochimique. Chef du Département de Biochimie médicale et fondamentale de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI). Merci d'avoir bien voulu accepter la direction de cette thèse sans même me connaître et de vous être impliqué personnellement pour ma démarche d'équivalence. Je vous suis reconnaissant pour votre contribution scientifique à cette thèse. Malgré votre emploi du temps chargé, vous avez toujours été disponible pour nous orienter tout au long de ce travail. Vos encouragements, même étant à l'extérieur de la Côte d'Ivoire nous ont fait prendre conscience de la confiance placée en nous, de l'amour du travail et nous ont donné la force de poursuivre nos travaux de recherche. Merci pour votre rigueur, votre humilité et votre patience en notre endroit. J'ai surtout apprécié la grande liberté d'action, celle de pouvoir donner mon avis et particulièrement le fait de pouvoir apprendre à vos côtés.

J'exprime ma reconnaissance et ma gratitude à Monsieur **YAPO Adou Francis**, Professeur Titulaire de Biochimie-Pharmacologie au Laboratoire de Biologie et Santé à l'Université Félix Houphouët-Boigny, UFR Biosciences. Mon inscription en thèse a été possible grâce à vous, je vous dois beaucoup. Même si les nouvelles dispositions de l'UFR Biosciences n'ont pas permis de poursuivre le co-encadrement, je vous suis totalement reconnaissant. Votre simplicité, votre rigueur et dynamisme ont été toujours pour moi une source de motivation. Merci pour l'honneur que vous me faites en acceptant de présider ce jury de thèse.

A Monsieur **YEO Dodéhé**, Maître de Conférences de Biochimie-Pharmacologie au Laboratoire de Biologie et Santé à l'Université Félix Houphouët-Boigny, UFR Biosciences. Merci Cher Maître pour votre courtoisie, votre disponibilité ; merci de prendre part au jury de thèse. Je vous suis infiniment reconnaissant pour le temps consacré à la lecture de tout ce travail en qualité de rapporteur. Je vous remercie pour vos remarques pertinentes et vos conseils précieux qui m'ont beaucoup aidés à améliorer la qualité de ce travail. Soyez assuré, Cher Maître, de mon estime et de ma profonde gratitude.

A Monsieur **YASSONGUI Mamadou Sékongo**, Médecin, Maître de Recherches en Hématologie au Centre National de Transfusion Sanguine. Permettez-moi de vous exprimer toute ma gratitude pour la spontanéité et l'amabilité avec lesquelles vous avez accepté de juger ce travail en qualité de rapporteur. Merci Cher Maître pour le temps consacré à la lecture de cette thèse et pour les suggestions ainsi que les remarques judicieuses que vous m'avez indiquées. Veuillez trouver ici, Cher Maître le témoignage de ma grande reconnaissance et de mon profond respect.

A Madame **SAWADOGO Duni**, Professeur Titulaire en Hématologie à l'Université Félix Houphouët-Boigny, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques. Je suis infiniment sensible à l'honneur que vous nous faites en acceptant de participer au jury de cette thèse, en tant qu'examinateur. Veuillez trouver ici, Chère Maître, le témoignage de notre grande estime et de notre sincère reconnaissance.

Je ne saurais poursuivre sans toutefois exprimer ma profonde gratitude à Madame **AGBO Edith**, Maître de conférences de Biochimie à l'UFR des Sciences et Technologie des Aliments à l'Université Nangui Abrogoua. Merci pour avoir contribué énormément à ma formation académique. Votre rigueur et honnêteté sans omettre vos précieux conseils ont toujours trouvé leur utilité tout au long de ce travail. Après mon master, c'est bien vous qui m'avez donné l'opportunité de pouvoir rencontrer le professeur Djaman et la suite fut favorable. Je ne vous oublierai pas, merci pour tout.

Je suis spécialement reconnaissant à Madame **BOYVIN Lydie**, Médecin, Chargée de recherche à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, Responsable de l'Unité de Biochimie clinique et d'hémobiologie du Département de Biochimie médicale et fondamentale de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire. Merci pour votre patience, votre ouverture d'esprit et votre grande implication tout au long de ce travail. Vous avez jour après jour guidé nos pas dans la réalisation de nos travaux de Recherche. Votre précieux appui scientifique nous a été d'un grand soutien lors de la rédaction des articles scientifiques et de ce mémoire de thèse. Merci pour ce transfert de connaissance et d'apprentissage dont j'ai bénéficié.

Je remercie également l'ensemble du corps Enseignant de l'Unité Pédagogique et de Recherche (UPR) l'ex-Laboratoire de Pharmacodynamie-Biochimique de l'UFR Biosciences pour l'encadrement et le soutien pendant ma formation académique.

1- Professeurs Titulaires

Monsieur DJAMAN A. Joseph^{Directeur de UPR}
Monsieur BIDIE A. Dit Philippe
Monsieur COULIBALY Adama
Monsieur N'GUESSAN J. David
Monsieur YAPI H. Félix
Monsieur YAPO A. François

4 Maîtres-Assistants

Monsieur AHUA Maximin
Monsieur KOUASSI K. Serge
Monsieur OUATTARA Sitapha
Monsieur KOUASSI Konan
Monsieur PAKORA Gilles Alex
Madame AGRE J. Épse KOUADIO

2 Maîtres de Conférences

Monsieur BAGRE Issa
Monsieur BAH I Calixte
Monsieur BLA K. Brice
Monsieur KRA Adou Koffi M.
Monsieur TREBISSOU Johnson Noël
Monsieur YEO Dodéhé
Madame THES P. M. Épse SOUMAHORO

5- Chargés de Recherche

Monsieur AKAPO-AKUE Joël
Madame LUTTY A. Constance

3 Maîtres de Recherche

Monsieur KIPRE Rolland

6-Assistants

Monsieur BAMB A Abou
Monsieur DAGNOGO Oléfongo
Monsieur YOUAN Gouanda Pascale

Je remercie Monsieur **N'GUESSAN Jean David**, Professeur Titulaire de Biochimie et Vice Doyen chargé de la recherche à l'UFR Biosciences. Merci pour votre disponibilité et vos conseils.

Je remercie Madame **EDJEME-AKE N'Guessan Angèle**, Maître de Conférences Agrégée de Biochimie au Département de Biochimie et de Biologie moléculaire de l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques à l'Université Félix Houphouët-Boigny. Je vous remercie pour vos remarques pertinentes lors de mes manipulations et votre simplicité qui favorise les échanges sur divers sujets. En l'absence du professeur Djaman, c'est vous qui m'avez donné l'autorisation de débiter mon stage au Département de Biochimie de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire.

A Messieurs **MEITE Souleymane** et **M'BOH Gervais** Maître de recherche sans oublier **N'Guessan Marie Florence** Attachée de recherche, je vous adresse mes sincères remerciements pour la contribution scientifique que vous avez apportée à cette thèse.

Mes sincères remerciements à toutes les personnes qui m'ont aidé pour mon échantillonnage :

Monsieur **GNIONSAHE Appolinaire**, Professeur Titulaire en Néphrologie, Directeur Général du Centre National de Prévention et de Traitement de l'Insuffisance Rénale (CNPTIR),

Monsieur **ABLE Emmanuel**, néphrologue ; **Mr DAGO Maurice**, ingénieur biomédical et tout le personnel du CNPTIR,

Monsieur **YAYO Eric**, Maître de Conférences Agrégé en Biochimie, Directeur du laboratoire du SAMU et **Mr SEKI Frand** ingénieur biologiste,

Monsieur **ACKOUNDOU-N'GUESSAN**, Professeur Titulaire en Néphrologie, Chef d'unité de Néphrologie du CHU de Cocody ainsi que Madame **LAGOU Delphine**, Maître de Conférences Agrégé en Néphrologie,

Monsieur **KOUASSI Dominique**, néphrologue à l'hôpital générale d'Adjamé,

Monsieur **KOUAME Hubert**, Chef d'unité de Néphrologie du CHU de Treichville.

Vous m'avez permis de recruter les patients dans vos différents services, Merci pour votre précieuse aide et votre disponibilité.

Au Département de Biochimie médicale et fondamentale

Je ne saurais poursuivre sans toutefois exprimer ma profonde gratitude aux Docteurs **YAYE Guillaume**, **BAHI Alexis**, **KOUDOU Carole**, **AYECOUE Eric**, **SERI Kipré**, **N'ZI Sylvère**, **AKE Jeanne**. Merci pour vos remarques, suggestions et encouragement lors de mes travaux de recherches.

Un grand MERCI à Madame **GNON Edwige**, Assistante de Direction, ses stagiaires et les techniciens messieurs **SAWADOGO Issiaka**, **SOMPLEI Michel**, **KONAN Jules**, **KOUASSI Jean-Philippe** pour votre contribution au niveau des procédures administratives puis dans la réalisation des analyses de ces travaux de recherche.

Aux Doctorants du Département, mes compagnons de tous les jours **N'GUESSAN Jean Luc**, **KOULAI Diane**, **EKISSI Amos**, **N'DOCHO Fiacre**, **COULIBALY Tatiana** et aux Docteurs **BEDOU**, **TCHAKO**, **TAMBOURA**, **GAUZ**. Merci pour votre précieuse aide et pour tous ces moments de partage, de convivialité et d'échanges constructifs pendant ce stage.

A tous mes frères et sœurs de l'église et spécifiquement **DJE Emmanuelle**, **LOUKOU Amos**, **KOUADIO Brice**, **DEMBELE Laura**, **KOUAKOU Jérôme**, **M'BRA Junior**, **N'DRI Adelle**, **KOUADIO Nadège**, **KONAN Ida** merci pour votre soutien spirituel et vos encouragements.

Je suis très reconnaissant à tous les patients insuffisants rénaux qui ont participé à mon projet de Recherche. Merci pour votre inestimable aide. Que Dieu Tout-Puissant vous assiste chaque jour.

Aux témoins volontaires, merci d'avoir accepté de donner votre consentement pour cette étude.
« Que Dieu vous accorde une santé de fer ! ».

A tous mes amis particulièrement **KOUAKOUA Elisée**, **KOUADIO Larissa**, **ETCHE Pierre**, **ZUO BI Eric**, **KOUAME Delphin**, **ASSOUMOU Pamela**, **DIARRA Seydou**. Merci pour votre soutien inconditionnel et vos conseils avisés.

A toutes les personnes qui de près ou de loin m'ont apporté une aide quelconque que je n'ai pas pu citer ici, recevez mes sincères remerciements et ma profonde gratitude.



TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS	XV
LISTE DES FIGURES	XVIII
LISTE DES TABLEAUX	XX
INTRODUCTION.....	1
I-REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	5
I.1 RAPPEL ANATOMO-PHYSIOLOGIQUE DU REIN.....	6
I.1.1 Embryologie et Anatomie du rein.....	6
I.1.1.1 Embryologie du rein	6
I.1.1.2 Anatomie du rein.....	6
I.1.1.2.1 Rappel général sur le rein	6
I.1.1.2.2 Vascularisation rénale	8
I.1.1.2.3 Néphron.....	8
I.1.2 Fonctions du rein.....	10
I.1.2.1 Fonctions excrétrices	10
I.1.2.2 Fonctions endocrines	11
I.2 INSUFFISANCE RENALE CHRONIQUE	12
I.2.1 Définition	12
I.2.2 Epidémiologie	12
I.2.3 Etio-pathogenie de l'insuffisance rénale chronique.....	12
I.2.4 Diagnostics de l'insuffisance rénale chronique	13
I.2.4.1 Diagnostic clinique	13
I.2.4.2 Diagnostic Biologique	14
I.2.4.3 Diagnostic étiologique	14
I.2.5 Traitement	14
I.3 PARATHORMONE	16
I.3.1 Origine - Structure - Biosynthèse	16
I.3.2 Sécrétion - Distribution - Catabolisme	20
I.3.3 Récepteurs de la parathormone	20
I.3.4 Mode d'action de la parathormone	21
I.4 VITAMINE D	22
I.4.1 Origine - Structure - Biosynthèse	22
I.4.2 Métabolisme-Régulation.....	26
I.4.3 Récepteurs de la vitamine D	27
I.4.4 Mode d'action de la vitamine D.....	27

I.5 ERYTHROPOÏËTINE.....	28
I.5.1 Origine - Structure - biosynthèse	28
I.5.2 Métabolisme de l'érythropoïétine	28
I.5.3 Récepteurs de l'érythropoïétine	31
I.5.4 Mode d'action de l'érythropoïétine	33
II-MATERIEL ET METHODES	35
II.1 LIEU ET TYPE D'ETUDE.....	36
II.2 POPULATION D'ETUDE.....	36
II.2.1 Critères de sélection des sujets	36
II.2.2 Taille de l'échantillon.....	37
II.2.3 Aspect éthique	37
II.3 MATERIEL	37
II.3.1 Matériel biologique.....	37
II.3.2 Matériel technique	38
II.3.2.1 Appareillage.....	38
II.3.2.2 Petit matériel.....	38
II.3.3 Réactifs	38
II.4 METHODES	39
II.4.1 Accueil des patients	39
II.4.2 Recueil et traitement des échantillons	39
II.4.3 Stade de la maladie chez les insuffisants rénaux chroniques	40
II.4.4 Méthodes de dosage des marqueurs hématologiques	40
II.4.5 Méthodes de dosage des marqueurs biochimiques.....	45
II.4.6 Méthode analytique de l'ionogramme sanguin	56
II.4.7 Méthode de dosage des marqueurs hormonaux.....	57
II.4.8 Méthode de dosage de l'érythropoïétine.....	58
II.4.9 Analyse statistique.....	59
III-RESULTATS ET DISCUSSION	60
III.1 RESULTATS	61
III.1.1 Caractéristiques épidémiologiques de la population d'étude	61
III.1.2 Stade de la maladie chez les insuffisants rénaux chroniques	61
III.1.3 Paramètres hématologiques et concentration moyenne de l'érythropoïétine.....	61
III.1.4 Concentrations moyennes des marqueurs biochimiques.....	68
III.1.5 Concentrations moyennes de la 25-hydroxyvitamine D et de la parathormone.....	72

III.1.6 Valeurs moyennes de l'ionogramme sanguin de la population d'étude.....	79
III.2 DISCUSSION	82
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	92
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	95
ANNEXES	117

A decorative border resembling a scroll, with a vertical strip on the left side and rounded corners at the top and bottom. The text is centered within this border.

LISTE DES ABREVIATIONS

1,25 (OH) ₂ D	: 1,25-dihydroxyvitamine D ou Calcitriol
25 (OH) D	: 25-hydroxyvitamine D ou Calcidiol
ADN	: Acide Désoxyribonucléique
ALAT	: Alanine Aminotransférase
AMP	: Adénosine Monophosphate
AMPC	: Adénosine Monophosphate cyclique
ARN	: Acide Ribonucléique
ARNm	: Acide Ribonucléique messenger
ARNt	: Acide Ribonucléique de transfert
ASAT	: Aspartate AminoTransférase
ATP	: Adenosine Triphosphate
CaSR	: Calcium-Sensing Receptor
CCMH	: Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine
CFU-E	: Colony Forming Unit-Erythroid
CKD-EPI	: Chronic Kidney Disease Epidemiology collaboration
CoCl ₂	: Chlorure de Cobalt
Cox 2	: Cyclooxygénase 2
CRP	: C Reactive Protein
CREB	: C-AMP Response Element-binding
CS	: Coefficient de Saturation
CTF	: Capacité Totale de Fixation de la transferrine
CYP	: Cytochrome P 450
DFG	: Débit de Filtration Glomérulaire
EDTA	: Ethylène Diamine Tétra Acétique
EER	: Epuration Extra-Rénale
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EPO	: Erythropoïétine
EPO-R	: Erythropoietin Receptor
FGF23	: Fibroblast Growth Factor 23
Hb	: Hémoglobine
HDL	: High-Density Lipoprotein
HIF	: Hypoxia Inductible Factors
HRE	: Hormone Response Element

IDBP	: Intracellular Vitamin D Binding Protein
IRC	: Insuffisance Rénale Chronique
ISE	: Ion Selective Electrode
JAK	: Janus Kinase
KDIGO	: Kidney Disease Improving Global Outcomes
LCAT	: Lécithine-Cholestérol Acyltransférase
LDL	: Low Density Lipoproteins
LPL	: Lipoprotéine-Lipase
MAPKs	: Mitogen Activated Protein Kinases
MDRD	: Modification of Diet in Renal Disease
MRC	: Maladie Rénal Chronique
Na Cl	: Chlorure de Sodium
NADPH	: Nicotinamide Adénine Dinucléotide phosphate
NFS	: Numération Formule Sanguine
NPT2	: Na(+)-dependent Phosphate cotransporter 2
PLC	: Phospholipase C
PTH	: Parathormone
REG	: Réticulum Endoplasmique Granuleux
ROS	: Reactive Oxygen Species
R-PTH1	: Récepteur de la Parathormone
RXR	: Retinoïd X Receptor
SRAA	: Système Rénine-Angiotensine-Aldostérone
STAT	: Signal Transducers and Activators of Transcription
T _m	: Taux maximal
TNF- α	: Tumor Necrosis Factor- α
TRP V6	: Transient Receptor Potential V6
UVB	: Ultraviolet B
VDBP	: Vitamin D Binding Protein
VDR	: Vitamin D Receptor
VGM	: Volume Globulaire Moyen
VIH	: Virus de l'Immunodéficience Humaine



LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Coupe sagittale du rein	7
Figure 2 : Constituants du néphron	9
Figure 3 : Schéma de générateur d'hémodialyse	15
Figure 4 : Structure biologique de la parathormone.....	18
Figure 5 : Biosynthèse de la parathormone	19
Figure 6 : Structure des vitamines D ₂ et D ₃	24
Figure 7 : Métabolisme de la vitamine D	25
Figure 8 : Régulation de la synthèse de l'érythropoïétine sous l'influence de l'hypoxie tissulaire	30
Figure 9 : Principales voies de signalisation activées	32
Figure 10 : Etapes de l'érythropoïèse.....	34
Figure 11 : Concentration en 25-hydroxyvitamine D et en parathormone de la population d'étude	75

A decorative horizontal border with a scroll-like appearance, featuring rounded ends and a slight shadow effect.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Valeurs de référence de la numération globulaire et des constantes hématimétriques	44
Tableau II : Valeurs normales de référence des marqueurs biochimiques recherchés	46
Tableau III : Répartition de la population d'étude en fonction du sexe et de la moyenne d'âge	62
Tableau IV : Concentrations moyennes des paramètres hématologiques et de l'érythropoïétine de la population d'étude.....	63
Tableau V : Concentrations moyennes des paramètres hématologiques et de l'érythropoïétine des sujets atteints d'insuffisance rénale chronique	64
Tableau VI : Répartition de la population d'étude en fonction de la présence d'anémie	66
Tableau VII : Gravité et type d'anémie de la population d'étude	67
Tableau VIII : Valeurs moyennes du bilan biochimique de la population d'étude.....	69
Tableau IX : Valeurs moyennes du bilan biochimique des sujets atteints d'insuffisance rénale chronique.....	70
Tableau X : Valeurs moyennes de la 25-hydroxyvitamine D et de la PTH de la population d'étude	73
Tableau XI : Valeurs moyennes de la 25-hydroxyvitamine D et de la PTH chez les patients atteints d'insuffisance rénale chronique.....	74
Tableau XII : Répartition de la population d'étude selon le statut en 25-hydroxyvitamine D	76
Tableau XIII : Répartition de la population d'étude selon le statut en parathormone	78
Tableau XIV : Valeurs moyennes de l'ionogramme sanguin de la population d'étude	80
Tableau XV : Valeurs moyennes de l'ionogramme sanguin chez les patients atteints d'insuffisance rénale.....	81



INTRODUCTION

Les maladies "non transmissibles" sont des affections qui ne sont pas causées par un agent pathogène particulier et de ce fait sont non contagieuses. Elles se distinguent ainsi des maladies infectieuses dites "transmissibles". Ce sont des affections de longue durée, qui en règle générale, évoluent lentement; d'où leur appellation de maladies chroniques (**Anonyme 1, 2011**). Les maladies chroniques constituent actuellement la principale charge de morbidité dans les pays développés et les tendances enregistrées dans les pays en développement annoncent une situation tout aussi préoccupante. Il en existe de plusieurs types parmi lesquelles se trouve l'insuffisance rénale chronique.

L'insuffisance rénale chronique (IRC) est un problème de santé publique crucial par son taux de prévalence dans le monde (5 à 10 %) qui ne cesse d'augmenter et par ses complications cliniques dévastatrices (**Rottembourg, 2011**). En effet près de 500 millions de personnes en souffrent et environ 80% d'entre elles résident dans des pays à revenu faible ou intermédiaire (**Mills et al., 2015**). En Afrique, la prévalence de cette pathologie varie d'un pays à un autre (**Benja et al., 2016**). En Côte d'Ivoire, l'IRC se traduit par une prévalence de 2,1% (**Stanifer et al., 2014**). L'insuffisance rénale chronique (IRC) est définie par la diminution progressive et irréversible du débit de filtration glomérulaire (DFG) consécutive à la réduction du nombre de néphrons fonctionnels. Les lésions irréversibles entraînent une incapacité des reins à assurer ses fonctions vitales d'homéostasie, d'excrétion et de synthèse. Cela entraîne une perturbation des fonctions d'épuration, des fonctions endocrines du rein et l'accumulation des déchets du métabolisme cellulaire, conduisant ainsi à une destruction partielle ou totale de la fonction excrétrice rénale et au stade terminal de la maladie rénale (**Bourquin et Martin, 2006**).

Le recours à la dialyse (hémodialyse ou dialyse péritonéale) s'avère indispensable à ce stade car la mauvaise qualité de vie des patients est très souvent associée à une augmentation de la morbidité et de la mortalité (**Chazot et Jean, 2014**). La transplantation représente la solution thérapeutique idéale, mais reste toujours la grande difficulté dans les pays en voie de développement (**Ceppa et Gidenne, 2000**). Malgré la loi de 1993 autorisant l'usage de tissus et organes humains à but thérapeutique en Côte d'Ivoire, c'est seulement en 2012 que le décret d'application (n°2012-18 du 30 janvier 2012) de cette loi a été adopté. En 2015, seulement dix greffes de reins entre vivants ont été réalisées lors d'un projet pilote. Toutes ces greffes ont donné de très bons résultats en ce qui concerne la survie du patient et du greffon (**Ackoundou-N'Guessan et al., 2015**).

Au cours de l'insuffisance rénale chronique, il apparaît des troubles du métabolisme minéral notamment phosphocalcique et osseux (**Muschio et Oldri, 2000 ; Ribeiro et al., 2016**). Ces troubles sont dus à la perturbation des éléments régulateurs principalement la parathormone

(PTH) et la vitamine D. La vitamine D est un régulateur important de l'homéostasie du calcium et du phosphate et a également de nombreux effets extra-squelettiques sur le système cardiovasculaire, le système nerveux central, le système endocrinien, le système immunitaire ainsi que sur la différenciation cellulaire et la croissance cellulaire (**Bouillon, 2018**). La stimulation de la sécrétion de la PTH est caractérisée physiologiquement par une disponibilité réduite de la vitamine D et une diminution du calcium sérique. La PTH stimule la réabsorption du calcium au niveau des tubules rénaux, la résorption du calcium et du phosphate à partir du tissu osseux et la synthèse du calcitriol (le métabolite le plus actif de la vitamine D), qui augmente l'absorption intestinale du calcium (**Blaine et al., 2015**). La production accrue de la PTH joue un rôle compensatoire clé dans le rétablissement des niveaux normaux de calcium et de la vitamine D (**Blaine et al., 2015**). Ainsi, le terme d'hyperparathyroïdie secondaire est largement utilisé pour identifier un phénomène compensatoire, dont le but est de corriger une biodisponibilité réduite du calcium et/ou de la vitamine D. L'hyperparathyroïdie secondaire apparaît au cours de l'insuffisance rénale et en l'absence de traitement elle entraîne chez la plupart des patients insuffisants rénaux des complications squelettiques (ostéodystrophie rénale) et extra-squelettiques (calcifications des parties molles, vaisseaux et valves cardiaques) potentiellement graves (**Moe et Drueke, 2003**).

Outre les complications phosphocalciques et osseuses, l'insuffisance rénale chronique favorise un déficit de synthèse de l'érythropoïétine (EPO). La production d'érythropoïétine (EPO) est une fonction importante du rein très souvent méconnue. L'EPO est une molécule de signalisation qui stimule les globules rouges en réponse à la diminution des niveaux d'oxygène dans le sang. En effet, c'est une hormone anti-apoptotique qui favorise la survie, la prolifération et la différenciation des précurseurs érythrocytaires (**Atkinson et Warady, 2018**). Tout dérèglement de ce processus favorise la survenue de l'anémie caractérisée par un niveau d'hémoglobine inférieur à la normale. L'anémie liée à l'insuffisance rénale chronique prédispose les patients aux maladies cardiovasculaires et est associée à une mauvaise qualité de vie, à une augmentation des hospitalisations, à une altération de la cognition et à la mortalité (**Babitt et Lin, 2012**). La détérioration de la fonction rénale semblerait influencer le niveau des marqueurs inflammatoires, telles que la protéine C-réactive sérique (CRP) ou interleukine 6 (IL-6) (**Panichi et al., 2001**). La compréhension des mécanismes sous-jacents de l'anémie dans l'insuffisance rénale chronique est importante en raison du fait que chez certains patients, le traitement par des agents stimulant l'érythropoïèse (ASE) pourrait être pour le moins inefficace ou même délétère (**Caldararu et al., 2017**).

La perturbation de ces principaux régulateurs est due à un déficit de synthèse de l'EPO, un excès de la sécrétion de la PTH et un défaut d'activation de la vitamine D (**Amrani, 2016**). Ce dysfonctionnement métabolique est à l'origine de nombreuses complications au cours de l'insuffisance rénale chronique notamment l'accumulation de « toxines urémiques », la fragilisation de la structure osseuse, l'ostéoporose (**Wang et al., 2016**), l'aggravation de l'anémie, l'hypertension et la formation des calcifications vasculaires et d'autres calcifications extra osseuses (**Moe et al., 2006**). Ces complications sont encore plus accentuées et graves chez les patients dialysés (**Alem et al., 2000**), notamment la calcification vasculaire, qui est responsable de la mortalité chez cette population déjà à haut risque (**Raggi et Kleerekoper, 2008 ; Moe et Chen, 2008**). L'anticipation de la survenue des complications de l'IRC implique la surveillance biologique basée sur le dosage de certains paramètres parmi lesquels la PTH, la vitamine D et l'EPO. Toutefois les coûts élevés de ces examens biologiques restent problématique ce qui rendent inefficace cette anticipation.

Dans les pays à faible développement économique comme la Côte d'Ivoire, la prise en charge de l'insuffisance rénale chronique est particulièrement coûteuse (**Jacquelinet et Briançon, 2005**). Plusieurs travaux lui ont été consacrés, cependant pratiquement aucune étude n'a été réalisée sur le mécanisme des troubles phosphocalciques et de l'anémie de l'insuffisance rénale. L'évaluation de la PTH, de la vitamine D et de l'érythropoïétine pourrait t'elle aider à mieux comprendre les troubles métaboliques occasionnés par l'insuffisance rénale? Cette évaluation contribuerait-elle à une meilleure prise en charge biologique des insuffisants rénaux chroniques et une amélioration de la qualité de vie des hémodialysés? L'objectif général de cette étude est de contribuer à la prise en charge des insuffisants rénaux chroniques et les patients hémodialysés afin de contribuer à une meilleure qualité de vie de ceux-ci.

De façon spécifique, il s'agit de :

- Déterminer les concentrations biochimiques, hormonales (parathormone, vitamine D et l'érythropoïétine) hématologiques ainsi que le taux des réticulocytes des patients insuffisants rénaux chroniques et des patients hémodialysés.
- Etablir la relation entre les troubles métaboliques et l'altération de la fonction rénale chez les insuffisants rénaux chroniques et les patients hémodialysés.



**I-REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE**

I.1 RAPPEL ANATOMO-PHYSIOLOGIQUE DU REIN

I.1.1 Embryologie et Anatomie du rein

I.1.1.1 Embryologie du rein

Le développement du rein est séquentiel par la mise en place de structures cytologiques ayant des formations particulières qui se succèdent et se chevauchent dans le temps et l'espace : Le pronéphros est la première structure cytologique qui se met en place, il se développe et se différencie pour donner le mésonéphros à la quatrième semaine de développement. Ce dernier assure la filtration glomérulaire et sera à l'origine du bourgeon urétral et du trigone vésical. Le métanéphros représente la structure définitive qui apparaît au cours de la dixième semaine et va assurer les fonctions de filtration et d'excrétion dès la douzième semaine (**Chabane et Benzenati., 2017**). Il s'en suit un processus de maturation du bourgeon urétral et de l'entoblaste de l'intestin postérieur à l'issue duquel apparaîtront respectivement les voies urinaires hautes que constituent l'uretère, le bassinnet, les grands et petits calices, et les tubes collecteurs, mais également des voies urinaires basses que sont la vessie et l'urètre (**Chabane et Benzenati., 2017**).

I.1.1.2 Anatomie du rein

I.1.1.2.1 Rappel général sur le rein

Les reins sont des organes pairs de couleur rouge foncé, localisés à l'arrière des organes abdominaux de chaque côté du corps. Ils se situent en arrière du péritoine, contre les côtes au milieu de la partie inférieure du dos.

La structure du rein est complexe. Sa coupe frontale permet de distinguer la partie corticale externe et la partie médullaire interne. La partie médullaire est formée par les pyramides de Malpighi dont le sommet des pyramides forme les papilles rénales (**Marieb et Hoehn., 2010**). La partie corticale comprend la capsule rénale, les colonnes de Bertin et les néphrons (**Figure 1**). Chaque néphron est composé de deux parties, le corpuscule de Malpighi et le tubule urinaire, qui assurent la filtration, la réabsorption et la sécrétion, conduisant à la formation de l'urine (**Floege et al., 2010**). L'appareil urinaire se compose des reins, des uretères, de la vessie et de l'urètre qui sont situés de part et d'autre de la colonne vertébrale, sous les dernières côtes, en arrière du péritoine. Les reins, en forme de haricot mesurent environ 12 centimètres de longueur, 6 centimètres de largeur, 3 centimètres d'épaisseur et pèsent environ 150 grammes chacun. La présence du foie fait que le rein droit est légèrement plus bas que le rein gauche (**Antic et Taxy., 2014**). Les reins sont enveloppés d'une capsule fibreuse très résistante.

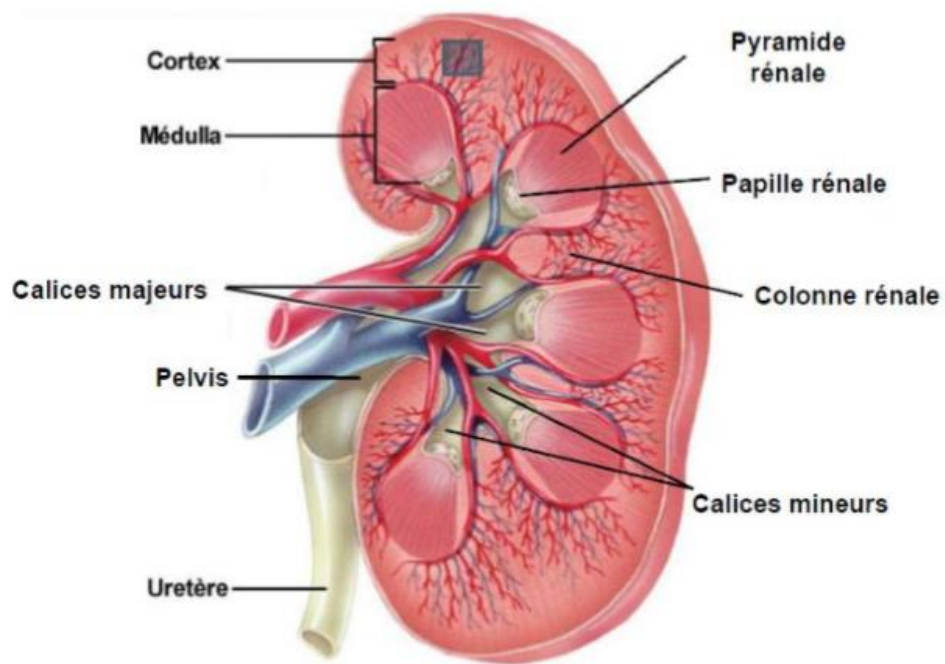


Figure 1: Coupe sagittale du rein
(Combaz., 2011)

La coupe sagittale du rein montre le parenchyme rénal qui est constitué de 3 parties : périphérique, le cortex ; médiane, la médulla et centrale, le bassinnet (**Chabane et Benzenati., 2017**). La médulla est constituée de pyramides de Malpighi et séparées entre elles par du tissu cortical (colonnes de Bertin). Les bases de ces pyramides sont recouvertes par le cortex alors que les sommets, appelés papilles rénales, se projettent vers le centre du rein dans une sorte d'entonnoir, le calice mineur. L'urine produite dans les pyramides se déverse à travers les pores des papilles dans les calices mineurs, elle est ensuite collectée dans le calice majeur puis dans le bassinnet (ou pelvis) et enfin dans l'uretère (**Combaz., 2011**).

I.1.1.2.2 Vascularisation rénale

Chaque rein est vascularisé par une artère rénale provenant de l'aorte dans laquelle le sang, chargé de déchets, va être épuré avant de ressortir par la veine rénale qui se projette ensuite dans la veine cave inférieure. On appelle « hile » la partie concave du rein par laquelle entre l'artère rénale ainsi que les vaisseaux lymphatiques et par laquelle sort la veine rénale et l'uretère qui transporte l'urine jusqu'à la vessie (**Shi et Luo., 2017**)

I.1.1.2.3 Néphron

Le néphron est l'unité fonctionnelle du rein. Chaque rein en compte environ 1,3 million de néphrons (**Thomas et al., 2018**). Ces néphrons permettent aux reins d'exercer leurs fonctions d'élimination des déchets, de synthèse de substances, de maintien de l'équilibre électrolytique et du volume sanguin. Il existe deux types de néphrons, les néphrons corticaux (85 %) qui sont situés dans le cortex superficiel et moyen, et qui ont des tubules qui ne pénètrent que très peu dans la médulla et les néphrons juxtamédullaires (15 %) situés dans le cortex profond et dont les tubules pénètrent profondément dans la médulla (**Layton et Edwards., 2016**). Le néphron est composé de deux parties : le corpuscule rénal qui permet la filtration du sang et les tubules rénaux qui permettent d'une part de transporter l'urine du glomérule vers le tube collecteur et d'autre part la réabsorption et la sécrétion de certaines molécules (**Figure 2**).

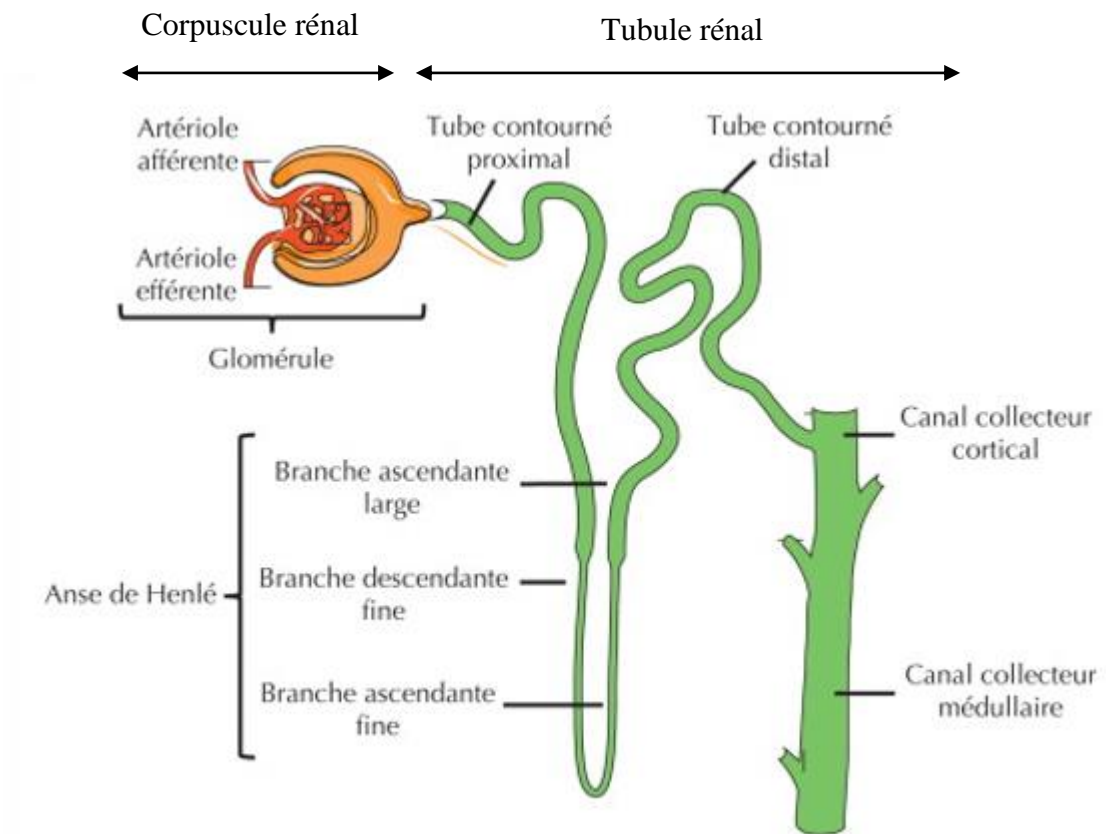


Figure 2 : Constituants du néphron
(Gueutin *et al.*, 2012)

I.1.2 Fonctions du rein

I.1.2.1 Fonctions excrétrices

Les reins assurent la formation de l'urine et la purification du sang de ses déchets. Ils filtrent environ 180 litres de sang par jour au niveau du glomérule, il en résulte la formation de l'urine primitive qui va subir des transformations à l'intérieur du tubule en réabsorbant certaines substances et en excréant d'autres aboutissants à la formation de l'urine définitive et assurant ainsi un équilibre hydro électrolytique, un équilibre acido-basique et éliminant les substances toxiques du corps humain à savoir essentiellement l'urée, la créatinine et l'acide urique (**Houat., 2015**).

✓ Filtration glomérulaire

C'est la première étape de la formation de l'urine qui consiste en une ultrafiltration du plasma. Cette filtration se produit au niveau des capillaires. Le sang est donc filtré à travers une membrane de filtration constituée de 3 couches : l'endothélium vasculaire, la membrane basale et l'épithélium viscéral de la capsule de Bowman (constitué de podocytes). Cette membrane semi-perméable permet le passage de l'eau et des petites molécules, mais empêche celui des molécules de poids moléculaire supérieur à 70 kDa comme la plupart des protéines plasmatiques (**Pollak et al., 2014**). L'endothélium vasculaire, de par la taille importante de ses pores cytoplasmiques, ne retient que les éléments figurés du sang et ne constitue pas un filtre efficace. Par conséquent, la semi-perméabilité de la membrane de filtration est donc attribuée à la membrane basale. Cette dernière est constituée de glycoprotéines anioniques (chargées négativement) formant de petites fentes (**Miner., 2012**).

• Débit de filtration glomérulaire (DFG)

Le débit de filtration glomérulaire (DFG) est le paramètre par excellence qui permet d'évaluer la fonction rénale. La diminution de ce débit pourrait entraîner l'insuffisance rénale (**Ahmed et al., 2017**). La fraction de filtration, c'est-à-dire la quantité de plasma qui est filtrée à chaque passage correspond à 20 % du plasma total. Avec un débit plasmatique rénal de 625 mL/min, on obtient un débit de filtration glomérulaire de 125 mL/min (la quantité de plasma filtrée chaque minute). Tous les jours, 180 litres de filtrat traversent la barrière glomérulaire, soit 180 litres d'eau. Le plasma, d'un volume d'environ 3 litres, est donc filtré plus de 50 fois par jour (**Gougoux., 2005**).

• Régulation de la filtration glomérulaire

Cette régulation se fait essentiellement en modifiant la pression hydrostatique dans les

capillaires glomérulaires. Elle permet de maintenir un débit sanguin rénal stable lorsque la pression artérielle varie en jouant sur la résistance artériolaire. En effet, une vasoconstriction de l'artériole afférente ou une vasodilatation de l'artériole efférente va conduire à une diminution de la pression hydrostatique dans les capillaires glomérulaires et donc à une diminution du DFG. A l'inverse, ce dernier augmente lors d'une vasodilatation de l'artériole afférente ou d'une vasoconstriction de l'artériole efférente (**Gougoux., 2005**).

✓ Réabsorption et sécrétion tubulaire

La réabsorption et la sécrétion tubulaire nécessitent plusieurs mécanismes de transport des molécules entre la lumière du tubule et les capillaires péritubulaires (**Marieb et Hoehn., 2010**).

Le transport actif nécessite de l'énergie (sous forme d'ATP) car il agit contre le gradient de concentration, c'est-à-dire que la substance va d'un milieu moins concentré vers un milieu plus concentré. De plus, comme il y a un nombre limité de transporteurs, c'est un mécanisme qui est saturable. On peut donc calculer pour chaque substance le taux maximal de réabsorption (Tm). On distingue le transport actif primaire (pompe Na⁺/K⁺ ATPase) du transport actif secondaire (glucose) qui s'apparente aussi à certains types de diffusion facilitée (**Bare et al., 2011**).

Le transport passif diffère principalement du transport actif par le fait qu'il ne nécessite pas d'énergie. Il y a trois types de transport passif : la diffusion simple correspond au mouvement d'une molécule d'un milieu fortement concentré vers un milieu faiblement concentré au travers d'une membrane perméable jusqu'à l'équilibre ; la diffusion facilitée qui diffère de la précédente par le fait que le transport nécessite soit des canaux ioniques, soit des transporteurs (symports, antiports). C'est donc un mécanisme saturable et qui peut se faire contre le gradient de concentration (transport actif secondaire) et l'osmose qui, grâce notamment aux aquaporines, correspond au mouvement de l'eau du milieu le moins concentré vers le milieu le plus concentré (**Bare et al. 2011**).

I.1.2.2 Fonctions endocrines

Le rein est le seul organe capable de libérer dans la circulation sanguine de la rénine active. Elle est libérée avec son précurseur, la pro-rénine à partir des cellules juxtaglomérulaires localisées dans les artérioles afférentes glomérulaires (**Lacoura., 2013**). Le rein est également responsable de la synthèse d'érythropoïétine (EPO). Cette molécule est essentielle pour la production des érythrocytes. Il assure aussi la synthèse du calcitriol (**Lacoura., 2013**). Les reins remplissent également d'autres fonctions physiologiques importantes comme le maintien de la teneur en eau et en sel du corps à un niveau d'équilibre (**Kaouther et Safia., 2016**). Le rein intervient

également dans un certain nombre d'interconversions métaboliques tels que la néoglucogenèse, le métabolisme des lipides ou de l'homocystéine et assure aussi la synthèse de facteurs de croissance agissant selon un mode autocrine ou paracrine (**Houat., 2015**).

Il intervient dans la production et dans la sécrétion d'hormones :

- La rénine, hormone exclusivement synthétisée par le rein, est à l'origine de la production de l'angiotensine II à partir de l'angiotensinogène et de l'aldostérone, hormones intervenant dans la régulation de la pression artérielle.
- L'érythropoïétine (EPO) autre hormone synthétisée par les reins, stimule la production médullaire des érythrocytes et régule la masse globulaire. Elle est sécrétée par certaines cellules péri-tubulaires spécialisées (fibroblastes interstitiels) en réponse à la baisse de la pression en oxygène dans le rein.
- La formation du calcitriol (1 alpha 25 dihydroxycholécalférol) : 1 alpha, présente exclusivement au niveau des cellules tubulaires proximales, synthétise la forme active de la vitamine D.

I.2 INSUFFISANCE RENALE CHRONIQUE

I.2.1 Définition

L'insuffisance rénale chronique est définie par une diminution prolongée et définitive, mais aussi irréversibles des fonctions excrétrices rénales. A partir d'un certain degré de destruction de néphron, l'insuffisance rénale chronique évolue vers une insuffisance rénale terminale où le rein ne fait plus face aux besoins de l'organisme (**Muschio et Oldri., 2000**).

I.2.2 Epidémiologie

L'insuffisance rénale chronique (IRC) est une affection chronique "non transmissible et non contagieuse " et représente un problème de santé publique crucial par son taux de prévalence dans le monde (5 à 10 %) qui ne cesse de croître et par ses complications cliniques dévastatrices (**Rottembourg., 2011**). En Afrique, la prévalence de cette pathologie varie d'un pays à un autre (**Benja et al., 2016**). En Côte d'Ivoire, cette affection courante et grave, dont la prévalence est de 2,1% représente la deuxième cause de mortalité dans le service de médecine interne, après les cancers (**Stanifer et al., 2014**).

I.2.3 Etio-pathogenie de l'insuffisance rénale chronique

La diminution progressive et irréversible du débit de filtration glomérulaire (DFG) consécutive à la réduction du nombre de néphrons fonctionnels entraîne une perturbation des fonctions d'épuration, des fonctions endocrines du rein et l'accumulation des déchets du

métabolisme cellulaire, conduisant ainsi à une destruction de la fonction excrétrice rénale et au stade terminal de la maladie rénale (**Bourquin et Martin., 2006**).

Au cours de l'insuffisance rénale, l'on observe des troubles du métabolisme minéral affectant ainsi l'équilibre du bilan phosphocalcique (**Ribeiro et al., 2016 ; Gallant & Spiegel., 2017**). Le bilan phosphocalcique est un paramètre important dans l'homéostasie du calcium et du phosphore de l'organisme humain (**Milovanova et al., 2012**). Les troubles du métabolisme des minéraux conduisent à des lésions osseuses et à des calcifications vasculaires qui affectent le pronostic vital et fonctionnel (**Lafage-proust., 2012**). En effet, la qualité de l'os des patients souffrant de la maladie rénale chronique est sévèrement altérée, avec une fragilité dont témoigne la fréquence très élevée des tassements vertébraux et des fractures, notamment de la hanche. Les calcifications vasculaires sont fréquemment observées, les calcifications des parties molles sont devenues exceptionnelles (**Combe et Kourilsky, 2014**). La régulation phosphocalcique fait intervenir l'hormone parathyroïdienne (parathormone), la vitamine D₃ (25-hydroxy-calciférol) et la calcitonine (**Akesson., 2003**).

Les complications hématologiques sont également rencontrées chez les patients insuffisants rénaux. L'anémie est la complication hématologique majeure au cours de l'IRC. Elle apparaît habituellement lorsque le débit de filtration glomérulaire avoisine 60 ml/minute et évolue de façon parallèle à la réduction néphrotique. Elle est essentiellement liée à la baisse de sécrétion d'érythropoïétine (EPO). L'érythropoïétine est une hormone synthétisée dans le rein par les fibroblastes de la médulla rénale qui stimule la production des érythrocytes par la moelle osseuse (**Amrani., 2016**). Mais d'autres facteurs pourraient également contribuer à l'anémie des insuffisants rénaux : l'inhibition de l'érythropoïèse par des toxines urémiques telles que les polyamines, et certaines cytokines pro-inflammatoires, l'hyperparathyroïdie secondaire, la carence martiale et les carences en vitamines B12 et folates. Cette anémie contribue à la prévalence accrue de la morbi-mortalité cardiovasculaire chez ces patients et joue un rôle majeur dans l'hypertrophie ventriculaire gauche (**Fitsum et Denis, 2004**).

I.2.4 Diagnostics de l'insuffisance rénale chronique

I.2.4.1 Diagnostic clinique

L'insuffisance rénale est caractérisée par un ensemble de signes cliniques qui apparaissent à partir d'une réduction de 30% de la valeur normale de la fonction rénale. Parmi ces signes, nous pouvons citer les signes hématologiques, les signes osseux, les signes cardiovasculaires, les signes digestifs et les signes neurologiques et métaboliques (**Koné., 2014**).

I.2.4.2 Diagnostic Biologique

Le diagnostic de l'insuffisance rénale est fait avec certitude sur les critères biologiques suivants : élévation du taux de l'urée plasmatique ; élévation de la créatininémie ; diminution de la clairance de la créatinine (**Kamal., 2014**).

Pour diagnostiquer une insuffisance rénale chronique chez l'adulte, la fonction rénale doit être évaluée en pratique, à partir de la créatininémie, par l'estimation du débit de filtration glomérulaire (DFG) et non plus par l'estimation de la clairance de la créatinine selon la formule de Cockcroft et Gault (**Allaire et al., 2011**). Cependant, il n'y a pas une seule équation d'estimation du DFG qui l'estime avec précision et prédit de manière optimale les résultats de l'IRC (**Legris et Desforges 2017**).

I.2.4.3 Diagnostic étiologique

L'insuffisance rénale chronique succède toujours à une néphropathie dont les origines peuvent être multiples telles que le diabète et l'hypertension artérielle, les glomérulonéphrites primaires ou primitives, la polykystose rénale, la pyélonéphrite, le syndrome d'Alport et les maladies de système immunitaire comme le lupus érythémateux disséminé (**Nguyen, 2009 ; Brel, 2015**).

I.2.5 Traitement

➤ But

L'objectif est de retarder de plusieurs mois ou années l'évolution de l'insuffisance rénale vers le stade terminal. Cependant, l'insuffisance rénale dans les pays d'Afrique noire reste encore diagnostiquée très tardivement (stade terminal) c'est-à-dire au moment où la dialyse, le cas échéant la transplantation est indispensable (**Ackoundou-N'Guessan et al., 2014**).

➤ Moyen

Les reins n'étant plus fonctionnels, les seuls traitements possibles sont la dialyse ou la transplantation. Cette dernière, représente la solution thérapeutique idéale, mais elle est offerte à un nombre limité de patients et reste toujours la grande difficulté dans les pays en voie de développement (**Ceppa et Gidenne., 2000**).

Quant à la dialyse, c'est un système d'Épuration Extra-Rénale (EER) du sang (**Figure 3**). C'est en fait un échange entre le sang de la personne dialysée, et une solution appelée dialysat.

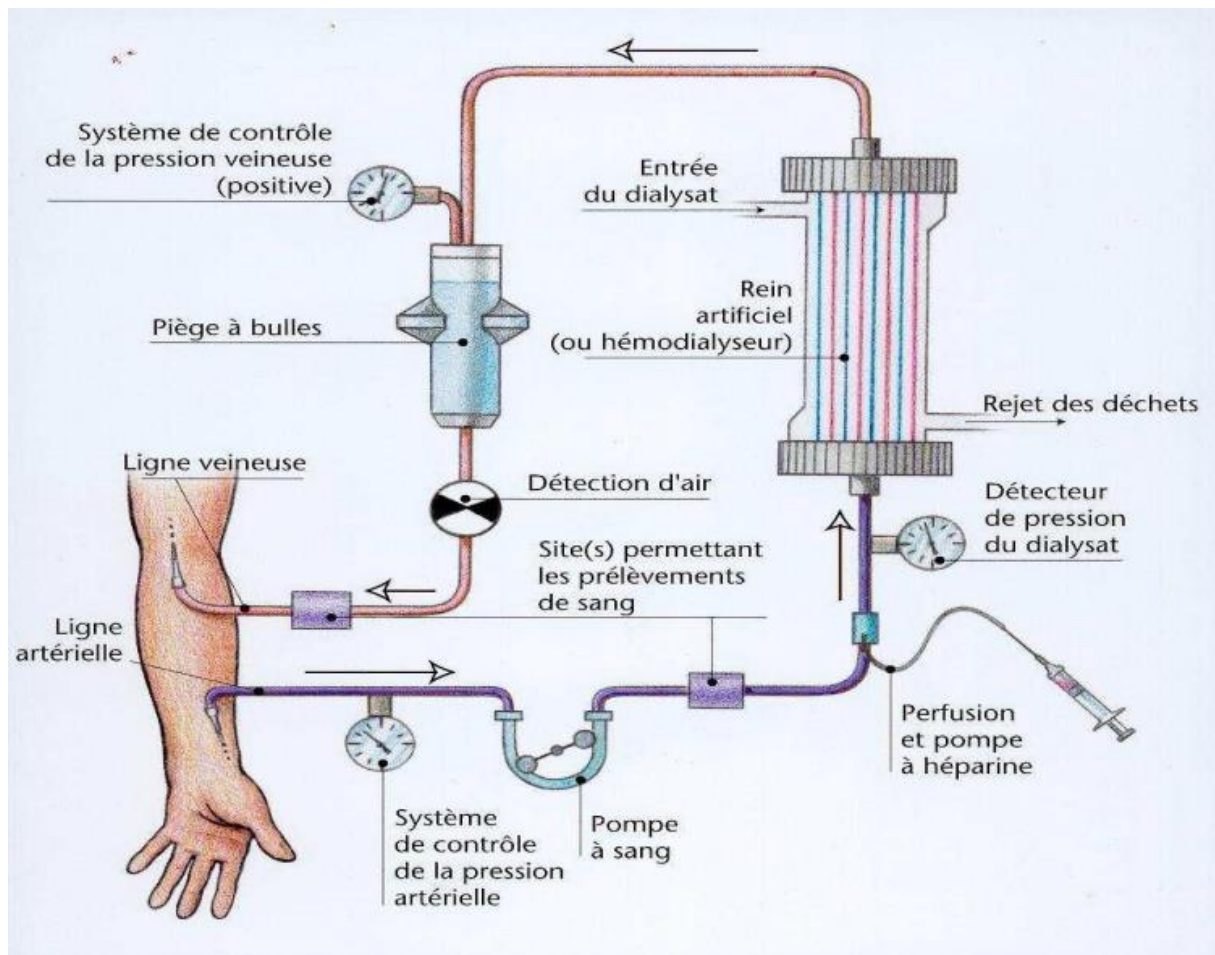


Figure 3 : Schéma de générateur d'hémodialyse

(Meimouna, 2011)

Des méthodes d'épuration extrarénale susceptibles de débarrasser le sang du malade atteint d'insuffisance rénale des déchets azotés et de corriger, au moins partiellement, les troubles hydro-électrolytiques, phosphocalciques et acido-basiques qui résultent de la défaillance de la fonction rénale (**Lacoura et Massy., 2013**). Cet échange se fait au travers d'une membrane de filtration semi-perméable qui permet le transport des solutés via trois mécanismes à savoir la diffusion, l'ultrafiltration encore appelée la convection et l'adsorption. L'hémodialyse est le traitement le plus utilisé dans les cas d'IRC terminale. Elle permet de suppléer aux fonctions d'épuration rénale même s'il est impossible d'éliminer la totalité des toxines. Elle a pour but de restaurer l'environnement intra et extracellulaire. Elle consiste à épurer le sang à travers un filtre semi-perméable artificiel branché à une machine appelée hémodialyseur. Les séances durent généralement quatre heures et doivent être effectuées au moins trois fois par semaine. Deux types d'accès vasculaires sont utilisés, un cathéter central ou une fistule artério-veineuse. Le sang du patient est pompé hors du corps par l'hémodialyseur. Ce sang circule pour entrer dans le filtre, où il est en contact avec une membrane semi-perméable. Dans le filtre, le sang et le dialysat circulent dans deux compartiments distincts. Les deux compartiments sont séparés par la membrane. C'est dans ce filtre que s'effectuent les échanges de molécules à excréter et les électrolytes du dialysat. De plus, le sang circule à contre-sens du dialysat pour augmenter les échanges. Le sang épuré est alors retourné dans la circulation sanguine du patient (**Himmelfarb et Ikizler 2010, Clase 2012**). Les fonctions endocrines ne peuvent être rétablies, d'où la nécessité d'un traitement substitutif de l'érythropoïétine (EPO) et de la vitamine D.

I.3 PARATHORMONE

La parathormone également appelée hormone parathyroïdienne est une hormone produite et sécrétée par les glandes parathyroïdes en réponse à une baisse de la calcémie (**Marron et Mac., 2001**). Elle joue un rôle central dans la régulation du métabolisme du calcium et du phosphate ; c'est une hormone hypercalcémiant (**Portillo et Rodríguez-Ortiz., 2017**).

I.3.1 Origine - Structure - Biosynthèse

La parathormone est une hormone peptidique monocaténaire de 84 acides aminés, produite par quatre glandes parathyroïdiennes situées dans le cou, à côté de la glande thyroïde et est mise en réserve dans des vésicules de stockage (**Mohebbati et Shaha., 2012**). Cette hormone a été décrite pour la première fois par Collip en 1925, purifiée et isolée pour la première fois en 1959 (**Rasmussen et Craig., 1959**). L'hormone intacte pèse 9500 daltons et elle comprend trois zones : une extrémité amino-terminale, une zone intermédiaire et une

extrémité carboxyl-terminale (**Figure 4**) (**Houillier., 2008**). L'extrémité N-terminale de la PTH est celle qui porte les activités biologiques de l'hormone. Chez l'homme, le gène qui code pour la parathormone est situé sur le bras court du chromosome 11 (**Zabel *et al.*, 1985**). Ce gène est transcrit en un précurseur d'ARN messager (ARNm). Des remaniements de ce précurseur donnent naissance à l'ARNm, qui passe alors dans le cytoplasme. Cet ARNm est traduit dans les ribosomes du réticulum endoplasmique granuleux (REG) en un premier précurseur, la pré-proparathormone, une molécule de 115 acides aminés, de poids moléculaire de 13000 D. Ce polypeptide traverse la paroi du REG et est transformé rapidement en un deuxième précurseur, la proparathormone. La proparathormone, composée de 90 acides aminés, migre dans l'appareil de Golgi et subi un dernier clivage enzymatique, donnant naissance à la PTH active 1-84 N-terminale (**Figure 5**) (**Zabel *et al.*, 1985**). De l'appareil de Golgi, se détachent des grains de sécrétion dans lesquels la PTH est stockée dans des granules sécrétoires. Ces granules fusionnent avec la membrane cellulaire et libèrent la PTH par exocytose dès que la calcémie diminue.

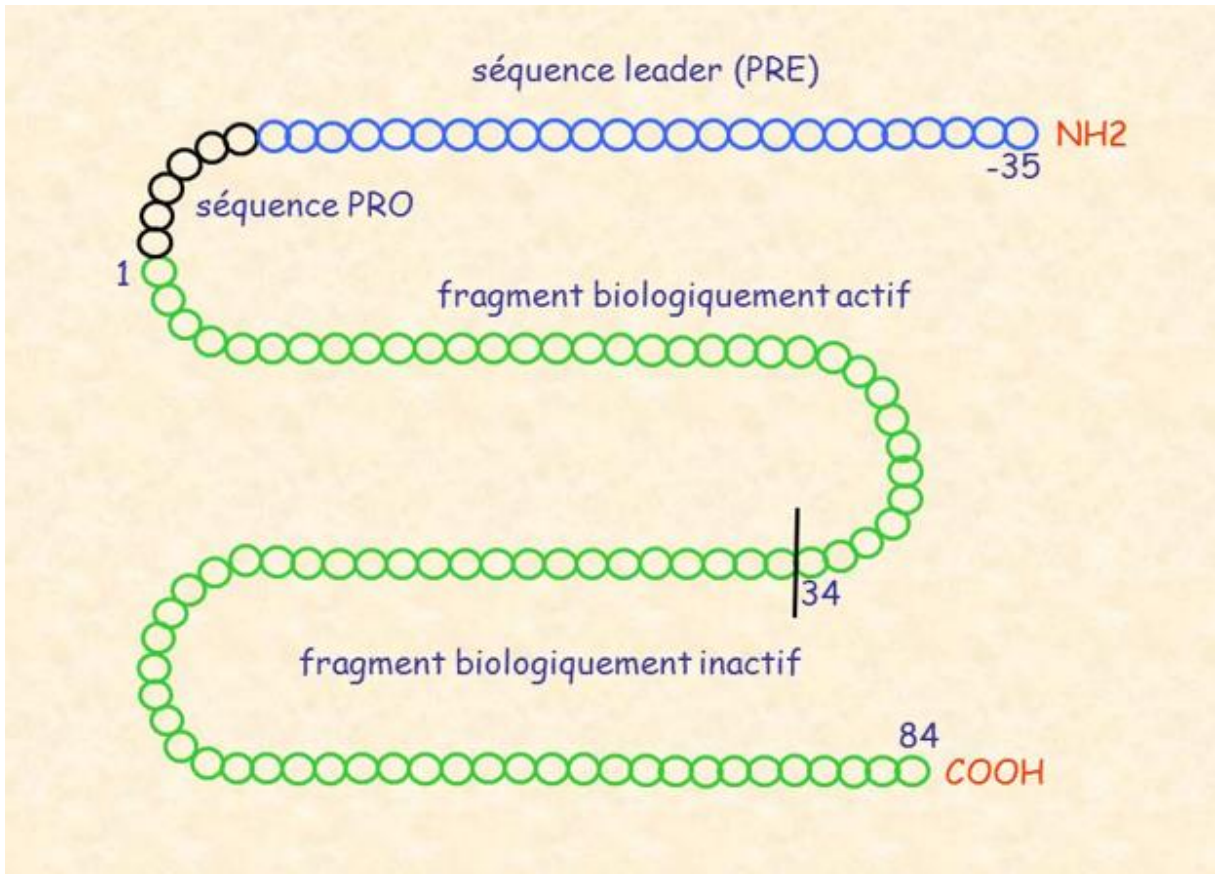


Figure 4 : Structure biologique de la Parathormone
(Houillier, 2008)

PRE : préparathormone

PRO : parathormone

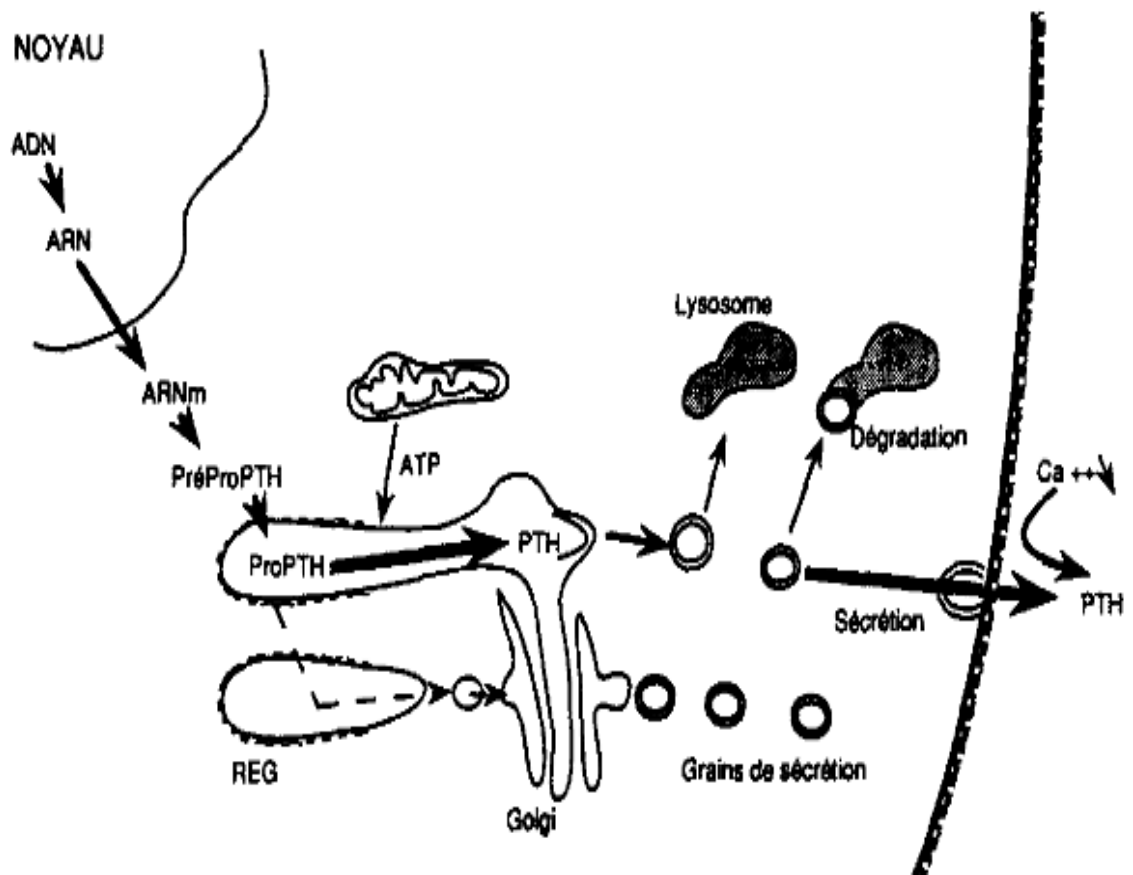


Figure 5 : Biosynthèse de la parathormone
 (Zabel *et al.*, 1985)

I.3.2 Sécrétion - Distribution - Catabolisme

La synthèse et la sécrétion de la PTH sont régulées par le calcium ionisé extracellulaire, par un mécanisme de rétroaction négative, les métabolites de la vitamine D, surtout le calcitriol et le magnésium extracellulaire. Le principal élément régulateur de la sécrétion de la parathormone est la concentration de calcium ionisé (Ca^{2+}) du liquide extracellulaire. En effet, les variations de la calcémie sont détectées par un récepteur sensible au calcium (CaSR) présent notamment surface des cellules parathyroïdiennes, dans le tissu rénal, mais également dans d'autres tissus (**Brown et MacLeod., 2001**). Lorsque la calcémie ionisée s'élève, le CaSR est activé ce qui induit la dégradation de la PTH dans les vésicules de stockage, tandis que la baisse de la calcémie ionisée (en cas d'hypocalcémie) entraîne une inactivation du CaSR et la sécrétion de PTH intacte, permettant une augmentation de la calcémie ionisée.

Le calcitriol a un effet direct sur la synthèse et la sécrétion de la PTH. Aux doses physiologiques, le calcitriol inhibe, indépendamment des variations de la calcémie, la sécrétion de la PTH. Quant au magnésium extracellulaire, il existe une relation inverse entre la concentration plasmatique du magnésium et la sécrétion de la PTH. Une concentration minimale de magnésium est nécessaire à la sécrétion de PTH ; sa carence peut entraîner un défaut de sécrétion de PTH. En effet, une hypomagnésémie profonde inhibe la sécrétion de PTH indépendamment des variations de la calcémie.

La PTH est une hormone hypercalcémiant et hypophosphatémiant, sa demi-vie est très brève (inférieure à 4 minutes) (**Murray et al., 2005**). Elle agit par différents mécanismes en se liant, via les acides aminés de sa portion 1-34 N-terminale, à un récepteur à sept fragments transmembranaires (**Mannstadt et al., 1999**) appartenant à la famille des récepteurs couplés aux protéines G.

I.3.3 Récepteurs de la parathormone

Le récepteur de la parathormone (R-PTH1) est un récepteur couplé aux protéines G de classe II. Ce récepteur a sept domaines transmembranaires couplés aux protéines G, son domaine N-terminal extracellulaire large (150 acides aminés), présente des sites potentiels de glycosylation ; sept hélices transmembranaires reliées entre elles par des boucles hydrophiles d'environ deux cent quatre-vingts (280) acides aminés, des résidus de cystéine hautement conservés (huit) ; des boucles extracellulaires.

De par leur localisation extracellulaire, ces cystéines sont impliquées dans la formation de ponts disulfures ; d'autres résidus hautement conservés (environ 40 acides aminés). Son extrémité

C-terminale cytoplasmique (130 acides aminés) présente des sites de phosphorylation pour les kinases.

Le récepteur de la PTH a deux fonctions biologiques principales à savoir le contrôle du métabolisme phosphocalcique et la régulation du développement osseux. La PTH se lie à son récepteur (R-PTH1), ce qui active, plusieurs voies de signalisation comme la voie de l'adénylcyclase qui passe par l'adénosine monophosphate cyclique (AMPc), la voie de la Phospholipase C (PLC), la voie des MAPKs (Protéines kinases activées par les mitogènes) et de la phospholipase D (**Hohenstein et al., 2014**). L'activation de la voie de l'AMPc passe par la protéine Gsa et celle de PLC passe par la protéine Gqa (**Gensure et al., 2005**).

I.3.4 Mode d'action de la parathormone

La parathormone participe au métabolisme du calcium et du phosphate. Elle agit au niveau de plusieurs organes pour accomplir cette tâche notamment au niveau de trois organes que sont l'intestin, le rein et l'os. De plus, elle est primordiale pour l'homéostasie osseuse (**Hohenstein et al., 2014**).

Au niveau du rein

La Parathormone exerce principalement trois actions

- elle stimule la synthèse et l'activité de la 1-alpha hydroxylase, enzyme qui catalyse la transformation de la 25(OH) D en 1,25(OH)₂ D (métabolite le plus actif) dans les cellules du tubule proximal ;
- elle augmente la réabsorption rénale du calcium principalement au niveau du tubule contourné distal. Ce processus réduit l'excrétion fractionnelle du calcium (**Bacic et al., 2006**)
- et diminue la réabsorption rénale des phosphates, ce qui abaisse la phosphatémie et augmente la phosphaturie (**Hohenstein et al., 2014**) par inhibition de l'expression de NPT2a, un cotransporteur sodium-phosphate, au niveau de la membrane apicale des cellules du tubule proximal (**Bacic et al., 2006**).

Au niveau de l'os

La parathormone favorise la résorption osseuse en agissant sur deux types de cellules : les ostéocytes et les ostéoclastes. Les ostéocytes sont des ostéoblastes différenciés, logés au sein de l'os minéralisé, qui jouent notamment un rôle dans la régulation de la minéralisation osseuse. La PTH agit en stimulant les ostéocytes à libérer du calcium osseux vers la circulation sanguine modifiant ainsi le remodelage osseux (**Hohenstein et al., 2014**). La quantité de calcium libérée est assez réduite, mais cette action de la PTH permet une hausse rapide de la calcémie.

Les ostéoclastes sont les cellules responsables de la lyse du tissu osseux minéralisé. La PTH agit en stimulant le nombre et l'activité des ostéoclastes. La lyse osseuse permet la libération du calcium, qui constitue le tissu osseux, dans la circulation sanguine. De plus, la PTH inhibe l'accrétion osseuse en réduisant la fixation du calcium sur l'os (**Lu et al., 2014**).

Au niveau de l'intestin

La PTH n'a pas une action directe sur l'intestin. Elle favorise la synthèse du calcitriol par le rein, qui lui, stimule l'absorption intestinale du calcium. En effet, la PTH stimule l'activité de l'hydroxylase dans le tubule proximal et qui à son tour transforme la 25-hydroxyvitamine D en calcitriol. Ce dernier stimule directement plusieurs protéines intestinales transporteuses de calcium (**Souberbielle et al., 2014**).

Toutefois, au cours de l'insuffisance rénale chronique, la parathormone est sécrétée de façon inappropriée (augmentation de la production de la PTH), ce qui entraîne l'hyperparathyroïdie secondaire (**Hagström et al., 2010**). L'hyperparathyroïdie secondaire est due à l'hypocalcémie et à une déficience en vitamine D. Le taux élevé de PTH augmente l'inflammation et le risque d'événements cardiovasculaires (**Lee et al., 2008**). Par ailleurs, ce taux élevé est associé au développement de calcification vasculaire qui augmente la morbi-mortalité (**Ketteler et Biggar., 2009**).

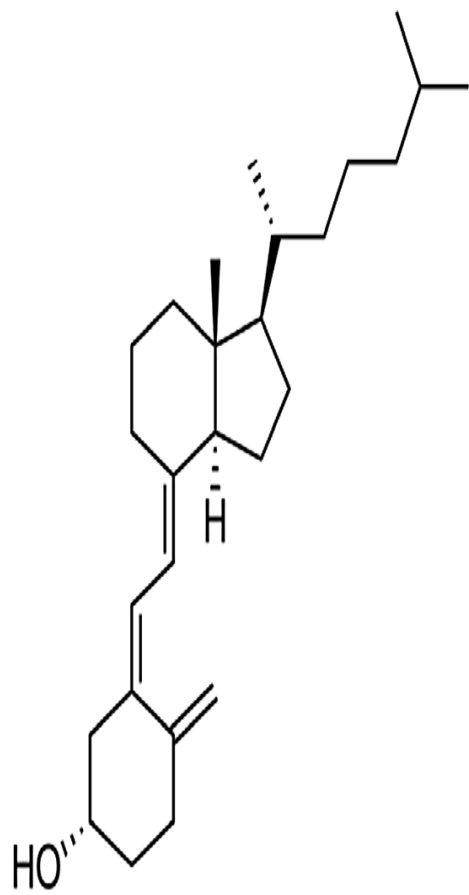
I.4 VITAMINE D

I.4.1 Origine - Structure - Biosynthèse

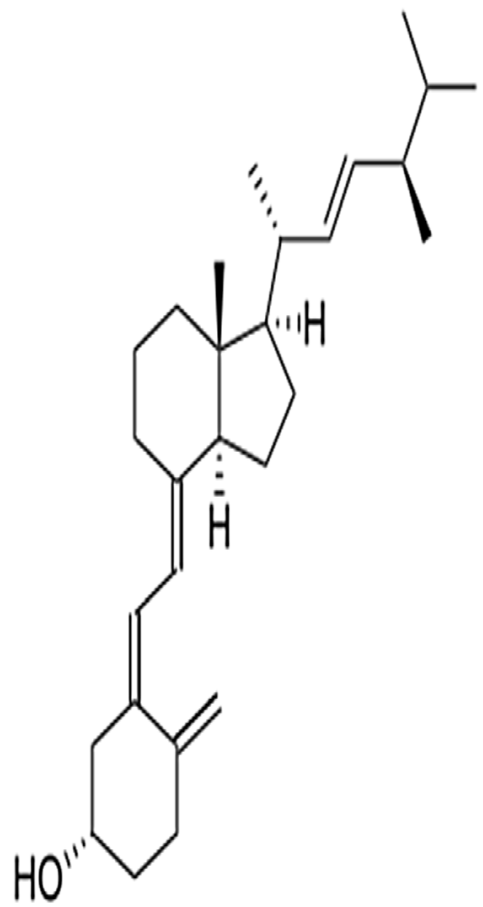
La vitamine D est un stéroïde qui présente une double origine : exogène, qui correspond à l'apport alimentaire mais aussi endogène, résultant d'une néosynthèse intervenant au niveau de l'épiderme (**Holick., 2007**). La vitamine D présente dans l'alimentation est sous deux formes : la vitamine D₂ ou ergocalciférol d'origine végétale et la forme de vitamine D₃ ou cholécalciférol d'origine animale (**Figure 7**). La vitamine D d'origine alimentaire est incorporée dans les micelles mixtes et absorbée dans la partie proximale de l'intestin grêle (**Reboul, et al., 2011**). La vitamine D₃ ou cholécalciférol est la forme principale de la vitamine D. Elle provient principalement de la synthèse au niveau de la peau et de sources animales (**Pilz et al., 2011**). La synthèse de la vitamine D₃ endogène se déroule au niveau de l'épiderme après une exposition aux rayonnements ultraviolets B (UVB) fournis par l'ensoleillement. Elle est réalisée à partir du 7-déhydrocholestérol, un intermédiaire de synthèse du cholestérol, présent dans les membranes des cellules du derme et de l'épiderme. L'énergie fournie par les rayons UVB permet sa transformation en provitamine D, elle-même rapidement convertie sous l'effet de la chaleur en vitamine D₃, libérée dans la circulation (**Heaney et al., 2013**). Quelle que soit

son origine, la vitamine D est stockée dans différents tissus dont les adipocytes et les cellules musculaires à la fois sous forme de vitamine D et de 25 (OH) D (**Heaney *et al.*, 2009 ; Landrier *et al.*, 2012**) en faisant intervenir la mégaline (**Abboud *et al.*, 2013**). Le plasma constitue également un réservoir quantitativement important de 25 (OH) D.

Après son absorption, la vitamine D liée aux chylomicrons ou à la Vitamin D Binding Protein (VDBP) est transportée dans la circulation sanguine ou elle est captée au niveau hépatique (**Figure 8**) puis hydroxylée sur le carbone 25 pour former la 25-hydroxyvitamine D [25 (OH) D] dont la demi-vie est relativement longue (3 à 4 semaines). Cette hydroxylation en position 25 est assurée par plusieurs enzymes de la famille des cytochromes P450 que sont : CYP2R1, CYP27A1, CYP3A4 et CYP2J2 (**Schuster., 2011**) dont la principale enzyme est le CYP2R1 (**Girgis *et al.*, 2013 ; Bouillon *et al.*, 2008**). Après la première hydroxylation, la 25 (OH) D circule dans le sang, majoritairement liée à la VDBP. Ce complexe VDBP-25 (OH) D est endocyté au niveau des cellules du tubule proximal rénal, après filtration glomérulaire, par une protéine de surface appelée mégaline (**Speeckaert *et al.*, 2006 ; Nykjaer *et al.*, 1999**). Une fois dans la cellule, la VDBP est dégradée et le transport intracellulaire de la 25 (OH) D fait intervenir des transporteurs intracellulaires, intracellular vitamin D binding protein (IDBP).



Cholécalciférol



Ergocalciférol

Figure 6 : Structure des vitamines D₂ et D₃

(Landrier., 2014)

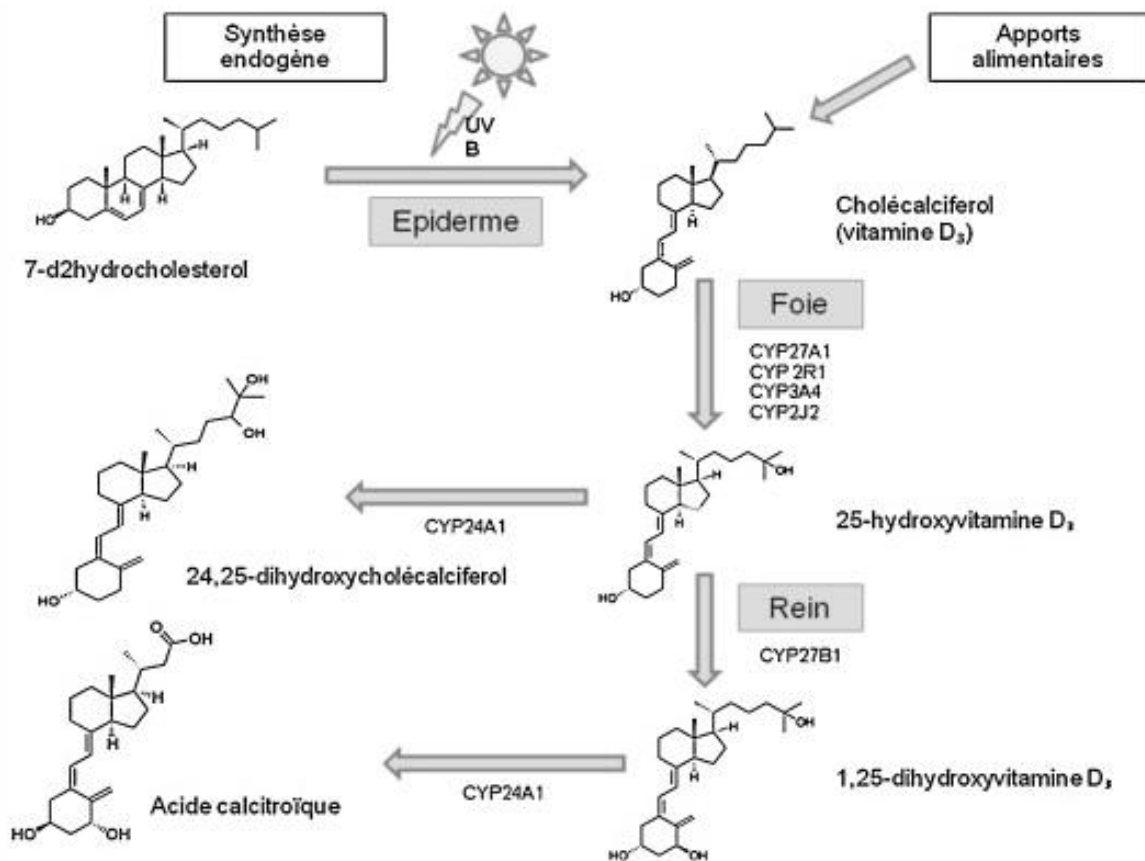


Figure 7 : Métabolisme de la vitamine D

(Landrier., 2014)

La 25 (OH) D est ensuite soit réexcrétée dans la circulation sanguine, soit transloquée à la mitochondrie pour subir une hydroxylation en position 1, aboutissant ainsi à la synthèse du 1,25-dihydroxyvitamine D ou calcitriol, qui est la principale forme active de la vitamine D (**Dusso et al., 2005**). Cette hydroxylation en position 1 est assurée par le cytochrome p 450 27B1 (CYP27B1), fortement exprimé au niveau du rein (**Schuster., 2011**). L'activité du CYP27B1 est très étroitement régulée par différents paramètres du métabolisme phosphocalcique. Elle est principalement stimulée par la parathormone (PTH) et une calcémie basse, tandis qu'elle est inhibée par le fibroblast growth factor 23 (FGF23) et la concentration circulante de 1,25 (OH)₂ D selon un mécanisme de rétrocontrôle négatif. La demi-vie de la 1,25 (OH)₂ D est très courte (environ 4 h) et sa concentration très inférieure à celle de 25 (OH) D. La 1,25 (OH)₂ D exerce des effets endocrines lorsqu'elle est produite par le rein puis transportée via la circulation jusqu'à ses tissus cibles. Cette 1,25 (OH)₂ D peut également avoir des effets autocrines, paracrines, etc. En effet de nombreux tissus et types cellulaires expriment la CYP27B1. C'est notamment le cas des lymphocytes, des macrophages, des adipocytes. Dans ce cas, la 25 (OH) D internalisée dans ces types de cellules peut y être hydroxylée en 1,25 (OH)₂ D qui y agit localement (**Bouillon et al., 2008**). Contrairement à la synthèse rénale, la synthèse extrarénale de 1,25 (OH)₂ D ne semble pas être régulée par la PTH ou la calcémie (**Girgis et al., 2013**).

I.4.2 Métabolisme-Régulation

La 1,25 (OH)₂ D produite par le rein est transportée par la circulation sanguine jusqu'aux cellules-cibles, y pénètre puis se lie à son récepteur cytosolique le VDR présent dans de nombreux tissus (**Holick., 2007**). Le complexe hormone-récepteur migre alors jusqu'au noyau de la cellule où il s'associe au récepteur de l'acide cis-rétinoïque (RXR). La liaison du complexe trimérique RXR-VDR-1,25 (OH)₂ D aux éléments de réponse à la vitamine D (VDRE) de l'ADN stimule ou inhibe la synthèse de nombreuses protéines (**Holick., 2007**). Les effets endocrines les mieux connus de la 1,25 (OH)₂ D concernent le maintien de l'homéostasie phosphocalcique par action sur l'intestin, l'os et le rein : lors d'une baisse de la calcémie, la 1-25 alphahydroxylase rénale est stimulée par la parathormone thyroïdienne dont la sécrétion est induite par l'hypocalcémie. L'hyperphosphorémie diminue l'activité de 1-25 alphahydroxylase rénale.

Le métabolisme de la vitamine D est autorégulé via une voie d'inactivation (**Schuster., 2011**). En effet, le calcitriol induit l'expression de la 24-hydroxylase (CYP24A1) qui convertit la 25 (OH) D₃ et la 1,25(OH)₂ D en métabolites inactifs (24,25 (OH)₂ vitamine D et 1,24,25 (OH)₃ vitamine D) transformés ensuite en acide calcitroïque inactif (**Holick., 2007**). D'autres

enzymes de la famille des cytochromes P450 comme le CYP3A4 peuvent également dégrader le calcitriol dans le foie et l'intestin (Zhou *et al.*, 2006).

I.4.3 Récepteurs de la vitamine D

Le récepteur de la vitamine D fait partie de la super famille des récepteurs nucléaires (Tissandié *et al.*, 2006). Sa structure comprend une région N-terminale, une région C- terminale et une région intermédiaire. La région N-terminale est la moins conservée dans la super famille des récepteurs nucléaires comprend vingt acides aminés pour le récepteur de la vitamine D. Cette région contient un activateur de la transcription AF1; la région C- terminale comprend huit cystéines en position stable qui permettent la formation de deux doigts de zinc. Ce domaine est essentiel à l'activation de la transcription. La fixation de la vitamine D entraîne un changement dans la configuration du récepteur permettant la liaison à HRE sur le gène cible. La spécificité de liaison du récepteur à son HRE est déterminée par le premier doigt de zinc. Le deuxième doigt de zinc permet la dimérisation du récepteur et la région intermédiaire concerne le domaine de fixation de l'hormone (vitamine D) (Hsieh *et al.*, 1998).

I.4.4 Mode d'action de la vitamine D

Le calcitriol est donc synthétisé en réponse à une hypocalcémie.

Au niveau de l'intestin

La 1,25 (OH)₂ D augmente l'absorption intestinale du calcium et du phosphate en stimulant l'expression et la synthèse des protéines qui assurent le transport du calcium dans l'entérocyte et son extrusion dans le compartiment sanguin dont les canaux TRPV6, la calbindine 9K et la pompe à calcium ATP dépendante. La vitamine D active (1,25 di OH vitamine D), par un effet direct sur l'ostéoclaste et indirect via les ostéoblastes ;

Au niveau osseux

Elle stimule la production ostéoblastique de RANKL, cytokine qui stimule la résorption osseuse par augmentation de la différenciation ostéoclastique (Jurutka *et al.*, 2007) et stimule également la formation et la minéralisation osseuses ;

Au niveau du rein

Le calcitriol contribue, en synergie avec la PTH, à la réabsorption du calcium au niveau du tubule distal. Par ailleurs, le calcitriol agit directement sur les glandes parathyroïdiennes en inhibant la synthèse de l'ARN messager de la PTH, et de ce fait exerce un rétrocontrôle négatif. Cependant, la carence en vitamine D est observée au cours de l'insuffisancerénale chronique. Cette carence en vitamine D est associée au risque d'hypocalcémie et d'hyperparathyroïdie secondaire (HPTS) qui constitue la cause principale d'ostéoporose secondaire. Le risque est

encore plus multiplié chez les dialysés (**Alem *et al.*, 2000**). Au stade de la dialyse, l'insuffisance en vitamine D est très fréquente, entre 81 et 96 % selon les études (**García-Canton *et al.*, 2011** ; **Krassilnikova *et al.*, 2014**).

I.5 ERYTHROPOÏÉTINE

I.5.1 Origine - Structure - biosynthèse

L'érythropoïétine (EPO) est une glycoprotéine de 34 000 daltons, purifiée pour la première fois en 1977 à partir d'urine de patients anémiques (**Miyake *et al.*, 1977** ; **Porter *et Goldberg.*, 1994**). Sa structure est formée de 4 hélices α et de deux ponts disulfures (entre les cystéines 7 et 161, ainsi qu'entre les cystéines 29 et 33). Chez l'homme, le gène qui code pour l'EPO se situe sur le chromosome 7 (7q22). Au cours du développement embryonnaire, l'EPO est d'abord produite par le foie puis par le rein pour agir sur les progéniteurs érythroïdes dans la moelle osseuse (**Jelkmann., 2011**). Cependant, l'EPO circulante plasmatique est principalement synthétisée par le rein, au niveau des fibroblastes interstitiels. La synthèse d'EPO s'effectue également dans de plus faibles quantités au niveau de nombreux tissus de l'organisme : cerveau, poumon, cœur (**Morishita *et al.*, 1997** ; **Sakanaka *et al.*, 1998** ; **Maiese *et al.*, 2009** ; **Soliz., 2013**), mais aussi au niveau du foie (**Benaisa., 2014**). L'EPO est sécrétée sous forme de pro-hormone, d'une taille de 193 acides aminés, qui subit un clivage au niveau de l'arginine C-terminale pour aboutir à une molécule finale de 165 acides aminés (chaîne monocaténaire). La forme active de cette hormone possède, avec un poids moléculaire de 184 000 daltons, deux ponts disulfures et quatre sites de glycosylation. Seule la forme glycosylée est active *in vivo*.

Elle s'effectue sur quatre sites différents : trois sites de N-glycosylation (sur les asparagines 24, 38 et 83) et un site de O glycosylation (sur la sérine en position 26). La glycosylation joue un rôle important dans la conformation, la sécrétion, la demi-vie de la molécule et dans l'activité biologique de l'EPO (**Jelkmann., 1997**).

I.5.2 Métabolisme de l'érythropoïétine

La synthèse d'EPO est sous la dépendance d'un facteur transcriptionnel appelé hypoxia inductible factor (HIF) constitué d'un dimère. Ce dimère est composé d'une partie constitutive et stable dans la cellule et d'une autre partie instable et dégradée par l'oxygène. L'ensemble de la partie constitutive et stable et l'autre partie instable se fixe sur son promoteur d'activation au niveau de l'ADN conduit à la synthèse de nombreux transcrits de protéines, dont l'EPO (**Jewell *et al.*, 2001** ; **Sirén., 2001**). La régulation est étroite entre le taux d'oxygène délivré aux tissus, la concentration d'EPO sérique et le nombre de globules rouges circulants. En cas d'hypoxie

tissulaire, la synthèse d'EPO augmente, entraînant ainsi l'augmentation de la production d'érythrocytes (globules rouges) (**Figure 9**). L'augmentation de la production des globules rouges va en retour favoriser l'oxygénation rénale, et ainsi exercer un rétrocontrôle négatif sur la synthèse d'EPO. L'érythropoïétine est normalement libérée dans la circulation systémique en réponse à une diminution de la pression en oxygène perçue par les cellules sécrétrices du tissu rénal (**Eckardt *et al.*, 1989**). Sa dégradation est hépatique, 5 à 10% de l'hormone est éliminé par le rein.

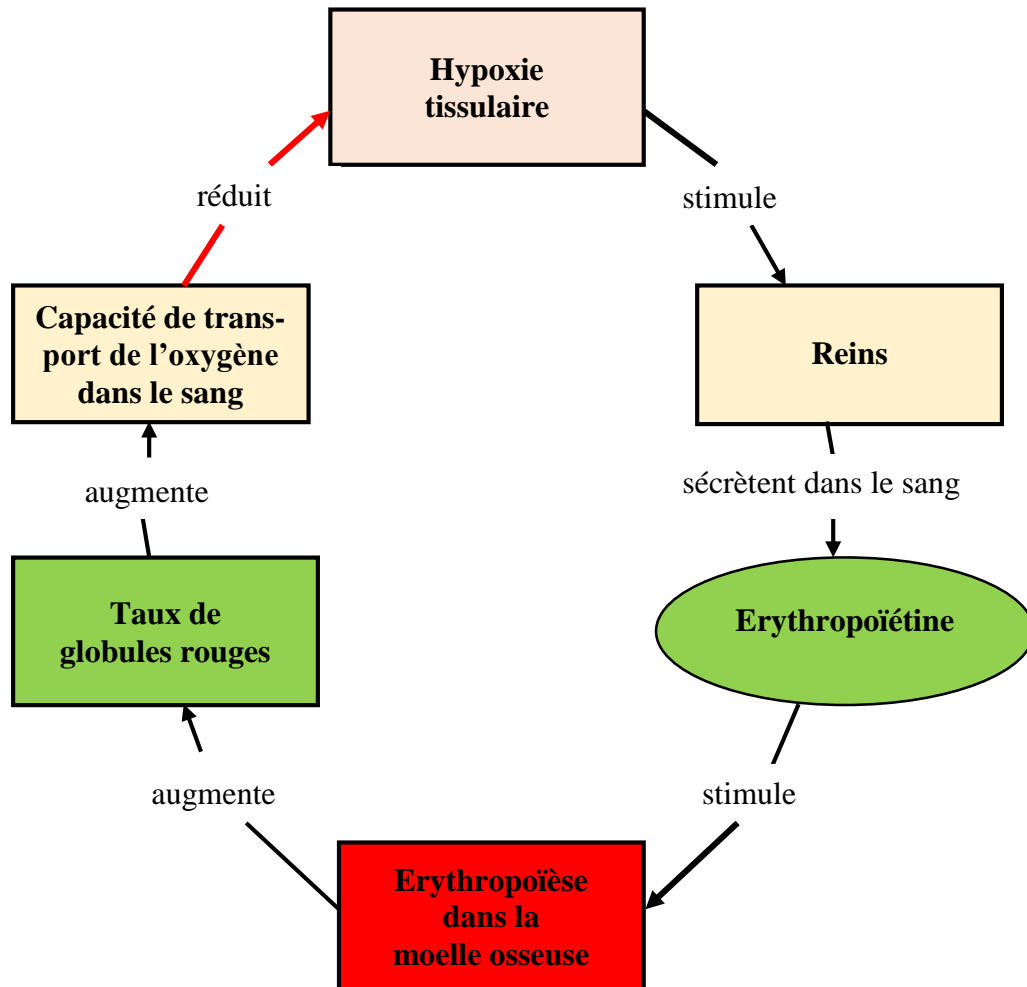


Figure 8 : Régulation de la synthèse de l'érythropoïétine sous l'influence de l'hypoxie tissulaire
(Frossard, 2012)

I.5.3 Récepteurs de l'érythropoïétine

Pour avoir une action cellulaire, l'EPO se lie à son récepteur (EPO-R) (Noreau., 2002). Chez l'homme, le gène qui code pour EPO-R est de petite taille (environ 5500 bases), il est localisé sur le chromosome 19 et est composé de 8 exons et de 7 introns (Youssoufian *et al.*, 1993).

Le récepteur de l'EPO (EPO-R) est une protéine appartenant à la famille des récepteurs aux cytokines de classe I (Bazan., 1990). Il est composé de deux monomères transmembranaires : le domaine intra-membranaire et le domaine extra-membranaire sur lequel se situe le site de fixation de l'EPO. La liaison de l'EPO sur son récepteur entraîne un changement conformationnel, conduisant ainsi à l'activation des protéines JAK2 par transphosphorylation.

Les protéines JAK2 activées vont phosphoryler les tyrosines du domaine intracellulaire de l'EPO-R qui servent d'ancrage à plusieurs protéines (STAT5, SHP1, SHP2, SHIP, sous-unité de la PI3K, Grb2, la tyrosine kinase et SOCS). Ces protéines sont à leur tour activées par phosphorylation, entraînant l'activation de plusieurs voies de signalisation intracellulaire (voies STAT5, Ras/MAPK, et PI3K/Akt). Le couple EPO/EPO-R induit la prolifération, la survie et la différenciation cellulaire via diverses voies de signalisation (Figure 10) (Lefevre., 2013).

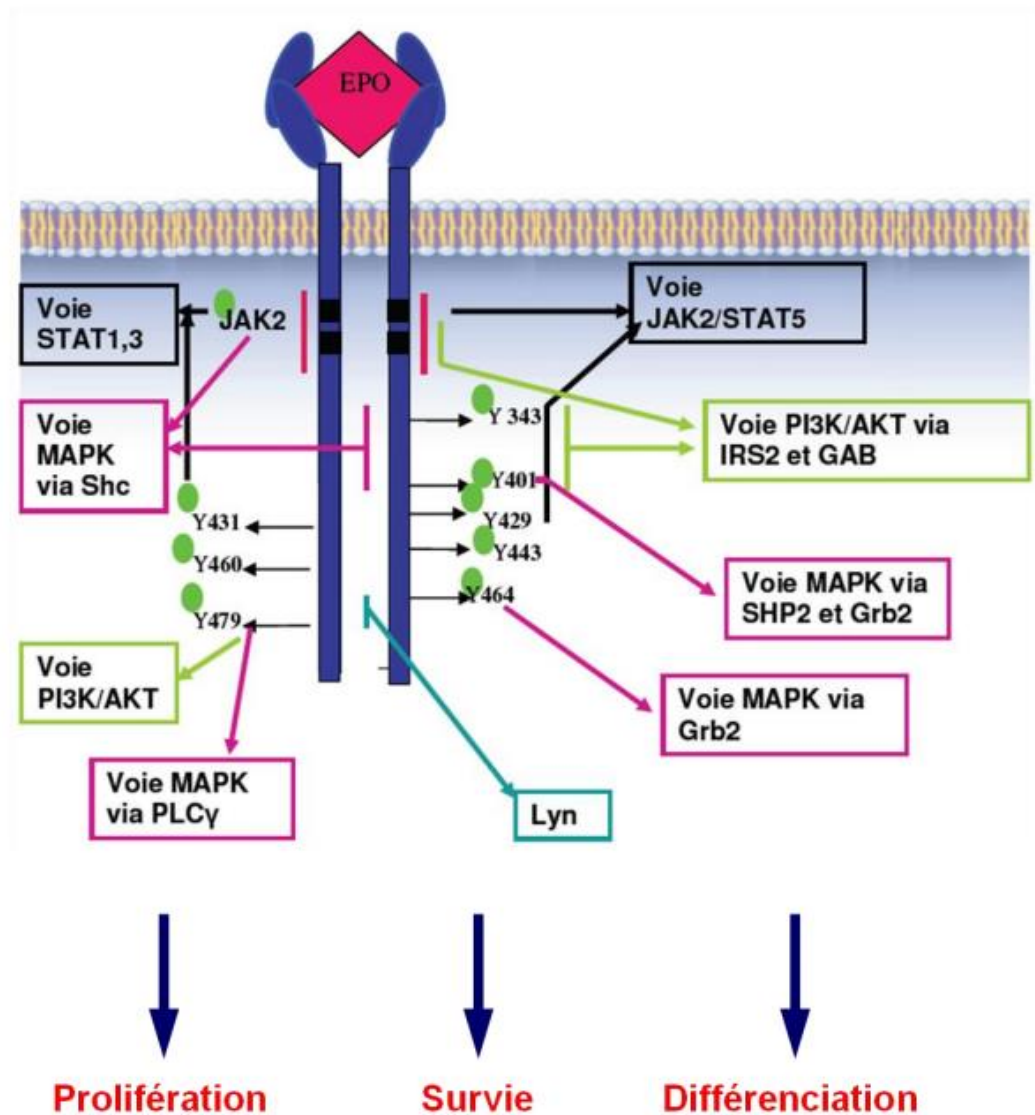


Figure 9 : Principales voies de signalisation activées

(Lefevre., 2013)

La fixation de l'EPO sur son récepteur EPO-R conduit à la :

- ✓ phosphorylation des :
 - : JAK2 et résidus Tyrosine (Y) du récepteur
- ✓ activation des différentes voies de signalisation
 - : JAK2/STAT
 - : Ras/MAPK
 - : PI3K/Akt.

I.5.4 Mode d'action de l'érythropoïétine

L'érythropoïétine (EPO) stimule la maturation des globules rouges au niveau de la moelle osseuse. C'est une hormone indispensable à l'érythropoïèse (**Figure 11**).

L'EPO a une fonction non seulement dans l'hématopoïèse, mais aussi dans différents tissus non érythroïdes (cellules rétinienne et les astrocytes ...) participant à la protection cellulaire contre le stress et à la prévention « l'apoptose ». L'expression d'EPO dans les tissus non érythroïdes représente environ 15 à 20% de la production totale dans tout l'organisme (**Ponce et al., 2013**). Les effets de l'EPO sont produits par l'interaction EPO / EPOR, qui active les cascades de signalisation qui agissent sur le contrôle de l'apoptose, diminuant le taux de mort cellulaire dans la moelle osseuse au cours des dernières étapes du développement des cellules souches érythroïdes, en particulier pendant l'unité de formation de colonies-érythroïde (CFU-E) (**Hernández et al., 2017**). L'hormone circulante favorise la prolifération, la différenciation et la maturation des progéniteurs érythroïdes en érythrocytes, ce qui améliore finalement le transport de l'oxygène en tant que fonction clé. La plage normale d'EPO chez les individus en bonne santé est de 10 à 20 (mUI / mL) avec une demi-vie de 7 à 8 heures (**Bunn, 2013 ; Toledo et al., 2006**).

Au cours de l'insuffisance rénale chronique, la diminution ou l'absence de la production rénale d'érythropoïétine entraîne chez ces patients des troubles de l'hémostase caractérisés par des anomalies plaquettaires et le développement de l'anémie (**Fournier-Charriere., 2007**). De plus, ces patients insuffisants rénaux chroniques sont fréquemment carencés en fer en raison d'une moins bonne absorption digestive du fer (**Locatelli et al., 2004**). L'anémie est une complication fréquente de l'insuffisance rénale chronique (IRC), elle altère profondément la qualité de vie des patients et conditionne le pronostic par son action sur le cœur (**Go et al., 2004**).

L'anémie de l'IRC est précoce et apparaît dès que le débit de filtration glomérulaire devient inférieur à 60 mL/min/1,73 m² (**Brunet et al., 2006**). Ses principales causes sont l'insuffisance de production d'érythropoïétine (EPO) et la résistance à l'action de celle-ci. Cette résistance est principalement due à la carence martiale et aux inhibiteurs de l'érythropoïèse dont les principaux sont les cytokines pro-inflammatoires (**Brunet et al., 2006**). Le bilan de l'anémie consiste en la mesure de l'hémoglobine, de l'hématocrite, du nombre d'érythrocytes, de réticulocytes, du taux de fer ionisé, la saturation de la transferrine et de la ferritinémie... (**Kundrapu et Noguez., 2018**). L'anémie expose à l'hypertrophie ventriculaire gauche et à un risque accru d'insuffisance cardiaque (**Weiner et al., 2005**), elle affecte la qualité de vie (**Leaf et Goldfarb., 2009**), ainsi qu'elle augmente la morbidité et la mortalité (**Rao et Pereira., 2005**).

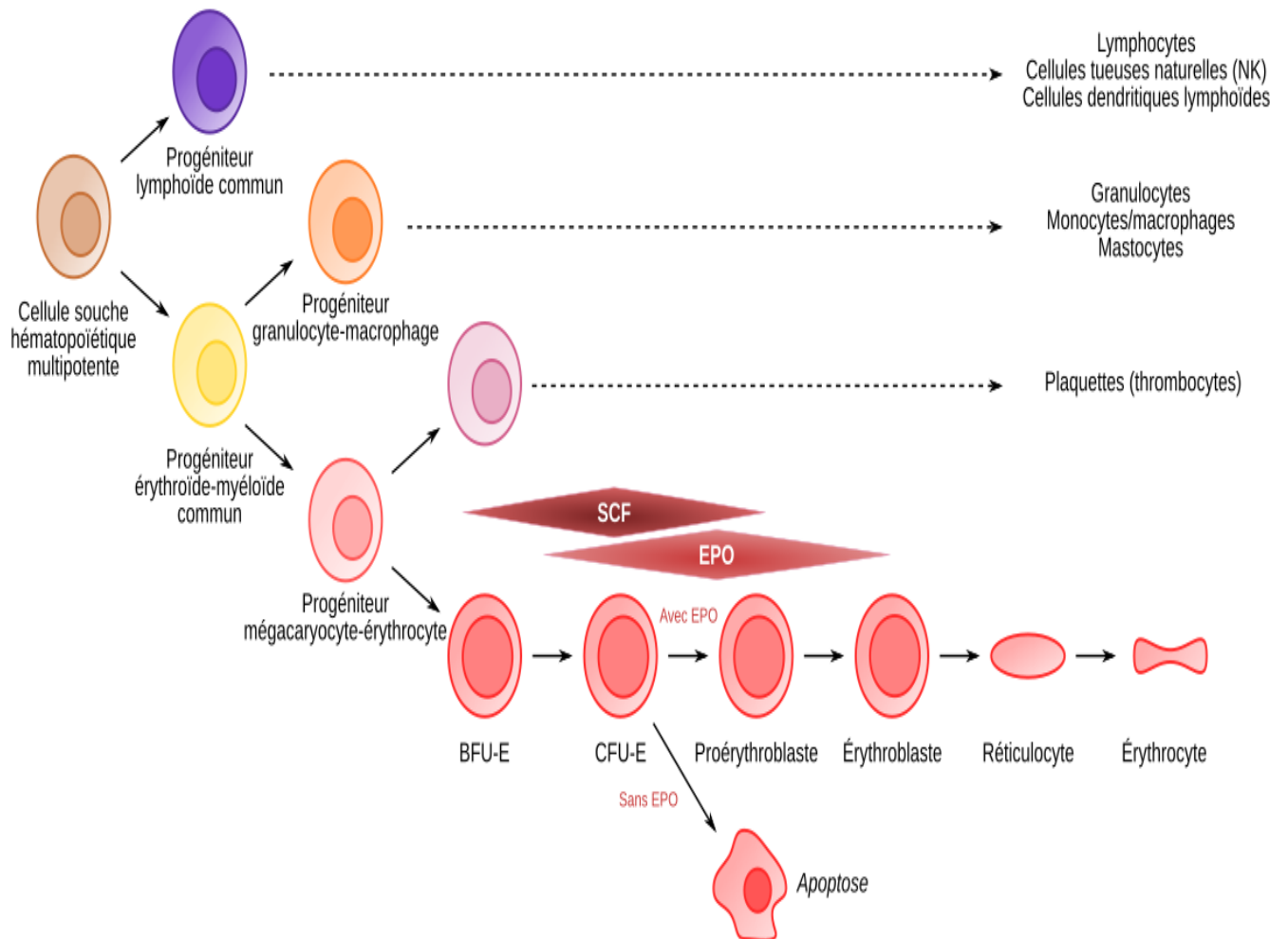


Figure 10 : Etapes de l'érythropoïèse
(Jauzein, 2018)



II-MATERIEL ET METHODES

II.1 LIEU ET TYPE D'ETUDE

Il s'agit d'une étude transversale analytique qui s'est déroulée au Département de Biochimie Médicale et Fondamentale de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI).

II.2 POPULATION D'ETUDE

Cette étude a concerné tous les échantillons de patients atteints d'insuffisance rénale chronique et non dialysés (46 patients IRC), de patients atteints d'insuffisance rénale chronique et dialysés (46 patients hémodialysés) provenant du service du Centre National de Prévention et de Traitement de l'Insuffisance Rénale (CNPTIR), des Centres Hospitaliers Universitaires (CHU) de Cocody, de Treichville et de l'Hôpital Général d'Adjamé (HGA).

II.2.1 Critères de sélection des sujets

Critères d'inclusion

Cette étude a regroupé toutes les personnes répondant aux critères d'inclusion suivants :

✓ Echantillons patients

Les échantillons de patients adultes (>18 ans) hémodialysés et ceux atteints d'insuffisance rénale chronique et non dialysés ($DFG < 60 \text{ mL/min/1,73m}^2$) (**Chadban et al., 2020**). Les patients ayant donné leur consentement pour le prélèvement sanguin.

✓ Echantillons témoins

Les échantillons de personnes adultes (>18 ans) des deux sexes en bonne santé ne présentant aucun signe clinique et biologique d'insuffisance rénale et ayant accepté volontairement de participer à cette étude. Les témoins (46 volontaires) ont été recrutés dans différentes communes de la ville d'Abidjan.

Critères de non inclusion

✓ Echantillons patients

Les échantillons des patients présentant une affection rénale aiguë, d'enfants et de femmes enceintes et les transplantés rénaux et les personnes souffrant d'anémie non liées à l'insuffisance rénale n'ont pas été inclus dans l'étude.

✓ Echantillons témoins

Les personnes souffrant de pathologie telle que le diabète, l'hypertension, le VIH et/ou n'ayant pas donné leur accord de participation à l'étude.

II.2.2 Taille de l'échantillon

La taille de l'échantillon a été déterminée grâce à la formule de **Schwartz (1969)** en considérant la prévalence de l'insuffisance rénale en Côte d'Ivoire.

$$n = \frac{Z^2 \times P \times (1-P)}{i^2}$$

n : Taille de l'échantillon minimale pour l'obtention de résultats significatifs pour un évènement et un niveau de risque fixé

z : Valeur z value pour des limites de confiance de 95% (1,96)

p : Prévalence estimée (2,1%) (**Stanifer et al., 2014**)

i : intervalle de confiance (5%)

$$n = \frac{1,96^2 \times 0,021 \times (1-0,021)}{0,05^2}$$

$$n = 31,59$$

II.2.3 Aspect éthique

Cette étude a été conduite conformément à la déclaration d'Helsinki (version 2013) ainsi qu'aux lois et procédures en vigueur en Côte d'Ivoire. Aussi, elle a eu l'autorisation de mise en œuvre par le comité national d'éthique des sciences de la vie et de la santé (CNESVS) sous le numéro 023-20/MSHP/CNESVS-km. De plus, le consentement a été obtenu des insuffisants rénaux, des hémodialysés et des volontaires pour l'utilisation des échantillons de sang pour la recherche. Enfin, une autorisation a été obtenue auprès des centres d'hémodialyse.

II.3 MATERIEL

II.3.1 Matériel biologique

Le matériel biologique est constitué de sérums, de plasma et de sang total de patients insuffisants rénaux non dialysés et hémodialysé, mais également de témoins volontaires. Les échantillons de sang ont été prélevés chez des sujets à jeûn sur tube sans anticoagulant (tubes secs), sur tube contenant de l'éthylène diamine tétra acétique (EDTA) et sur tube contenant de l'oxalate de potassium et de fluorure de sodium. Les échantillons de sang prélevé ont été placés dans des glacières contenant des accumulateurs de froid (ice-packs) accompagnés de fiches de

suivi du prélèvement (**Duchassaing, 1997**) et acheminés au Département de Biochimie de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire.

II.3.2 Matériel technique

II.3.2.1 Appareillage

L'équipement technique utilisé pour la réalisation de ce travail comprend, les appareils ci-après:

➤ En biochimie

- L'automate Cobas C 311 de marque Roche diagnostic (France) pour le dosage des paramètres biochimiques ;
- L'automate Vidas de Biomérieux (France) pour le dosage de la parathormone (PTH) et la 25-hydroxyvitamine D ;
- L'analyseur d'électrolyte 9180 de Roche diagnostic (France) pour l'ionogramme ;
- Une chaîne ELISA de Gentaur (France) pour le dosage de l'érythropoïétine (EPO).

➤ En hématologie

L'analyseur hématologique Sysmex XN-1000 Kobé (Japon) pour la Numération Formule Sanguine (NFS) et le taux de réticulocyte.

II.3.2.2 Petit matériel

Le petit matériel comprend les aiguilles de prélèvement, de l'alcool médical, du coton, les tubes contenant de l'EDTA à bouchon violet, les tubes contenant du fluorure de sodium et l'oxalate de calcium à bouchon gris, les tubes secs sans anticoagulant à bouchon rouge, les embouts, les gangs, un rouleau de papier aluminium, des cryotubes et des micropipettes.

II.3.3 Réactifs

Les réactifs ayant servi à la réalisation du présent travail sont :

➤ En biochimie

- Des kits de réactifs spécifiques de marques Roche diagnostic (France) ont servi aux dosages des paramètres biochimiques classiques (urée, créatinine, CRP, calcium, magnésium, phosphore, cholestérol total, cholestérol HDL, cholestérol LDL, triglycéride, Transaminases, glycémie, fer sérique, transferrine, ferritine) sur l'automate COBAS C 311 ;

- Des coffrets de réactifs de BioMérieux pour le dosage de la parathormone (PTH) et la 25-hydroxyvitamine D sur l'automate Vidas ;
- Le conteneur SnapPak universel pour l'ionogramme sanguin sur l'automate d'électrolyte 9180 de Roche diagnostic ;
- Le Kit Human EPO de Sigma-Aldrich pour le dosage de l'EPO.

➤ En hématologie

- les kits de l'analyseur Sysmex XN-1000 Kobé (Japon) pour la Numération Formule Sanguine (NFS) et le taux de réticulocyte.

II.4 METHODES

II.4.1 Accueil des patients

Cette étape consistait à présenter l'étude aux patients à l'aide de la notice d'information (**Annexe 8**). Tous les patients ayant accepté de participer à l'étude ont rempli le formulaire de consentement éclairé (**Annexe 9**) et ont été soumis à une fiche d'enquête (**Annexe 10**). Une fois la fiche d'enquête correctement remplie (fiche renseignée), les prélèvements ont été effectués.

II.4.2 Recueil et traitement des échantillons

Les prélèvements ont été effectués par ponction veineuse, au niveau du pli du coude chez des sujets à jeun. Chez les hémodialysés chroniques, le prélèvement a été fait avant et après la séance de dialyse dont la fréquence était de deux fois par semaine. Le sang a été recueilli dans trois (3) tubes à savoir un tube sec sans anticoagulant à bouchon rouge (5 mL) pour le dosage des paramètres biochimiques, un tube contenant du fluorure de sodium et l'oxalate de calcium à bouchon gris (5 mL) pour le dosage de la glycémie et un tube contenant de l'EDTA à bouchon violet (5 mL) pour la Numération Formule Sanguine (NFS) ainsi que le taux des réticulocytes. Les tubes secs et ceux contenant du fluorure de sodium et l'oxalate de calcium comme anticoagulant ont été acheminés au laboratoire puis centrifugés à 3 000 tr/min pendant 5 min à l'aide d'une centrifugeuse (THE DRUCKER CO., USA). Le sérum des tubes secs et le plasma des tubes gris ont été recueillis dans des tubes eppendorf et conservé à - 20°C jusqu'au moment des différentes analyses des marqueurs biochimiques. Le sérum a servi la réalisation des paramètres hormonaux (25-hydroxyvitamine D₃, érythropoïétine et parathormone) et biochimiques (urée, créatinine, calcium, phosphore, magnésium, fer sérique, ferritine, transferrine, triglycérides, cholestérol total, cholestérol HDL, cholestérol LDL, Transaminases,

glycémie et ionogramme). Les sérums obtenus à partir des tubes secs ont été aliquoté en doublet ou triplet à raison de 500 à 1000 µL dans des tubes eppendorf. Les aliquots devant servi au dosage de 25-hydroxyvitamine D₃ ont été mis à l'abri de la lumière, c'est à dire emballé dans du papier aluminium pour éviter tout phénomène d'oxydation. Le plasma des tubes gris a été utilisé pour le dosage sanguin du glucose. Quant au sang total contenu dans les tubes EDTA, il a servi directement à la détermination des marqueurs hématologiques.

II.4.3 Stade de la maladie chez les insuffisants rénaux chroniques

L'équation CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology collaboration) (**Levey et al., 2009**) a permis d'estimer le débit de filtration glomérulaire (DFG) et donc de connaître le stade de la maladie rénale chronique chez les patients insuffisants rénaux n'ayant jamais été dialysés.

Cette équation est la suivante :

$$\text{DFG (en mL/min/1,73 m}^2\text{)} = 141 \times \min(\text{Scr}/\kappa, 1)^\alpha \times \max(\text{Scr}/\kappa, 1) \times 1,209 \times 0,993^{\text{Age}} \times 1,159$$

Scr = créatinine sérique

$\kappa = 0,7$ pour les femmes et $0,9$ pour les hommes

$\alpha = -0,329$ pour les femmes et $-0,411$ pour les hommes

min = le minimum de Scr/k ou 1 ; max = le maximum de Scr/k ou 1

1,159 se réfère au facteur ethnique pour les Africain-Américain

Dans cette formule, nous n'avons pas tenu compte du facteur racial Africain-Américain (AA). En effet, d'après les travaux de **Yayo et al., (2016)**, il ressort que les formules MDRD et CKD-Epi, se sont avérées plus performantes en absence du facteur AA au sein des sujets adultes noirs Africains. La formule CKD-EPI ne doit pas être utilisée pour les jeunes de moins de 18 ans.

II.4.4 Méthodes de dosage des marqueurs hématologiques

Le système automatisé XN-1000 de Sysmex est utilisé pour le dosage des marqueurs hématologiques. Cet appareil effectue des analyses suivant une combinaison de trois méthodes qui sont :

- la méthode de la focalisation hydrodynamique encore appelée la méthode de détection par mesure de l'impédance,
- la méthode de détection de l'hémoglobine par sulfolyser et
- la cytométrie en flux fluorescente (par diode laser) (**Ormerod et al., 1993**).

✓ **Principe du Sysmex XN-1000 Kobe**

La focalisation hydrodynamique, c'est-à-dire la détection par mesure de l'impédance est un système qui permet le passage des cellules sanguines une à une entre deux électrodes (le tube capillaire), ce qui permet de compter les globules rouges et les plaquettes. Le passage de ces cellules sanguines est facilité par un réactif de gainage et le courant électrique appliqué entre les deux électrodes varie à chaque passage de cellule, ce qui crée une impulsion électrique proportionnelle à la taille de la cellule. Les plaquettes et les globules rouges sont séparés par leur taille, entre 2 et 40 fL pour les plaquettes et entre 40 et 250 fL pour les globules rouges (**Gérard., 2017**). Au cours du comptage des globules rouges, les hématocrites sont calculés via la méthode de détection de la hauteur d'impulsions des globules rouges.

La méthode de détection de l'hémoglobine par sulfolyser est basée sur la vitesse de conversion de l'hémoglobine en oxyhémoglobine. En réalité, après la lyse des hématies, l'hémoglobine est instantanément convertie en oxyhémoglobine dont l'absorbance mesurée est directement proportionnelle à la quantité d'hémoglobine dans la chambre de mesure.

La cytométrie permet la quantification et la classification des cellules (leucocytes, réticulocytes, plaquettes, globules rouges) en suspension dans une matrice liquide. Un fluorochrome ajouté à l'échantillon se fixe sur l'ADN ou l'ARN des cellules. Un faisceau de diode laser traverse une chambre de mesure dans laquelle il entre en contact avec la cellule présente, ce qui provoque la diffraction du faisceau en plusieurs directions. Le fluorochrome absorbe l'énergie du laser et réémet l'énergie absorbée sous forme de photons d'une longueur d'onde plus élevée. C'est la lumière réémise (par fluorescence) qui permet de classer la population cellulaire suivant plusieurs critères et de les trier. Les signaux mesurés sont essentiellement relatifs aux propriétés optiques intrinsèques des particules. Les signaux des fluorochromes séparés par des filtres optiques sont collectés par des photo-multiplieurs, amplifiés, numérisés, traités et stockés par un ordinateur par l'intermédiaire d'une composante informatique et optique (miroir dichroïque et filtre optique). Ce procédé d'analyse individuelle (cellule par cellule) est multiparamétrique et peut s'effectuer à la vitesse de plusieurs milliers de cellules par seconde. L'ordinateur calcule les données statistiques associées aux distributions des paramètres mesurés et les propriétés des populations cellulaires sont ainsi évaluées (**Gérard., 2017**).

✓ **Mode opératoire du sysmex XN-1000 Kobe**

Après la mise sous tension de l'automate Sysmex XN-1000, le contrôle est réalisé pour s'assurer du bon fonctionnement de l'appareil. Dans le menu, l'option « poste de travail » est

choisi puis les informations (nom, prénom, identifiant, sexe, âge) concernant les échantillons sont enregistrés sur l'ordinateur ainsi que l'examen « CBC+DIFF+RET ». Les échantillons sont agités doucement pour bien homogénéiser le sang et disposés dans les différents racks en respectant leur position d'enregistrement puis l'option « démarrer » est choisi. Les résultats sont imprimés par échantillons grâce à une imprimante connectée à l'unité centrale de l'automate.

L'hémoglobine, les plaquettes, les constantes érythrocytaires sont les paramètres utilisés dans l'interprétation d'une partie des résultats de cette étude.

L'anémie se définit par une diminution de l'hémoglobine (Hb) circulante en deçà des valeurs normales selon l'âge (homme < 13g/dL, femme < 12g/dL). Selon la classification de l'OMS, l'anémie est sévère devant un taux d'Hb inférieur à 8g/dL ; modérée lorsque le taux d'hémoglobine est compris entre 8-10 g/dL, et légère pour un taux d'Hb supérieur à 10g/dL (**Zandecki et al., 2007 ; Girard et al., 2009**).

La recherche étiologique de l'anémie a reposé sur deux grandes classifications basées sur les indices érythrocytaires que sont les valeurs de VGM et secondairement de CCMH (**Zandecki et al., 2007**) (**Tableau I**).

Les anomalies de la taille des hématies (VGM) ont permis de définir les anémies suivantes :

- l'anémie normocytaire ; elle se traduit par un VGM normale (80 à 98 μ^3 ou fL). Le VGM utilisé au laboratoire est compris entre 80 à 95 fL (**Zandecki et al., 2007**)

- l'anémie microcytaire qui se traduit par la taille des globules rouges, anormalement petite, elle s'accompagne toujours d'une diminution de la fabrication de l'hémoglobine. La valeur de VGM est inférieure à la normale (< 80 fL) et enfin,

- l'anémie macrocytaire qui est définie par une assez grande taille des globules rouges. La valeur de VGM est supérieure à la normale (> 95 fL).

Les anomalies des hématies qui concernent la couleur ou la concentration en hémoglobine (CCMH) ont permis de définir :

- l'anémie normochrome qui se traduit par une concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine normale. La valeur normale de la CCMH est normale de 32 à 36 g/dL.

- l'anémie hypochrome qui se révèle par une concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) inférieure à la normale.

Le reflet de l'érythropoïèse est révélé par le taux de réticulocyte. Ce qui a permis de définir

- le caractère arégénératif qui se rapporte à un taux de réticulocyte inférieur ou égal à la normale.

Il fait ressortir l'origine centrale de l'anémie. La valeur normale est de 25 à 100 $10^9/\mu\text{L}$
- le caractère régénératif qui se traduit par un taux de réticulocyte supérieur à la normale. Il implique l'origine périphérique de l'anémie.

Le taux de réticulocytes a été calculé pour la population d'étude souffrant d'anémie.

Tableau I : Valeurs de référence de la numération globulaire et des constantes hématimétriques

Paramètres	Valeurs de référence
Globules Rouges (GR)	3,8 – 6,0 10 ⁶ /μL
Hématocrite (Ht)	35 – 54 %
Hémoglobine (Hb)	12 – 18 g/dL
Volume Globulaire Moyen (VGM)	80 – 95 fL
Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (CCMH)	32 – 36 g/dL
Taux Corpusculaire Moyen en Hémoglobine (TCMH)	27 – 32 pg
Réticulocytes (RET)	25 – 100 10 ⁹ /μL

VGM[‡] = Volume Globulaire Moyen ;

- Sa formule est : $VGM = Ht / GR$ (Ht = hématocrite ; GR = Globules rouges)

fL[‡] = Femtolitre = 10⁻¹⁸ m³ = 10⁻¹⁵ L

CCMH[§] = Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine ;

- Sa formule est : $CCMH = Hb / Ht$, (Hb = hémoglobine)

II.4.5 Méthodes de dosage des marqueurs biochimiques

Le dosage des paramètres biochimiques a été réalisé à l'aide des kits prêts à l'emploi de l'automate Cobas C 311 Hitachi de Roche Diagnostic, France. Le Cobas C 311 est un analyseur de biochimie clinique entièrement automatisé. Il a permis des dosages manuels des paramètres biologiques dans un circuit complètement fermé sans intervention humaine. Son utilisation est prévue pour la détermination qualitative et quantitative d'une vaste gamme d'analyse biochimique dans différents liquides corporels.

✓ Principe de l'automate Cobas C 311

L'automate Cobas C 311 Hitachi est un spectrophotomètre dont le principe est basé sur la réaction de TRINDER qui est une méthode enzymatique et colorimétrique utilisant un chromogène. L'intensité de la coloration développée est directement proportionnelle à la concentration de la substance dosée (**Deyhimi et al., 2006**).

✓ Mode opératoire de l'automate Cobas C 311

L'analyse quantitative des paramètres biochimiques a été réalisée à partir du sérum après la mise sous tension de l'automate Cobas C 311 Hitachi. Il s'en suit l'étape de la calibration des kits et la validation des résultats du contrôle qualité. Pour ce faire, les portoirs "porte échantillon" sont confirmés dans leur position. Aussi les portoirs "porte cassette Contrôle", "porte cassette Calibrateur", "porte cassette Réactifs" et "porte Echantillon" sont installés dans leurs compartiments respectifs dénommés "Cassettes et Echantillons". Le sérum de contrôle (Precinorm universel) est dosé et la calibration est réalisée. Lorsque la valeur de contrôle s'avère exacte, les échantillons des patients peuvent être dosés. La fiche qui apparaît à l'écran de travail est remplie en y indiquant le code identifiant, le nom et le prénom du patient. Les paramètres à doser sont sauvegardés et validés en appuyant sur la touche "START". Les résultats sont obtenus directement en concentration après conversion des absorbances à partir des équations des droites d'étalonnage incorporées dans l'automate. Le dosage des marqueurs biochimiques est effectué selon différents principes et méthodes mentionnés dans les notices qui accompagnent les kits des réactifs. Les valeurs de référence (**Yapo et al., 1989 ; Duployez, 2020**) des marqueurs biochimiques recherchés ont permis d'interpréter les résultats obtenus (**Tableau II**). L'automate Cobas C 311 convertit directement les densités optiques obtenues après la lecture en concentration à partir d'une droite d'étalonnage incorporée dans l'appareil.

Tableau II : Valeurs normales de référence des marqueurs biochimiques recherchés(Yapo *et al.*, 1990 ; Duployez., 2020)

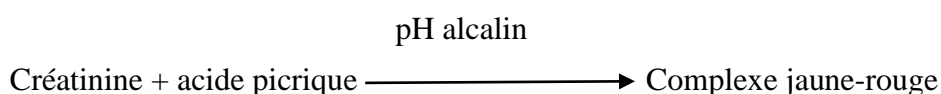
Paramètres biochimiques	Valeurs de référence
Urée	0,10-0,35 g/L
Créatine	5-12 mg/L
Calcium	90-110 mg/L
Phosphore	28-45 mg/L
Magnésium	16-23 mg/L
Fer sérique	H : 11-28 $\mu\text{mol/l}$; F : 6,6-26 $\mu\text{mol/l}$
Ferritine	H : 30-300 $\mu\text{g/l}$; F : 20-200 $\mu\text{g/l}$
Transferrine	H : 2 ,0-2,7 g/l ; F : 1,9-2,7 g/l
Capacité totale de fixation de la transferrine (CTF)	49-69 $\mu\text{mol/l}$
Coefficient de saturation de la transferrine (CS)	20-45 %
Protéine C Réactive (CRP)	< 6 mg/L
Glycémie	0,75-1,10 g/L
Triglycéride	0,30-1,34 g/L
Cholestérol total	1,06-2,50 g/L
Cholestérol HDL	0,40-0,70 g/L
Cholestérol LDL	< 1,60 g/L
Alanine Amino Transférase (ASAT)	8-49 UI/L
Aspartate Amino Transférase (ALAT)	7-48 UI/L

❖ Marqueurs biochimiques rénaux et glucidique

➤ Créatinine

- Principe

Dans une solution alcaline, la créatinine réagit avec le picrate pour former un complexe jaune-rouge dont l'intensité est directement proportionnelle à la concentration de créatinine dans l'échantillon. Les échantillons de sérum et de plasma contiennent des protéines qui réagissent de manière non spécifique dans la réaction de Jaffé. Ainsi, pour que des résultats corrects soient obtenus, une correction est effectuée automatiquement par l'analyseur par soustraction automatique de 18 $\mu\text{mol/L}$ (0,2 mg/dL) sur les valeurs obtenues.



- Mode opératoire

A 10 μL de sérum dilué dans 20 μL d'eau déionisée sont ajoutés 13 μL de Tampon alcalin (R1) dilué dans 71 μL d'eau déionisée et 13 μL d'acide picrique également dilué dans 20 μL d'eau déionisée. L'absorbance de la coloration jaune-rouge est lue au photomètre à 512 nm selon la méthode de Jaffe (1886) décrite par **Ng et Blass (1986)**.

➤ Urée

- Principe

La méthode de dosage de l'urée selon **Fawcett et Scott (1960)** est une méthode à l'UV qui repose sur l'hydrolyse de l'urée en anhydride carbonique et ammoniacque par l'uréase. Les ions ammoniums forment avec le salicylate, le chlore et le nitroprussiate un complexe coloré bleu vert appelé indophénol. L'intensité de la coloration qui est proportionnelle à la concentration de l'urée, est mesurable au spectrophotomètre à une longueur d'onde égale à 600 nm.

- Mode opératoire

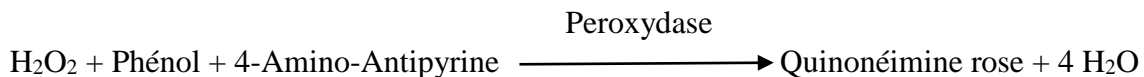
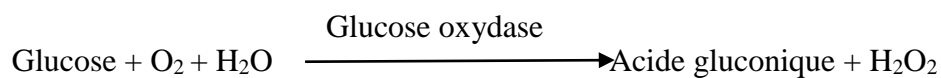
Un volume de 0,5 mL de réactif R1 contenant une solution de Na Cl à 9 % a été dilué dans 0,5 mL de réactif R2 contenant 220 mmol/L de tampon TRIS ; pH 8,6 ; 73 mmol/L de 2-oxoglutarate ; 2,5 mmol/L de NADH ; 6,5 mmol/L d'ADP, ($\geq 300 \mu\text{kat/L}$) d'uréase (de *Canavalia ensiformis*), ($\geq 80 \mu\text{kat/L}$) de GLDH (foie de bovin). A ce milieu, a été ajouté 0,01 mL de sérum de patient. Après agitation automatique magnétique pendant 1 min et incubation

à température ambiante, 25°C pendant 10 min, la densité optique a été déterminée au spectrophotomètre contre le témoin (réactif urée) à une longueur d'onde égale à 600 nm.

➤ **Glycémie**

- **Principe**

En présence de glucose oxydase (GOD), le glucose en solution aqueuse est oxydé par le dioxygène dissous, en acide gluconique avec formation de peroxyde d'hydrogène (**Bondar et Mead, 1974**). Ce dernier, en présence de peroxydase et de phénol, oxyde un chromogène incolore en couleur rouge à structure quinonéimine selon l'équation suivante :



- **Mode opératoire**

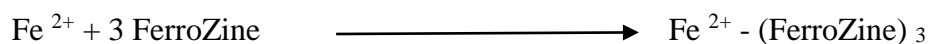
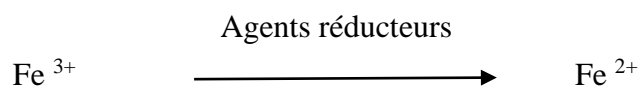
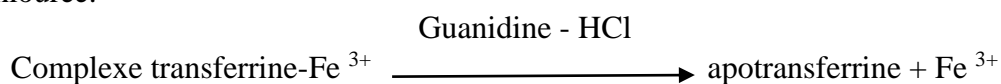
A une quantité de 10 µl de sérum ont été ajoutés 1 mL de soude et 1 mL d'acide picrique. L'intensité de la coloration rose développée est proportionnelle à la concentration en glucose. Elle est mesurée par photométrie à 505 nm.

❖ **Marqueurs biochimiques du métabolisme du fer et d'inflammation**

➤ **Fer sérique**

- **Principe**

Les ions Fe³⁺ sont détachés de la transferrine par l'hydrochlorure de guanidine et réduits en ions Fe²⁺ par l'ascorbate et l'hydroxylamine. Le fer divalent forme un complexe chélaté coloré en rouge avec la ferrozine. Afin d'éviter l'interférence du cuivre, les ions cuivriques sont liés de la thiourée.



- **Mode opératoire**

A un volume de 8,5 µL de sérum humain sont ajoutés 100 µL du réactif R1 constitué de la guanidine-HCl 4,5 mol/L ; de l'hydroxylamine 300 mmol/L et de la thiourée 120 mmol/L. A ce mélange, est ensuite ajouté en présence d'ascorbate 20 µL de R3 contenant de la FerroZine 40 mmol/L et de l'acétate 200 mmol/L à pH 5. L'intensité de la couleur est directement proportionnelle à la concentration de fer et on la mesure avec l'augmentation de l'absorbance à 552 nm (**Stookey., 1970**).

➤ **Ferritine**

- **Principe**

La ferritine humaine s'agglutine sur les particules de latex recouvertes d'anticorps monoclonaux anti-ferritine. Le précipité issu de l'agglutination est mesuré par turbidimétrie.

- **Mode opératoire**

A un volume de 10 µL de sérum humain sont ajoutés 80 µL du réactif R1 constitué de l'immunoglobuline de lapin et un tampon Tris à pH 7,5. A ce mélange, sont ensuite ajoutés 80 µL de R3 contenant une matrice de particules de latex recouvertes d'anticorps de lapin antiferritine humaine. Le précipité ainsi formé est mesuré par turbidimétrie au photomètre à 700 nm contre un blanc (**Heidelberger et Kendall, 1935**).

➤ **Transferrine**

- **Principe**

La transferrine humaine forme un précipité avec un antisérum spécifique. Le précipité obtenu est mesuré par turbidimétrie.

- **Mode opératoire**

Le dosage de la transferrine est effectué avec 12,5 µL de sérum auxquels sont ajoutés 140 µL de réactif R1 contenant un mélange tampon phosphate 55 mmol/L à pH 7,2 ; du Na Cl 25 mmol/L et du polyéthylèneglycol 5 %. A cet ensemble, est ajouté R2 constitué d'un antisérum contenant des anticorps anti-transferrine humaine et du Na Cl 100 mmol/L. La lecture de la turbidité est réalisée à 800 nm contre un blanc (**Dubois *et al.*, 1988**). Les absorbances étant proportionnelles aux concentrations de ferritine et de transferrine dans le sérum, elles sont directement converties en concentration à partir des courbes d'étalonnage intégrées dans l'automate.

La capacité totale de fixation de la transferrine (CTF) et le coefficient de saturation (CS) de la transferrine sont calculés à partir des concentrations de la transferrine et du fer sérique par les formules suivantes (**Wanger, 2000**):

$$\text{CTF } (\mu\text{mol/L}) = \text{transferrine (g/L)} \times 25$$

$$\text{CS (\%)} = (\text{fer sérique } (\mu\text{mol/L}) / \text{CTF } (\mu\text{mol/L})) \times 100.$$

Ces différents marqueurs biochimiques du bilan ferrique fournissent des informations précises sur l'origine de l'anémie.

➤ **La protéine C réactive (CRP)**

- **Principe**

La CRP humaine, réagit dans une réaction d'agglutination avec les particules de latex recouvertes d'anticorps monoclonaux anti-CRP. Le précipité est mesuré par la méthode turbidimétrique à 552 nm.

- **Mode opératoire**

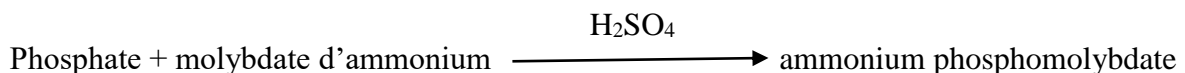
A un volume de 2 μL de sérum sont ajoutés 82 μL de R1 (Tampon TRIS contenant du sérum albumine bovine et des immunoglobulines) diluée dans 28 μL d'eau déionisée. A ce mélange, sont ajoutés 28 μL de R2 (Particules de latex recouvertes d'anticorps (de souris) anti-CRP dans un tampon glycine). Le précipité est mesuré par la méthode turbidimétrique à 552 nm (**Senju et al., 1986**).

❖ **Bilan phosphocalcique et magnésien**

➤ **Phosphore**

- **Principe**

En présence d'acide sulfurique, le phosphate inorganique réagit avec le molybdate d'ammonium pour former du phosphomolybdate $(\text{NH}_4)_3[\text{PO}_4(\text{MoO}_3)_{12}]$ détectable à l'UV.



- **Mode opératoire**

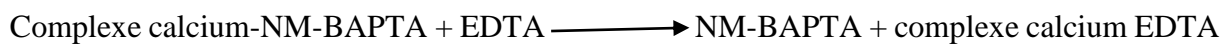
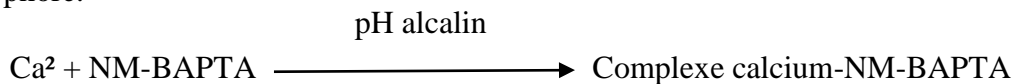
A un volume de 2,5 μL de sérum sont ajoutés 90 μL d'acide sulfurique 0,36 mol/L diluée dans 28 μL d'eau déionisée. A ce mélange, sont ajoutés 38 μL de R2 (Molybdate d'ammonium 3,5 mmol/L; acide sulfurique 0,36 mol/L; cholate de sodium 150 mmol/L). La concentration en

phosphomolybdate formé est directement proportionnelle à la concentration en phosphate inorganique et est mesurée par photométrie à 700 nm contre un blanc (**Henry, 1974**).

➤ Calcium

- Principe

Le dosage du calcium est un dosage colorimétrique. Il est basé sur le fait que les ions calcium réagissent avec le 5-nitro-5'-méthyl-BAPTA (NMBAPTA) en milieu alcalin pour former un complexe. Lequel complexe réagit dans une seconde étape avec l'EDTA pour donner un chromophore.



- Mode opératoire

Le dosage du calcium a été effectué avec la méthode de **Endres et Rude (2006)**. Elle consiste à ajouter à 3 µL de sérum, 20 µL de R1 dilué dans 160 µL d'eau déionisée. Le réactif R1 a été préparé à partir d'un mélange de l'acide cyclohexylamino-3-hydroxy-2- propanesulfonique-1 (CAPSO) 557 mmol/L; NM-BAPTA 2 mmol/L, pH 10,0 et un agent tensioactif non réactif. A cet ensemble, est ensuite ajouté R2 contenant EDTA 7,5 mmol/L, pH 7,3 et un agent tensioactif non réactif. L'intensité de la coloration du complexe calcium EDTA développée est directement proportionnelle à la concentration en calcium et mesurée par photométrie à 376 nm contre un blanc.

➤ Magnésium

- Principe

C'est une méthode colorimétrique qui utilise un indicateur coloré la calmagite (acide 1- [1-hydroxy-4- methyl-2-phenylazo] -2-naphtol-4-sulfonique). En milieu alcalin, la calmagite bleue forme avec le magnésium un complexe rosé dont l'intensité de coloration, lue à 538 nm, est proportionnelle à la concentration du magnésium. L'EGTA (éthylène glycol tétra-acétique) et le cyanure de potassium (KCN) éliminent les interférences du calcium et des métaux lourds (**Valdiguié, 2000**).

- Mode opératoire

A une quantité de 10 µl de sérum sont ajoutés 1 ml de réactif (R1) contenant de la calmagite ($\geq 100 \mu\text{mol/L}$) ; du cyanure de potassium (6,14mmol/L) ; AMP ($\geq 100 \text{ mmol/L}$) ; EGTA (250

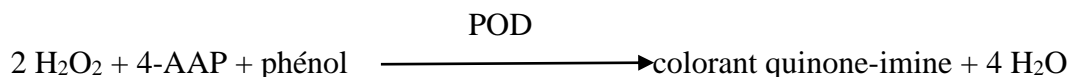
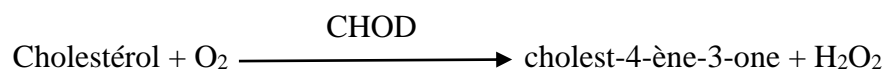
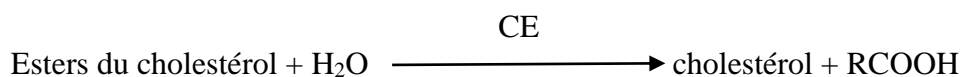
μmol/L). Après agitation et incubation pendant 5 min à la température constante. L'absorbance est lue par photométrie à 538 nm contre un blanc.

❖ Bilan lipidique

➤ Cholestérol total

- Principe

Sous l'action de la cholestérol-estérase (CE), les esters du cholestérol sont scindés en cholestérol libre et en acides gras. Dans une réaction ultérieure, catalysée par le cholestérol oxydase (CHOD), le cholestérol est transformé, en présence d'oxygène, en cholest-4-ène-3-one avec formation d'eau oxygénée. L'eau oxygénée formée réagit avec le phénol et l' amino-4-phénazone en présence de peroxydase (POD) pour donner un dérivé coloré rouge (quinone-imine) dont l'intensité de la coloration est directement proportionnelle à la concentration de cholestérol.



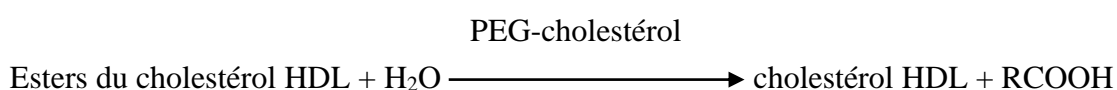
- Mode opératoire

A un volume de 2 μL de sérum ont été ajoutés 140 μL du réactif R dilué au 1/3 (v/v) dans de l'eau déionisée. Le réactif R est un mélange constitué de Tampon PIPES, 225 mmol/L à pH 6,8; Mg²⁺, 10 mmol/L; cholate de sodium, 0,6 mmol/L; amino-4 phénazone, 0,45 mmol/L; phénol, 12,6 mmol/L; monoéther d'alcool gras de polyéthylène glycol, 3 %; cholestérol estérase (de *Pseudomonas*), 1,5 U/mL; cholestérol-oxydase (de *E. coli*), 0,45 UI/mL et de peroxydase (de raifort), 0,75 U/mL. Ce mélange aboutit à un dérivé coloré. L'intensité du dérivé coloré est directement proportionnelle à la concentration de cholestérol. Elle est déterminée en mesurant l'augmentation de l'absorbance par photométrie à 505 nm (Abell *et al.*, 1958 ; Allain *et al.*, 1974).

➤ HDL-Cholestérol

- Principe

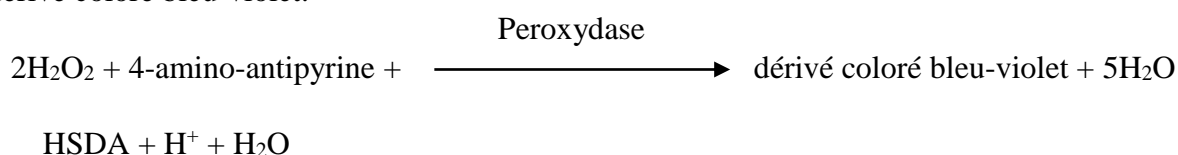
En présence d'ions magnésium, le sulfate de dextran forme de manière sélective des complexes hydrosolubles avec les LDL, les VLDL et les chylomicrons ; ces complexes sont résistants vis-à-vis d'enzymes modifiées par le polyethylene glycol (PEG). La concentration en cholestérol des HDL est déterminée par voie enzymatique à l'aide de cholestérol estérase et de cholestérol oxydase modifiées par du PEG (40 % environ des groupes aminés de ces enzymes sont couplés à du PEG). Sous l'action du cholestérol estérase, les esters du cholestérol sont scindés en cholestérol libre et en acides gras.



Dans une seconde réaction catalysée par le cholestérol oxydase modifiée par le PEG, le cholestérol est transformé, en présence d'oxygène, en Δ^4 -cholesténone avec formation d'eau oxygénée.



En présence de peroxydase, l'eau oxygénée formée réagit avec la 4-amino-antipyrine et le sodium N-(hydroxy-2 sulfo-3 propyl) diméthoxy-3,5-aniline (HSDA) avec formation d'un dérivé coloré bleu-violet.



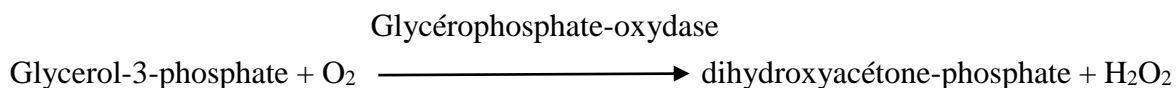
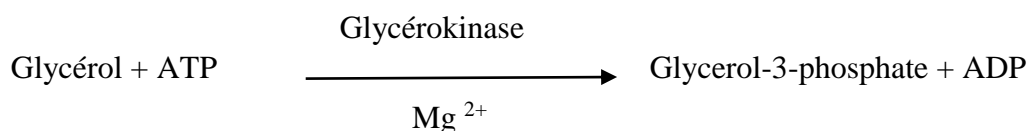
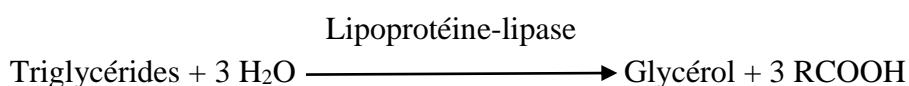
- Mode opératoire

Selon les méthodes de **Sugiuchi *et al.*, (1995)**, **Matsuzaki *et al.*, (1996)**, à 2,5 μL de sérum humain sont ajoutés 150 μL de R1 puis 50 μL de R2 pour donner un dérivé coloré bleu-violet. La solution R1 est constituée de Tampon HEPES, 10,07 mmol/L; CHES 96,95 mmol/L; sulfate de dextran 1,5 g/L; nitrate de magnésium hexahydrate 11,7 mmol/L; HSDA, 0,96 mmol/L; ascorbate-oxydase, 50 $\mu\text{kat/L}$ et de peroxydase de raifort 167 $\mu\text{kat/L}$. La solution R2 est constituée de Tampon HEPES: 10,07 mmol/L; PEG-cholestérol estérase, 3,33 $\mu\text{kat/L}$; PEG-cholestérol oxydase, 127 $\mu\text{kat/L}$; peroxydase de raifort, 333 $\mu\text{kat/L}$ et 4- aminoantipyrine, 2,46 mmol/L. L'intensité de la coloration développée est directement proportionnelle à la concentration en cholestérol et mesurée par photométrie à 505 nm.

➤ Triglycérides

- Principe

Le test des triglycérides est une méthode enzymatique. Les triglycérides sont hydrolysés par la lipoprotéine-lipase (LPL) en glycérol et en acides gras. Le glycérol est alors phosphorylé en glycérol-3-phosphate par ATP lors d'une réaction catalysée par la glycerolkinase. L'oxydation du glycérol-3-phosphate est catalysée par la glycérol-phosphate oxydase pour former du dihydroxyacétone-phosphate et du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). En présence de peroxydase (POD), le peroxyde d'hydrogène formé entraîne le couplage oxydatif du 4-chlorophénol et de la 4-aminophénazole pour former un colorant quinoneinique rouge dont l'intensité est directement proportionnelle à la concentration en triglycérides.



Chloro-4 phénol

- Mode opératoire

A 2 µL de sérum sont ajouté un mélange de 148 µL contenant 120 µL de R et 28 µL d'eau déionisée. Le reactif R est constitué à partir de tampon PIPES, 50 mmol/L à pH 6,8 ; Mg²⁺, 40 mmol/L ; cholate de sodium, 0,20 mmol/L ; ATP, 1,4 mmol/L ; amino-4-phénazone, 0,13 mmol/L ; chloro-4-phénol, 4,7 mmol/L ; lipoprotéine-lipase (*Pseudomonas*), 83 µkat/L ; glycérokinase (*Bacillus stearothermophilus*), 3 µkat/L ; glycérrophosphateoxydase (*E. coli*), 41 µkat/L ; peroxydase (raifort), 1,6 µkat/L. L'intensité de la coloration rouge est proportionnelle à la concentration en triglycérides et mesurée au photomètre à 512 nm (**Fossati et Principe, 1982 ; McGowan *et al.*, 1983**).

A partir de ces différents paramètres lipidiques, les valeurs du LDL-Cholestérol et du VLDL-Cholestérol ont été déterminées par la formule de **Friedewald *et al.*, 1972** :

$$\text{VLDL (g/L)} = \text{TRIGLYCERIDES}/5$$

$$\text{LDL (g/L)} = \text{Cholestérol Total} - \text{HDL} - \text{VLDL}$$

Cette formule est valable à condition que **TRIGLYCERIDES** \leq 4 g/L.

❖ **Bilan hépatique**

➤ **Les transaminases**

- **Principe**

Les transaminases sont des enzymes qui catalysent le transfert d'un groupe amine d'un acide aminé à un autre. C'est un dosage colorimétrique de l'activité de l'ASAT et de l'ALAT selon les réactions suivantes :

L'ASAT (ASpartate Amino Transférase), AST ou GOT (Glutamate Oxaloacétique Transaminase). Cette enzyme catalyse la réaction suivante :



L'ALAT (ALanine Amino Transférase), ALT ou GPT (Glutamate Pyruvate Transaminase). Cette enzyme catalyse la réaction suivante :



Le pyruvate ou l'oxaloacétate formés sont dosés sous forme de leurs dérivés 2,4 dinitrophénylhydrazones.

- **Mode opératoire**

Une quantité de 1 mL de substrat ALAT ou substrat ASAT est incubé pendant 10 min à 37°C. Le substrat ALAT est composé de tampon phosphate pH 7,5 à 85 mmol/l ; aspartate 200 mmol/l ; α cétoglutarate 2 mmol/l. Le substrat ASAT quant à lui est composé de tampon, phosphate pH 7,5 à 95 mmol/l ; alanine 200 mmol/l ; α cétoglutarate 2 mmol/L. A ce substrat, est ajouté 0,2 mL de sérum et le mélange incube à 30 minutes pour l'ALAT (une heure pour l'ASAT) à 37°C puis 1 mL de réactif dinitrophenylhydrazine est ajouté. Après 20 minutes, 10 mL de NaOH

(0,4 N) sont ajoutés au mélange puis 5 minutes plus tard l'absorbance est lue par photométrie à 505 nm (Rietman et Frankel, 1957).

II.4.6 Méthode analytique de l'ionogramme sanguin

La détermination de l'ionogramme sanguin (Na^+ ; Cl^- ; K^+) a été réalisée à l'aide l'analyseur d'électrolyte 9180. L'utilisateur est informé de la disponibilité du réactif dans le conteneur SnapPak. Entièrement automatique, il est conçu pour aider de façon rapide, précise et efficace à réaliser des analyses d'électrolytes dans divers liquides corporels.

✓ Principe de l'analyseur d'électrolyte 9180

L'analyseur d'électrolyte 9180 est un dispositif médical qui fonctionne selon le principe des mesures d'électrodes sélectives d'ions (ISE) afin de déterminer avec précision les valeurs des électrolytes. Les électrodes sélectives des ions sodium, potassium et chlorure utilisent des membranes sélectives pour chacun d'eux. Fondamentalement, l'analyseur compare une valeur mesurée inconnue à une valeur connue pour calculer les valeurs de l'électrolyte de l'échantillon.

Une membrane sélective d'ions déclenche une réaction déterminée avec l'électrolyte correspondant de l'échantillon. Cette membrane est un échangeur d'ions qui réagit aux modifications électriques des ions et appelle une modification du potentiel de la membrane ou de la tension de mesure qui s'accumule dans la zone comprise entre l'électrode et l'échantillon. Une chaîne de mesure galvanique à l'intérieur de l'électrode détermine la différence entre les deux valeurs de potentiel des deux côtés de la membrane. La différence de concentrations (ou plutôt d'activités) en ions entre l'électrolyte interne (concentration fixe) et l'échantillon (concentration variable) entraîne l'apparition d'un potentiel électro-chimique au niveau de la membrane de l'électrode de mesure.

La concentration d'ions dans l'échantillon est ensuite déterminée et affichée grâce au calcul réalisé par l'automate en se servant d'une courbe d'étalonnage avec des concentrations d'ions connues (étalonnage à deux points), de la tension mesurée de l'échantillon et d'un second étalon (étalonnage à un point) (Meyerhoff et Opdycke., 1986).

✓ Mode opératoire du dosage de l'analyseur d'électrolyte 9180

Après avoir allumé l'analyseur d'électrolytes 9180 et effectué la maintenance quotidienne à l'aide du réactif de nettoyage et de conditionnement, l'analyseur effectue une calibration automatique suivie du contrôle qualité. Une fois le contrôle qualité terminé, un indicateur « prêt » s'affiche pour la mesure des électrolytes. La porte d'aspiration de l'analyseur est

soulevée et l'échantillon est mis en contact avec l'électrode de référence. Après l'apparition des indicateurs « essuyer la sonde » puis « refermer la porte », la technique est lancée.

II.4.7 Méthode de dosage des marqueurs hormonaux

L'automate d'immuno-analyse Vidas de BioMérieux est un nouvel appareil permettant de réaliser des examens sérologiques et des immunodosages par compétition ou par saturation. Il a été utilisé pour le dosage de la parathormone (PTH) et la 25 (OH) vitamine D.

C'est un système entièrement automatisé et autonome pour le dosage immunologique. En utilisant des bandelettes de réactif à usage unique et des réceptacles spécialement enduits, il peut pipeter, mélanger, incuber, contrôler et analyser des échantillons, sans intervention de l'utilisateur.

✓ Principe de l'automate Vidas

L'automate Vidas utilise la technologie « Enzyme Linked Fluorescent Assay » (ELFA) qui est une technique immuno-enzymologique de détection par fluorescence réalisée en deux étapes, qui permet de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps. Le dosage est réalisé grâce à des barrettes et des cônes (où est fixé l'anticorps de capture) unitaires et un système de lecture en fluorescence. Le cône à usage unique sert à la fois de phase solide et de système de pipetage. Toutes les étapes du test sont réalisées automatiquement par l'instrument. Elles sont constituées d'une succession de cycles d'aspiration/refoulement du milieu réactionnel. Après dilution, l'échantillon est incubé avec le cône. Celui-ci, sensibilisé au préalable par de l'antigène, fixe alors les anticorps présents dans l'échantillon. Une première étape de lavage permet d'éliminer les composants non liés de l'échantillon. Une seconde étape d'incubation est ensuite réalisée avec l'anticorps monoclonal de souris anti-IgG humaines conjugué à la phosphatase alcaline, suivi d'une seconde étape de lavage. Lors de l'étape finale de révélation, le substrat (4-méthylombelliferyl phosphate) est aspiré puis refoulé par le cône ; l'enzyme du conjugué catalyse la réaction d'hydrolyse de ce substrat en un produit (4-méthylombellifère) dont la fluorescence émise est mesurée à 450 nm. L'intensité lumineuse résultante constitue le signal analytique qui est directement proportionnel à la concentration de la substance dosée présente dans l'échantillon (Abrouki., 2013).

✓ Mode opératoire du dosage de l'automate Vidas

Après la mise en marche de l'automate Vidas, la calibration est réalisée à l'aide du calibrateur fourni par le fabricant. Lorsque le contrôle est satisfaisant, les échantillons des

patients peuvent être dosés. La fiche qui apparaît à l'écran de travail indique le code identifiant, les paramètres à doser sont enregistrés et validés en appuyant sur la touche « créer ». Les cônes et les cartouches sont placés dans leurs compartiments dédiés. Les échantillons sont distribués dans le premier puit des cartouches correspondant en s'assurant de leur conformité par rapport à leur position. Les cartouches sont poussées jusqu'au cran d'arrêt. L'analyse ne démarre que lorsque l'icône dédiée sur l'ordinateur est activée. Les résultats affichés à l'écran ont été imprimés grâce à une imprimante connectée à l'unité centrale de l'automate.

II.4.8 Méthode de dosage de l'érythropoïétine

Le réactif "ELISA Kit Human EPO" de Sigma-Aldrich a été utilisé pour le dosage de l'érythropoïétine. Ce réactif utilise la méthode ELISA pour le dosage de l'érythropoïétine.

✓ Principe de la méthode ELISA

ELISA est l'acronyme d'un examen de laboratoire appelé en anglais enzyme-linked immunosorbent assay, c'est-à-dire dosage immuno-enzymatique sur support solide. La méthode ELISA est basée sur la technique du sandwich à double anticorps. L'échantillon, le contrôle ou le point de la gamme standard (étalon) sont incubés dans les puits de la microplaque dans lesquels a été immobilisé un anticorps monoclonal (murin) spécifique de l'érythropoïétine (EPO). Après l'élimination de l'excès d'échantillon et de l'étalon par lavage, un anticorps polyclonal anti-EPO (lapin) conjugué à la peroxydase de raifort est ajouté dans les puits. Pendant la deuxième incubation, le conjugué anticorps-enzyme se lie à l'EPO immobilisée. L'excès de conjugué est ensuite éliminé par lavage. Le chromogène est rajouté dans les puits, où il est oxydé par la peroxydase et forme un complexe de couleur bleue. La réaction est arrêtée par l'addition d'un acide qui fait virer le bleu au jaune. L'intensité de coloration est directement proportionnelle à la quantité de conjugué qui, à son tour, est directement proportionnelle à la quantité d'EPO dans l'échantillon ou dans l'étalon. L'absorbance de ce complexe est mesurée à 450 nm et une courbe d'étalonnage est tracée en reportant les absorbances en fonction des concentrations connues du standard de l'EPO. La concentration inconnue en EPO de l'échantillon est déterminée en projetant sa densité optique sur la courbe d'étalonnage (**El Houry., 2008**).

✓ Mode opératoire du dosage de l'érythropoïétine

Tous les réactifs et les échantillons sont ramenés à température ambiante (18–25° C) avant leur utilisation. Une quantité de 100 µL de chaque standard ainsi que des échantillons ont été distribués dans les puits de la plaque. Les puits ont été couverts avec une feuille adhésive et

incubés pendant 2,5 heures à la température ambiante en agitant doucement. La solution contenue dans les puits est jetée et la plaque est lavée 4 fois avec la solution de lavage (Wash Tampon). Le lavage est effectué en remplissant chaque puits avec 300 μL de cette solution à l'aide d'une pipette multicanaux ou le lave-auto. Cette étape est essentielle pour une bonne performance. Après le dernier lavage, la plaque est inversée sur des serviettes en papier propres pour l'élimination de tout le tampon de lavage. Cent μL de l'anticorps de détection sont mis dans chaque puits et la plaque est incubée pendant une heure à température ambiante en agitant doucement. Le contenu de la plaque est jeté et la plaque est lavée comme précédemment. A cette étape, 100 μL de solution de HRP-Streptavidine sont ajoutés dans chaque puits, puis s'en suit une incubation de 45 minutes à température ambiante avec une douce agitation. La solution est à nouveau jetée et la plaque est à nouveau lavée avec la solution de lavage (Wash Tampon). Une quantité de 100 μL de réactif ELISA colorimétrique TMB est ajoutée à chaque puits. Après une incubation pendant 30 minutes à température ambiante dans le noir avec une agitation douce, 50 μL de la solution d'arrêt sont ajoutés dans chaque puits et la densité optique est déterminée en utilisant un lecteur de plaque réglé à 450 nm.

II.4.9 Analyse statistique

Les données ont été saisies en utilisant le tableur Excel. Les valeurs moyennes accompagnées de l'erreur standard sur la moyenne (Moyenne \pm SEM) des données ont été réalisées grâce au logiciel Graph Pad Prism 8.0 (Microsoft, USA).

L'analyse statistique des résultats a été effectuée en utilisant l'analyse des variances (ANOVA) suivie du test de comparaison multiple de Tukey. La différence est significative lorsque $p < 0,05$.

Le test de khi 2 a été utilisé pour les variables qualitatives. Les différences étaient significatives lorsque $p < 0,05$.



III-RESULTATS ET DISCUSSION

III.1 RESULTATS

III.1.1 Caractéristiques épidémiologiques de la population d'étude

Cette étude a porté sur 138 personnes, réparties en trois populations, à savoir 46 patients atteints d'insuffisance rénale chronique et non dialysés (IRC), 46 patients atteints d'insuffisance rénale chronique et dialysés (hémodialysés) et 46 volontaires en bonne santé qui ont servi de témoins. La moyenne d'âge de la population d'étude était de 46 ± 2 ans pour les insuffisants rénaux chroniques et non dialysés (IRC) et de 48 ± 2 ans pour les hémodialysés avec des extrêmes de 20 à 74 ans. Celle des témoins, était de 44 ± 3 ans avec des extrêmes de 28 à 70 ans (**Tableau III**).

Une proportion de 65,22% (60/92) de personnes était de sexe masculin contre 34,78% (32/92) de sexe féminin aussi bien chez les hémodialysés que chez les patients IRC ; le sex-ratio était de 1,87.

III.1.2 Stade de la maladie chez les insuffisants rénaux chroniques

La majorité des patients atteints d'insuffisance rénale chronique et non encore dialysés (93,48%) était au stade 5 de la maladie rénale chronique tandis que 4,34% et 2,18% étaient respectivement au stade 3A et 4.

III.1.3 Paramètres hématologiques et concentration moyenne de l'érythropoïétine

D'une manière générale, les paramètres hématologiques des insuffisants rénaux chroniques (patients IRC et dialysés) étaient significativement plus bas par rapport aux témoins ($p < 0,05$) (**Tableau IV**). Par ailleurs, les résultats obtenus chez les patients insuffisants rénaux n'ayant jamais été dialysés étaient significativement élevés que ceux des hémodialysés chroniques excepté le taux de réticulocyte (**Tableau V**).

Concernant les globules rouges, les résultats ont montré une différence significative de concentration entre les témoins ($4,58 \pm 0,09 \cdot 10^6/\mu\text{L}$) et les dialysés (avant dialyse $3,46 \pm 0,09 \cdot 10^6/\mu\text{L}$; $p = 0,0001$) / après dialyse $3,81 \pm 0,11 \cdot 10^6/\mu\text{L}$; $p = 0,0006$) d'une part et entre les témoins et les patients IRC ($2,68 \pm 0,12 \cdot 10^6/\mu\text{L}$; $p = 0,0001$) d'autre part.

La concentration moyenne en hémoglobine (Hb) était significativement plus basse chez les patients IRC ($7 \pm 0,33 \text{ g/dL}$; $p = 0,0001$) et les dialysés (avant dialyse $9 \pm 0,25 \text{ g/dL}$ après dialyse $10 \pm 0,31$; $p = 0,0001$) par rapport aux témoins ($13 \pm 0,23 \text{ g/dL}$).

Tableau III : Répartition de la population d'étude en fonction du sexe et de la moyenne d'âge

Sujets	Sexe	Age (ans) Valeurs moyennes	Age (ans) Valeurs moyennes globales
Témoins	Hommes (30)	47±4,08	44 ± 3
	Femmes (16)	41±3,36	
IRC	Hommes (30)	45±2,19	46 ± 2
	Femmes (16)	47±3,64	
Hémodialysés	Hommes (30)	53±2,09	48 ± 2
	Femmes (16)	43±4,05	

IRC : insuffisants rénaux chroniques non dialysés

Tableau IV : Concentrations moyennes des paramètres hématologiques et de l'érythropoïétine de la population d'étude

Paramètres	Témoins	Avant Dialyse	Après Dialyse	IRC	p value a	p value b	p value c
Globules Rouges 3,8 – 6,0 10 ⁶ /µL	4,58 ± 0,99	3,46 ± 0,09 ^a	3,81 ± 0,11 ^b	2,68 ± 0,12 ^c	0,0001	0,0006	0,0001
Hématocrite 35 – 54 %	39 ± 0,88	30 ± 1,02 ^a	33 ± 1,21 ^b	21 ± 1,31 ^c	0,0001	0,0013	0,0001
Hémoglobine 12 – 18 g/dL	13 ± 0,23	9 ± 0,25 ^a	10 ± 0,31 ^b	7 ± 0,33 ^c	0,0001	0,0001	0,0001
VGM 80 – 95 dL	84 ± 0,67	84 ± 1,08	85 ± 0,85	79 ± 0,96 ^c	0,28	0,92	0,0009
CCMH 32 – 36 g/dL	33 ± 0,14	31 ± 0,15 ^a	31 ± 0,18 ^b	32 ± 0,39	0,0001	0,0081	0,59
TCMH 27 – 32 pg	28 ± 0,29	27 ± 0,36	27 ± 0,36	26 ± 0,42 ^c	0,61	0,66	0,0091
Réticulocytes 25 – 100 10 ⁹ /µL	39 ± 00	79 ± 0,02	69 ± 0,01	53 ± 0,05	0,30	0,59	0,93
Erythropoïétine 10 – 20 mUI/mL	18 ± 1,68	9 ± 1,17 ^a	9 ± 1,34 ^b	6 ± 1,37 ^c	0,0001	0,0001	0,0001

IRC : patients insuffisants rénaux non dialysés ; Avant Dialyse : patients hémodialysés avant la séance de dialyse
Après Dialyse : patients hémodialysés après la séance de dialyse ; VGM : Volume globulaire moyen.

CCMH : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine.

a, b, c: indique une valeur statistiquement significative. La différence est significative pour $p < 0,05$.

a : Témoins vs Patients hémodialysés avant la séance de dialyse, b : Témoins vs Patients hémodialysés après la séance de dialyse, c : Témoins vs Patients insuffisants rénaux non dialysés

Tableau V : Concentrations moyennes des paramètres hématologiques et de l'érythropoïétine des sujets atteints d'insuffisance rénale chronique

Paramètres	Avant Dialyse	Après Dialyse	IRC	p value a	p value b	p value c
Globules Rouges 3,8 – 6,0 10 ⁶ /µL	3,46 ± 0,09	3,81 ± 0,11	2,68 ± 0,12 ^{bc}	0,26	0,0004	0,0001
Hématocrite 35 – 54 %	30 ± 1,02	33 ± 1,21	21 ± 1,31 ^{bc}	0,43	0,0001	0,0001
Hémoglobine 12 – 18 g/dL	9 ± 0,25	10 ± 0,31	7 ± 0,33 ^{bc}	0,23	0,0001	0,0001
VGM 80 – 95 fL	84 ± 1,08	85 ± 0,85	79 ± 0,96 ^{bc}	0,65	0,0001	0,0001
CCMH 32 – 36 g/dL	31 ± 0,14	31 ± 0,21	32 ± 0,31 ^{bc}	0,15	0,0001	0,0001
TCMH 27 – 32 pg	27 ± 0,36	27 ± 0,36	26 ± 0,42	0,99	0,20	0,17
Réticulocytes 25 – 100 10 ⁹ /µL	79 ± 0,02	69 ± 0,01	53 ± 0,05	0,94	0,41	0,81
Erythropoïétine 10 – 20 mUI/L	9 ± 1,17	9 ± 1,34	6 ± 1,37 ^{bc}	0,99	0,03	0,03

IRC : patients insuffisants rénaux non dialysés ; Avant Dialyse : patients hémodialysés avant la séance de dialyse

Après Dialyse : patients hémodialysés après la séance de dialyse ;

VGM : Volume globulaire moyen. CCMH : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine.

a, b, c : indique une valeur statistiquement significative. La différence est significative pour $p < 0,05$.

a : Patients hémodialysés avant la séance de dialyse vs Patients hémodialysés après la séance de dialyse,

b : Patients hémodialysés avant la séance de dialyse vs Patients insuffisants rénaux non dialysés,

c : Patients hémodialysés après la séance de dialyse vs Patients insuffisants rénaux non dialysés

En ce qui concerne le volume globulaire moyen (VGM), les résultats ont été de $84 \pm 0,67$ fL chez les témoins et $79 \pm 0,96$ fL chez les patients IRC ($p = 0,0009$). Chez les patients hémodialysés, il n'y avait pas de différence significative avant ($84 \pm 1,08$ fL) et après ($85 \pm 0,85$ fL) la séance de dialyse ($p = 0,65$).

Au sujet des réticulocytes, aucune différence significative n'a été observée entre les témoins et les patients souffrants d'insuffisance rénale chronique ($p > 0,05$).

La concentration moyenne en érythropoïétine chez les patients dialysés ($9 \pm 1,17$ mUI/mL) était significativement plus basse que celles observées chez les témoins ($18 \pm 1,68$ mUI/mL) ($p = 0,0001$). Aussi, celle des patients IRC ($6 \pm 0,97$ mUI/mL) étaient significativement plus basse que celle des témoins ($p = 0,0001$). S'agissant des patients souffrant de l'insuffisance rénale chronique, il a été constaté une différence significative entre les dialysés et les patients IRC ($p = 0,03$).

➤ **Gravité et type d'anémie de la population d'étude**

La proportion des patients présentant une anémie chez les insuffisants rénaux chroniques et non dialysés (patients IRC) était de 95,65% comparativement aux témoins (23,92 %) ($p < 0,0001$) (**Tableau VI**). Aussi, il a été mis en évidence une différence significative entre les patients présentant une anémie chez les hémodialysés (93,47 %) et les témoins ($p < 0,0001$) (**Tableau VI**).

Chez les témoins, toutes les personnes présentaient une anémie normochrome normocytaire (23,92 %) (**Tableau VII**). Elle était sévère dans 2,17 % des cas, modérée dans 4,35 % des cas et légère dans 17,40 % des cas.

Chez les patients atteints d'insuffisance rénale, il a été noté une anémie macrocytaire, une anémie hypochrome microcytaire et une anémie normochrome normocytaire à différentes proportions (**Tableau VII**).

Au niveau des patients hémodialysés, 93,47 % des patients présentaient une anémie. Cette dernière varie de l'anémie légère (10,87 %) à l'anémie sévère (17,39 %) avec 65,21 % d'anémie modérée (**Tableau VII**).

Concernant les insuffisants rénaux chroniques n'ayant jamais été dialysés, l'anémie était sévère dans 76,09 % des cas et modérée dans 19,56% des cas. Aucun cas d'anémie légère n'a été notifié dans cette population (**Tableau VII**).

Tableau VI : Répartition de la population d'étude en fonction de la présence d'anémie

	Témoins n =46	IRC n = 46	Hémodialysés n = 46	X ² de Pearson
Oui	11 (23,92 %)	44 (95,65%)	43 (93,47 %)	< 0,0001
Non	35 (76,08%)	2 (4,35 %)	3 (6,53 %)	

IRC : patients insuffisants rénaux non dialysés
 Hémodialysés : patients hémodialysés chronique
 La différence est significative pour $p < 0,05$

Tableau VII : Gravité et type d'anémie de la population d'étude

	Témoins	Avant Dialyse	Après Dialyse	IRC
	gravité			
Sévère < 8g/dL	1 (2,17%)	8 (17,39%)	8 (17,39%)	35 (76,08%)
Modérée 8 - 10g/dL	2 (4,35%)	30 (65,22%)	29 (63,04%)	9 (19,57%)
Légère > 10 g/dL	8 (17,40%)	5 (10,87%)	6 (13,04%)	0 (0%)
Absence d'anémie > 12 g/dL	35 (76,08%)	3 (6,52%)	3 (6,53%)	2 (4,35%)
	type			
Macrocytaire	0 (0%)	4 (8,70%)	4 (8,70%)	1 (2,17%)
Hypochrome microcytaire	0 (0%)	3 (6,52%)	3 (6,52%)	34 (73,91%)
Normochrome normocytaire	11 (23,91%)	36 (78,26%)	36 (78,26%)	9 (19,57%)
Absence d'anémie	35 (76,09%)	3 (6,52%)	3 (6,53%)	2 (4,35%)

III.1.4 Concentrations moyennes des marqueurs biochimiques

Les valeurs moyennes de la créatinine et de l'urée des patients insuffisants rénaux non dialysés et des hémodialysés sont significativement élevées par rapport aux témoins ($p < 0,05$) (**Tableau VIII**).

Chez les patients insuffisants rénaux non dialysés (patient IRC), les valeurs moyennes des concentrations sériques de la créatinine ($140 \pm 9,23$ mg/mL) et de l'urée ($2,13 \pm 0,13$ g/L) sont significativement plus élevées que celles des témoins (créatinine $10 \pm 0,31$ mg/mL et urée $0,24 \pm 0,01$ g/L) ($p = 0,0001 / 0,0001$). Ce constat est similaire chez les hémodialysés dont les valeurs de la créatinine et de l'urée sont respectivement de $158 \pm 4,5$ mg/mL et de $1,57 \pm 0,05$ g/L ($p = 0,0001 / 0,0001$).

Cependant, après la séance de dialyse, l'on note une baisse significative de la créatinine et de l'urée qui passent respectivement à $61 \pm 3,65$ mg/L et à $0,54 \pm 0,04$ g/L chez les hémodialysés ($p = 0,0001 / 0,0001$) (**Tableau IX**). Soit une baisse de 61,39 % au niveau de la créatinine et 65,61% pour l'urée.

Concernant la protéine C-réactive (CRP), il a été constaté une différence non significative entre les dialysés et les témoins ($2 \pm 0,30$ mg/L) ($p = 0,68$). Par contre, il existe une différence significative entre les témoins et les patients IRC ($45 \pm 7,46$ mg/L) ($p = 0,0001$) (**Tableau VIII**). Par ailleurs, chez les hémodialysés, il a été constaté une augmentation non significative de la CRP passant de $9 \pm 2,66$ mg/L avant la séance de dialyse à $12 \pm 3,44$ mg/L après la séance de dialyse ($p = 0,95$) (**Tableau IX**).

L'analyse des paramètres du bilan martial a permis de mettre en évidence une baisse significative des concentrations sériques du fer, de la transferrine et de la capacité totale de fixation de la transferrine (CTF) chez les insuffisants rénaux (dialysés et patients IRC) comparativement aux témoins.

En effet, la concentration de fer sérique était de $10,07 \pm 0,54$ μ mol/L chez les dialysés ($p = 0,0001$), de $12,46 \pm 0,85$ μ mol/L ($p = 0,0018$) chez les insuffisants rénaux non dialysés et de $15,85 \pm 0,56$ μ mol/L chez les témoins (**Tableau VIII**). Les valeurs de la transferrine étaient de $1,26 \pm 0,08$ chez les patients IRC ($p = 0,0001$) alors qu'elle était de $2,40 \pm 0,06$ chez les témoins. Chez les hémodialysés, les concentrations de la transferrine étaient de $1,41 \pm 0,07$ ($p = 0,0002$) et $1,54 \pm 0,08$ ($p = 0,0001$) observées respectivement avant et après la séance de dialyse. Quant à la capacité totale de fixation de la transferrine, il a été noté une forte différence significativement ($p = 0,0001$) entre les insuffisants rénaux non dialysés ($32 \pm 1,78$) et les témoins ($61 \pm 1,22$). Ce même constat a été fait entre les dialysés (avant la dialyse $35 \pm 1,34$ / après la dialyse $37 \pm 1,41$) et les témoins ($p = 0,0001$).

Tableau VIII : Valeurs moyennes du bilan biochimique de la population d'étude

Paramètres	Témoins	Avant Dialyse	Après Dialyse	IRC	p value a	p value b	p value c
Créatine (5 - 12 mg/L)	10 ±0,31	158 ±4,5 ^a	61 ±3,65 ^b	140 ±9,23 ^c	0,0001	0,0001	0,0001
Urée (0,10 - 0,35 g/L)	0,24 ±0,01	1,57 ±0,05 ^a	0,54 ±0,04 ^b	2,13 ±0,13 ^c	0,0001	0,02	0,0001
Glycémie (0,75-1,10 g/L)	0,88 ±0,01	0,78 ±0,02	0,80 ±0,05	1,04 ±0,09 ^c	0,23	0,40	0,01
CRP (< 6 mg/L)	2 ±0,30	9 ±2,66	12 ±3,44	45 ±7,46 ^c	0,68	0,36	0,0001
Fer sérique (H : 11-28 µmol/L; F : 6,6-26 µmol/L)	15,85 ±0,56	10,07 ±0,54 ^a	10,21 ±0,61 ^b	12,46 ±0,85 ^c	0,0001	0,0001	0,0018
Ferritine (H : 30-300 µg/L; F : 20-200 µg/L)	160 ±21,34	810 ± 162,5 ^a	795 ±81,44 ^b	1215 ±106,8 ^c	0,0001	0,0002	0,0001
Transferrine (H : 2 ,0-2,7 g/L; F : 1,9-2,7 g/L)	2,40 ±0,06	1,41 ±0,07 ^a	1,54 ±0,08 ^b	1,26 ±0,08 ^c	0,0001	0,0001	0,0001
CTF (49-69 µmol/L)	61 ±1,22	35 ±1,34 ^a	37 ±1,41 ^b	32 ±1,78 ^c	0,0001	0,0001	0,0001
CS (20-45 %)	27 ±1,05	36 ±5,36	34 ±4,14	43 ±3,46 ^c	0,33	0,55	0,01
Calcium (90-110 mg/L)	90,84 ±2,46	77,16 ±2,36 ^a	99,81 ±2,55	58,20 ±4,79 ^c	0,0009	0,0018	0,0001
Phosphore (28-45 mg/L)	37,53 ±1,75	41,38 ±2,34 ^a	25,91 ±2,05 ^b	60,47 ±4,44 ^c	0,0001	0,0001	0,0001
Magnésium (16-23 mg/L)	19,75 ±0,26	20,71 ±0,94	20,63 ±0,59	17,84 ±0,71	0,48	0,56	0,11
Triglycéride (0,30 – 1,34 g/L)	0,90 ±0,08	1,04 ±0,10	1,09 ±0,15	1,12 ±0,11	0,57	0,32	0,20
Cholestérol total (1,06 – 2,50 g/L)	2,03 ±0,08	1,37 ±0,07 ^a	1,76 ±0,10	1,37 ±0,10 ^c	0,0001	0,05	0,0001
Cholestérol HDL (0,40 – 0,70 g/L)	0,58 ±0,03	0,35 ±0,01 ^a	0,37 ±0,02 ^b	0,37 ±0,03 ^c	0,0001	0,0001	0,0001
Cholestérol LDL (< 1,60 g/L)	1,26 ±0,07	0,81 ±0,06 ^a	1,02 ±0,08 ^b	0,77 ±0,08 ^c	0,0001	0,02	0,0001
ASAT (8 - 49 UI/L)	20 ±1,27	10 ±1,64 ^a	16 ±2,62	22 ±2,74	0,0001	0,22	0,87
ALAT (7 - 48 UI/L)	19,63 ±2,87	8 ±0,58 ^a	8 ±1,38 ^b	20,85 ±3,43	0,0001	0,0001	0,96

IRC : patients insuffisants rénaux non dialysés; Avant Dialyse : patients hémodialysés avant la séance de dialyse; Après Dialyse : patients hémodialysés après la séance de dialyse.

a,b,c : indique une valeur statistiquement significative. La différence est significative pour $p < 0,05$.

a : Témoins vs Patients hémodialysés avant la séance de dialyse,

b : Témoins vs Patients hémodialysés après la séance de dialyse,

c : Témoins vs Patients insuffisants rénaux non dialysés

Tableau IX : Valeurs moyennes du bilan biochimique des sujets atteints d'insuffisance rénale chronique

Paramètres	Avant Dialyse	Après Dialyse	IRC	p value a	p value b	p value c
Créatine (5 - 12 mg/L)	158 ±4,5	61 ±3,65 ^a	140 ±9,23 ^c	0,0001	0,09	0,0001
Urée (0,10 - 0,35 g/L)	1,57 ±0,05	0,54 ±0,04 ^a	2,13 ±0,13 ^{bc}	0,0001	0,0001	0,0001
Glycémie (0,75-1,10 g/L)	0,78 ±0,02	0,80 ±0,05	1,04 ±0,09 ^{bc}	0,99	0,0001	0,0001
CRP (< 6 mg/L)	9 ±2,66	12 ±3,44	45 ±7,46 ^{bc}	0,95	0,0001	0,0001
Fer sérique (H : 11-28 µmol/L, F : 6,6-26 µmol/L)	10,07 ±0,54	10,21 ±0,61	12,46 ±0,85 ^b	0,99	0,04	0,07
Ferritine (H : 30-300 µg/L; F : 20-200 µg/L)	810 ± 162,5	795 ±81,44	1215 ±106,8 ^{bc}	0,99	0,03	0,02
Transferrine (H : 2 ,0-2,7 g/L; F : 1,9-2,7 g/L)	1,41 ±0,07	1,54 ±0,08	1,26 ±0,08 ^c	0,40	0,29	0,006
CTF (49-69 µmol/L)	35 ±1,34	37 ±1,41	32 ±1,78	0,79	0,47	0,08
CS (20-45 %)	36 ±5,36	34 ±4,14	43 ±3,46	0,98	0,53	0,31
Calcium (90-110 mg/L)	77,16 ±2,36	99,81 ±2,55 ^a	58,20 ±4,79 ^{bc}	0,0001	0,0003	0,0001
Phosphore (28-45 mg/L)	41,38 ±2,34	25,91 ^a ±2,05	60,47 ^{bc} ±4,44	0,001	0,0001	0,0001
Magnésium (16-23 mg/L)	20,71 ±0,94	20,63 ±0,59	17,84 ±0,71 ^{bc}	0,99	0,0018	0,0028
Triglycéride (0,30 – 1,34 g/L)	1,04 ±0,10	1,09 ±0,15	1,12 ±0,11	0,90	0,97	0,99
Cholestérol total (1,06 – 2,50 g/L)	1,37 ±0,07	1,76 ±0,10 ^a	1,37 ±0,10 ^c	0,001	0,99	0,001
Cholestérol HDL (0,40 – 0,70 g/L)	0,35 ±0,01	0,37 ±0,02	0,37 ±0,03	0,85	0,90	0,99
Cholestérol LDL (< 1,60 g/L)	0,81 ±0,06	1,02 ±0,08	0,77 ±0,08 ^c	0,06	0,95	0,01
ASAT (8 - 49 UI/L)	10 ±1,64	16 ±2,62 ^a	22 ±2,74 ^{bc}	0,04	0,0001	0,04
ALAT (7 - 48 UI/L)	8 ±0,58	8 ±1,38	20,85 ±3,43 ^{bc}	0,99	0,0001	0,0001

IRC : patients insuffisants rénaux non dialysés ; Avant Dialyse : patients hémodialysés avant la séance de dialyse ; Après Dialyse : patients hémodialysés après la séance de dialyse ;

a, b, c : indique une valeur statistiquement significative. La différence est significative pour $p < 0,05$.

a : Patients hémodialysés avant la séance de dialyse vs Patients hémodialysé après la séance de dialyse,

b : Patients hémodialysés avant la séance de dialyse vs patients insuffisants rénaux non dialysés,

c : Patients hémodialysés après la séance de dialyse vs patients insuffisants rénaux non dialysés

Toutefois, il a été remarqué une forte concentration de la ferritine sérique chez les patients insuffisants rénaux non dialysés et les hémodialysés. Les concentrations moyennes sériques de la ferritine chez les patients IRC ($1215 \pm 106,8$; $p = 0,0001$) et des hémodialysés ($810 \pm 162,5$, $p = 0,0001$) étaient significativement plus fortes que chez les témoins ($160 \pm 21,34$). Enfin, concernant le coefficient de saturation de la transferrine (CS), il a été noté une différence significative forte entre les témoins et les patients insuffisants rénaux non dialysés ($p = 0,01$) contrairement aux hémodialysés où aucune différence significative n'a été observée ($p = 0,33$).

S'agissant du bilan Phosphocalcique, il a été noté des valeurs moyennes significativement faibles du calcium et des fortes valeurs du phosphore chez les hémodialysés avant la séance de dialyse et les insuffisants rénaux non dialysés (patients IRC) comparativement aux témoins ($P < 0,05$). Cependant, les hémodialysés après la séance de dialyse, ont présenté des valeurs moyennes de calcium élevées et celles de phosphore basses comparativement aux valeurs du calcium et du phosphore avant la séance de dialyse. La concentration en calcium chez les hémodialysés ($77,16 \pm 2,36$ mg/L ; $p = 0,0009$) avant la séance de dialyse et chez les insuffisants rénaux non dialysés ($58,20 \pm 4,79$ mg/L ; $p = 0,0001$) était significativement basse par rapport à celle des témoins ($90,84 \pm 2,46$ mg/L). Après la séance de dialyse, sa valeur ($99,81 \pm 2,55$ mg/L) était significativement différente de celle des insuffisants rénaux non dialysés ($0,0001$) (**Tableau IX**). Quant au phosphore, sa valeur moyenne est passée de $41,38 \pm 2,34$ mg/L avant la séance de dialyse à $25,91 \pm 2,05$ mg/L après la séance de dialyse ($p = 0,99$). Une forte significativité a été observée chez les insuffisants rénaux non dialysés ($60,47 \pm 4,44$ mg/L) comparativement aux témoins ($37,53 \pm 1,75$ mg/L) ($p = 0,0001$).

A propos du bilan lipidique, une faible concentration significative a été observée chez les insuffisants rénaux (patients IRC et dialysés) exceptés les triglycérides comparativement aux témoins ($P < 0,05$). La valeur moyenne des triglycérides dans toute la population est restée dans l'intervalle des valeurs de référence standard contrairement au cholestérol-HDL. La concentration de cette dernière était significativement forte chez les témoins ($0,58 \pm 0,03$ g/L) par rapport aux dialysés ($0,35 \pm 0,01$ g/L ; $p = 0,0001$) et aux insuffisants rénaux non dialysés ($0,37 \pm 0,03$; $p = 0,0001$). Quoique les concentrations moyennes de cholestérol total et de cholestérol-LDL des insuffisants rénaux non dialysés et des hémodialysés soient significativement faibles par rapport à celle des témoins, elles restent dans l'intervalle des valeurs de référence standard.

III.1.5 Concentrations moyennes de la 25-hydroxyvitamine D et de la parathormone

A propos de la concentration moyenne en 25-hydroxyvitamine D, il a été mis en évidence une hypovitaminose D aussi bien chez les insuffisants rénaux chroniques que chez les témoins. Il n'existait pas de différence significative entre les concentrations moyennes en vitamine D avant et après la séance de dialyse ($p = 0,99$) (**Tableau XI**). La concentration moyenne des témoins était de $65 \pm 2,41$ mmol/L et celle des dialysés était de $70 \pm 3,10$ mmol/L ($p = 0,65$). En outre, la concentration en 25-(OH) D des patients insuffisants rénaux non dialysés ($48 \pm 3,34$ mmol/L) était significativement inférieure à celle des dialysés ($p = 0,0001$) et des témoins ($p = 0,0004$) (**Figure 16 a**).

Une déficience (< 50 mmol/L) en 25-hydroxyvitamine D a été observée chez 23,91 % (11) des témoins et 15,22 % (7) des patients hémodialysés ($p = 0,57$). La déficience était plus fréquente chez les patients insuffisants rénaux non dialysés (60,87 %) comparativement aux témoins (23,91 %) avec une différence significative ($p < 0,0016$). De même, une insuffisance (50-75 mmol/L) en 25-hydroxyvitamine D a été relevée chez 41,30 % (19) des témoins et 45,65 % (21) des patients hémodialysés ($p = 0,57$).

L'insuffisance en 25-hydroxyvitamine D était plus fréquente chez les patients insuffisants rénaux non dialysés (21,74 %) comparativement aux témoins (41,30 %) avec une différence significative ($p = 0,0016$). Enfin, des valeurs moyennes normales (≥ 75 mmol/L) de 25-hydroxyvitamine D ont été obtenues chez 34,79 % (16) des témoins et 39,13 % (18) des patients hémodialysés ($p = 0,57$). La suffisance en vitamine D était moins fréquente chez les patients insuffisants rénaux non dialysés (17,39 %) comparativement aux témoins (34,79%) avec une différence significative ($p = 0,0016$) (**Tableau XII**).

Quant à la parathormone, les valeurs normales sont comprises entre 10 et 65 pg/mL. Sa concentration chez les patients IRC ($117 \pm 14,91$ pg/mL) était significativement plus élevée par rapport aux témoins ($25 \pm 2,95$ pg/mL) ($p = 0,01$) (**Tableau X**).

A propos des hémodialysés, Il a été noté une baisse significative de la parathormone passant de $312 \pm 48,56$ pg/mL avant la dialyse à $175 \pm 36,83$ pg/mL après la séance de dialyse ($p = 0,0001$) (**Figure 16 b**), soit une réduction de 51,92 %.

Chez les témoins, 19,56 % (9) d'entre eux avaient une hypoparathyroïdie (< 10 pg/mL) contre 17,39% (8) chez les patients insuffisants rénaux non dialysés ($p = 0,0001$). L'hypoparathyroïdie a été observée moins fréquemment chez les patients hémodialysés (13,04%) que chez les témoins ($p = 0,0001$). Un taux normal (10-65 pg/mL) de parathormone chez 67,40% (31) des témoins et chez 17,39 % (8) des patients insuffisants rénaux non dialysés ($p = 0,0001$).

Tableau X : Valeurs moyennes de la 25-hydroxyvitamine D et de la PTH de la population d'étude

Paramètres	Témoins	Avant Dialyse	Après Dialyse	IRC	p value a	p value b	p value c
25 (OH) D 75 - 175 mmol/L	65 ±2,41	70 ±3,30	70 ±3,12	48 ±3,34 ^c	0,65	0,66	0,0004
Parathormone 17 - 72 pg/mL	25 ±2,34	312 ±36,22 ^a	175 ±22,98 ^b	117 ±10,68 ^c	0,0001	0,0001	0,01

IRC : patients insuffisants rénaux non dialysés ; Avant Dialyse : patients hémodialysés avant la séance de dialyse ; Après Dialyse : patients hémodialysés après la séance de dialyse.

a, b, c : indique une valeur statistiquement significative. La différence est significative pour $p < 0,05$.

a : Témoins vs Patients hémodialysés avant la séance de dialyse,

b : Témoins vs Patients hémodialysés après la séance de dialyse,

c : Témoins vs Patients insuffisants rénaux non dialysés

Tableau XI : Valeurs moyennes de la 25-hydroxyvitamine D et de la PTH chez les patients atteints d'insuffisance rénale chronique

Paramètres	Avant Dialyse	Après Dialyse	IRC	p value a	p value b	p value c
25 (OH) D	70	70	48	0,99	0,0001	0,0001
75 - 175 mmol/L	±3,30	±3,12	±3,34 ^{bc}			
Parathormone	312	175	117	0,0001	0,0001	0,01
17 - 72 pg/mL	±36,22	±22,98 ^a	±10,68 ^{bc}			

IRC : patients insuffisants rénaux non dialysés ; Avant Dialyse : patients hémodialysés avant la séance de dialyse ; Après Dialyse : patients hémodialysés après la séance de dialyse.

a, b, c : indique une valeur statistiquement significative. La différence est significative pour $p < 0,05$.

a : Patients hémodialysés avant la séance de dialyse vs Patients hémodialysés après la séance de dialyse,

b : Patients hémodialysés avant la séance de dialyse vs patients insuffisants rénaux non dialysés,

c : Patients hémodialysés après la séance de dialyse vs patients insuffisants rénaux non dialysés

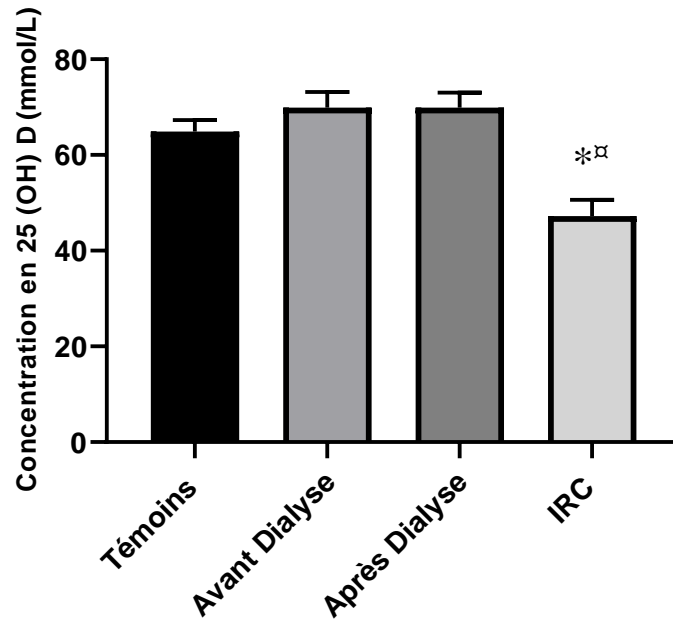


Figure 13 a : Concentration en 25-hydroxyvitamine D de la population d'étude

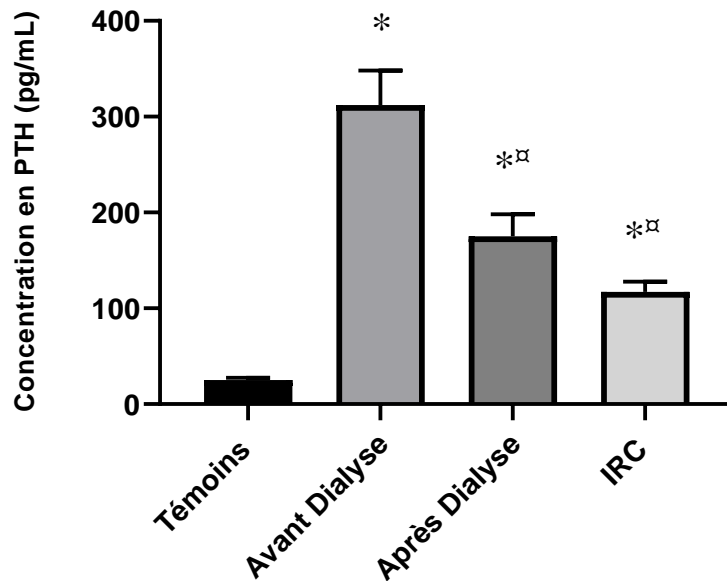


Figure 13 b : Concentration en parathormone de la population d'étude

Figure 11 : Concentration en 25-hydroxyvitamine D et en parathormone de la population d'étude

IRC : patients insuffisants rénaux non dialysés ; Avant Dialyse : Patients hémodialysés avant la séance de dialyse;

Après Dialyse : Patients hémodialysés après la séance de dialyse ;

* : Différence significative entre les patients insuffisants rénaux chronique (patients IRC et dialysés) et les témoins, $P < 0,05$.

α : Différence significative entre les patients avant, après dialyse et les patients IRC, $P < 0,05$.

Tableau XII : Répartition de la population d'étude selon le statut en 25-hydroxyvitamine D

Paramètres	Témoins n = 46	IRC n = 46	Hémodialysé n = 46	a X ² de Pearson	b X ² de Pearson
Déficience < 50 mmol/L	11 (23,91%)	28 (60,87%) ^a	7 (15,22%)	<0,0016	0,57
Insuffisance 50-75 mmol/L	19 (41,30%)	10 (21,74%) ^a	21 (45,65%)	<0,0016	0,57
Suffisance ≥ 75 mmol/L	16 (34,79%)	8 (17,39)	18 (39,13%)	<0,0016	0,57

IRC : patients insuffisants rénaux non dialysés; Hémodialysés : patients hémodialysés chronique
a, b : indique une valeur statistiquement significative. La différence est significative pour $p < 0,05$.
a : Témoins vs patients insuffisants rénaux non dialysés, b : Témoins vs Patients hémodialysés

Comparativement aux témoins, le taux normal de concentration en parathormone était moins fréquent chez les hémodialysés (avant dialyse $p < 0,0001$ / après dialyse $p = 0,0001$). Il a été observé une élévation non significative du nombre des patients qui ont un taux normal de la proportion de la parathormone chez les patients hémodialysés passant de 15,21 % avant la dialyse à 32,61 % après la séance de dialyse ($p = 0,13$). Une hyperparathyroïdie (> 65 pg/mL) a été observée chez 13,04 % (6) des témoins contre 65,22 % (30) des patients IRC ($p = 0,0001$). De même, il existe une différence significative entre la proportion d'hémodialysés ayant une hyperparathyroïdie (avant dialyse $p < 0,0001$ / après dialyse $p = 0,0001$) et celle les témoins. L'hyperparathyroïdie a été retrouvée chez 71,75 % (33) des patients avant la séance de dialyse et baisse à 54,35 % (25) après la séance ($p = 0,13$) (**Tableau XIII**).

Tableau XIII : Répartition de la population d'étude selon le statut en parathormone

Paramètres	Témoins n = 46	Avant dialyse n = 46	Après dialyse n = 46	IRC n = 46	a X ² de Pearson	b X ² de Pearson	c X ² de Pearson	d X ² de Pearson
Insuffisance < 10 pg/mL	9 (19,56%)	6 (13,04%) ^a	6 (13,04%) ^b	8 (17,39%) ^c	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,13
Normale 10 - 65 pg/mL	31 (67,40%)	7 (15,21%) ^a	15 (32,61%) ^b	8 (17,39%) ^c	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,13
Elevée > 65 pg/mL	6 (13,04%)	33 (71,75%) ^a	25 (54,35%) ^b	30 (65,22%) ^c	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,13

IRC : patients insuffisants rénaux non dialysés ; Avant Dialyse : Patients hémodialysés avant la séance de dialyse ; Après Dialyse : Patients hémodialysés après la séance de dialyse

a, b, c, d : p indique une valeur statistiquement significative. La différence est significative pour $p < 0,05$.

a : Témoins vs Patients hémodialysés avant la séance de dialyse,

b : Témoins vs Patients hémodialysés après la séance de dialyse,

c : Témoins vs patients insuffisants rénaux non dialysés,

d : Patients hémodialysé avant la séance de dialyse vs Patients hémodialysés après la séance de dialyse

III.1.6 Valeurs moyennes de l'ionogramme sanguin de la population d'étude

Il a été constaté une hyponatrémie chez les patients IRC ($131 \pm 1,73$) contrairement aux témoins ($142 \pm 0,62$) et aux dialysés ($137 \pm 0,48$) chez qui la natrémie était normale (**Tableau XV**). Les valeurs moyennes du chlore des insuffisants rénaux sont significativement faibles par rapport aux témoins. Néanmoins la valeur du chlore dans toute la population d'étude est dans l'intervalle des valeurs de référence standard. Comparativement aux témoins ($4,2 \pm 0,07$), il a été noté une augmentation significative des valeurs moyennes de potassium chez les insuffisants rénaux non dialysés ($4,9 \pm 0,15$; $p = 0,0003$) et chez les hémodialysés avant la séance de dialyse ($5,2 \pm 0,13$; $p = 0,0001$). Cependant, les hémodialysés ont présenté des valeurs moyennes de potassium significativement abaissées ($3,3 \pm 0,09$; $p = 0,0001$) après la séance de dialyse (**Tableau XVI**).

Tableau XIV : Valeurs moyennes de l'ionogramme sanguin de la population d'étude

Paramètres	Témoins	Avant Dialyse	Après Dialyse	IRC	p value a	p value b	p value c
Sodium (135 - 145 mEq/l)	142 ±0,62	137 ±0,48 ^a	139 ±0,90	131 ±1,73 ^c	0,0014	0,07	0,0001
Chlore (95 - 109 mEq/l)	103 ±0,46	99 ±0,48 ^a	100 ±0,65 ^b	95 ±1,33 ^c	0,0004	0,01	0,0001
Potassium (3,5 - 4,6 mEq/l)	4,2 ±0,07	5,2 ±0,13 ^a	3,3 ±0,09 ^b	4,9 ±0,15 ^c	0,0001	0,0001	0,0003

IRC : patients insuffisants rénaux non dialysés ; Avant Dialyse : patients hémodialysés avant la séance de dialyse; Après Dialyse : patients hémodialysés après la séance de dialyse

a, b, c : p indique une valeur statistiquement significative. La différence est significative pour $p < 0,05$.

a : Témoins vs Patients hémodialysés avant la séance de dialyse,

b : Témoins vs Patients hémodialysés après la séance de dialyse,

c : Témoins vs patients insuffisants rénaux non dialysés

Tableau XV : Valeurs moyennes de l'ionogramme sanguin chez les patients atteints d'insuffisance rénale

Paramètres	Avant Dialyse	Après Dialyse	IRC	p value a	p value b	p value c
Sodium (135 - 145 mEq/l)	137 ±0,48	139 ±0,90	131 ±1,73 ^{bc}	0,55	0,001	0,0001
Chlore (95 - 109 mEq/l)	99 ±0,48	100 ±0,65	95 ±1,33 ^{bc}	0,67	0,0002	0,0001
Potassium (3,5 - 4,6 mEq/l)	5,2 ±0,17	3,3 ±0,14 ^a	4,9 ±0,19 ^c	0,0001	0,43	0,0001

IRC : patients insuffisants rénaux non dialysés ; Avant Dialyse : patients hémodialysés avant la séance de dialyse ; Avant Dialyse : patients hémodialysés après la séance de dialyse ;

a, b, c : indique une valeur statistiquement significative. La différence est significative pour $p < 0,05$.

a : Patients hémodialysés avant la séance de dialyse vs Patients hémodialysés après la séance de dialyse,

b : Patients hémodialysés avant la séance de dialyse vs patients insuffisants rénaux non dialysés,

c : Patients hémodialysés après la séance de dialyse vs patients insuffisants rénaux non dialysés

III.2 DISCUSSION

Les caractéristiques épidémiologiques de la population d'étude montrent que l'insuffisance rénale chronique touche toutes les classes d'âge de la population. En effet, la tranche d'âge des patients insuffisants rénaux chroniques est comprise entre 20 et 74 ans. Dans cette étude, la moyenne d'âge de la population des hémodialysés est de 48 ans. Ces résultats sont proches des travaux de **Haythem et Dhalal (2014)** qui révèlent une moyenne d'âge de 50 ans. Chez les patients IRC, la moyenne d'âge de 46 ans dans cette étude est proche de celle observée (45 ans) dans les travaux de Stanifer en Tanzanie (**Stanifer et al., 2015**). Par contre les résultats sont différents de ceux de Yao et collaborateurs en Côte d'Ivoire qui ont trouvé une moyenne d'âge de 39,6 ans (**Yao et al., 2018**). L'IRC touche des populations jeunes et économiquement actives, ce qui entrave le bien-être socio-économique des familles et favorise un impact néfaste sur le développement socioéconomique des pays en développement.

La prédominance masculine de cette pathologie dans cette étude (65,22 % des hommes contre 33,70% des femmes) est comparable à une étude similaire réalisée chez les patients atteints d'une maladie rénale chronique aux États-Unis d'Amérique (**Agarwal et Light., 2011**), qui a révélé une prépondérance masculine (61,2% contre 38,8%). Ce constat pourrait s'expliquer par le fait que les facteurs de risque de la maladie rénale chronique tel que l'hypertension, le tabagisme sont plus fréquents chez les hommes que les femmes (**Yaw et al., 2014**) mais également par les effets protecteurs des œstrogènes produites chez la femme (**Carrero et al., 2018**).

La quasi-totalité des patients IRC dans cette étude présentaient une maladie rénale chronique avancée, car 93,48% et 2,18% étaient respectivement aux stades 5 et 4, c'est-à-dire au moment où la dialyse, le cas échéant la transplantation est indispensable. Ces résultats sont similaires à ceux de **Yaw et al., (2014)** (Stade 5 : 79,8 % ; stade 4 : 6 %). Il s'agit d'une situation fréquente dans de nombreux pays en voie de développement. Cela pourrait être attribué non seulement au bas niveau socio-économique des populations, mais également à la sous-médicalisation dans ces pays avec le manque de sensibilisation des populations aux symptômes précurseurs de la maladie rénale (**Ackoundou-N'Guessan et al., 2014**). L'un des problèmes majeurs du diagnostic de l'IRC est lié à sa forme asymptomatique aux stades précoces de l'affection, qui évolue avec le temps, vers des complications sévères.

La prévalence de l'anémie dans le groupe des témoins était de 23,92 %. Ces résultats sont similaires à ceux d'**Ugwuja et collaborateurs (Ugwuja et al., 2015)**. En effet dans leur

étude, la proportion de l'anémie était de 21,7%. Les raisons possibles de cette situation sont notamment la malnutrition et les helminthes qui sont courants dans la région subsaharienne (**Iyawe et Adejumo., 2018**).

L'anémie de type normochrome normocytaire a été observé chez 23,92% des témoins, 78,25% des hémodialysés et 19,57% des patients IRC. Aucun cas d'anémie hypochrome microcytaire n'a été constaté chez les témoins par contre cette dernière était présente chez 6,52% des hémodialysés et 79,91% des patients IRC. L'anémie était macrocytaire essentiellement chez les dialysés (8,7%), un seul cas (2,17%) a été observés chez les patients IRC alors qu'il n'y a eu aucun cas chez les témoins. L'anémie dans l'IRC peut être normochrome normocytaire due à une production insuffisante de globules rouges (**Shastry et Belurkar., 2019**). Elle peut être hypochrome microcytaire due au manque de fer associé à une production insuffisante de globules rouges causée par une activité réduite de l'EPO dans la moelle osseuse (**Shastry et Belurkar., 2019**). Au cours de l'insuffisance rénale, les patients peuvent également présenter une anémie macrocytaire due à une carence en vitamine B12 ou en acide folique. Cette carence est peu fréquente, se produisant chez moins de 10 % des patients dialysés. La carence en acide folique peut se produire en particulier chez les patients dialysés, car les taux sériques de folate sont également réduits après une dialyse (**Zadrazil et Horak., 2015**).

L'existence des réticulocytes, permet de savoir si une anémie est régénérative ou non. Le taux de réticulocytes permet de comprendre si la moelle osseuse est capable d'approvisionner le sang avec les nouveaux globules rouges qui ont été perdus (**Means, 2019**).

Au cours de cette étude, le caractère non régénérative de l'anémie a été décelé aussi bien chez les témoins (23,92%), les hémodialysés (78,25%) que chez les patients IRC (19,57%) mettant en évidence le dysfonctionnement de l'intégrité fonctionnelle de la moelle osseuse.

Les concentrations moyennes des globules rouges observées chez les patients IRC ($2,68 \pm 0,12 \cdot 10^6/\mu\text{L}$) et les hémodialysés ($3,46 \pm 0,09 \cdot 10^6/\mu\text{L}$) étaient significativement inférieure à celle des témoins ($4,58 \pm 0,09 \cdot 10^6/\mu\text{L}$). Ce constat était similaire au niveau de l'hémoglobine et des hématocrites, en effet les teneurs de cette dernière étaient de $30 \pm 1,02 \%$ chez les hémodialysés, $21 \pm 1,31 \%$ les patients IRC et significativement plus faible que celui des témoins $39 \pm 0,88 \%$. La concentration moyenne en hémoglobine (Hb) était significativement plus basse chez les patients IRC ($7 \pm 0,33 \text{ g/dL}$) et les dialysés (avant dialyse $9 \pm 0,25 \text{ g/dL}$) par rapport aux témoins ($13 \pm 0,23 \text{ g/dL}$). Les faibles niveaux notés chez les insuffisants rénaux chroniques (patients IRC et dialysés) par rapport aux témoins sont corroborés par les travaux de **Behera (2020)**. La cause principale de la diminution du nombre

des globules rouges dans l'insuffisance rénale chronique est l'altération de la production d'érythropoïétine et la réduction de la survie des globules rouges. L'érythropoïétine (EPO) est une hormone produite par des fibroblastes interstitiels spécialisés de type I dans le cortex et la couche externe de la médulla rénale. C'est le principal régulateur humoral de la production des globules rouges, il contribue à maintenir la viabilité de ceux-ci en retardant le clivage de l'ADN qui se produit normalement au stade de CFU-E (colony forming unit-erythroid) de l'érythropoïèse (**Lombardero *et al.*, 2011**). En l'absence d'EPO, le clivage de l'ADN est rapide et entraîne la mort cellulaire. Le facteur hémolytique impliqué dans la diminution de la survie des globules rouges est présumé être une substance toxique normalement excrétée ou métabolisée par les reins, l'une de ces substances étant la guanidine et ses dérivés, qui semblent être un sous-ensemble des nombreux métabolites retenus, affectent négativement la survie des érythrocytes (**Suresh *et al.*, 2012**). La baisse du nombre des globules rouges circulant, associée à la réduction de la survie de ces derniers entraînent la réduction de la concentration d'hémoglobine et l'hématocrite d'où la survenue de l'anémie.

La diminution des concentrations sériques d'érythropoïétine (EPO) observée chez les patients IRC est considérée comme la principale cause du développement de l'anémie rénale. A mesure que la maladie rénale progresse, la masse rénale diminue, ce qui réduit la production d'EPO et favorise son déficit (**Atkinson et Warady., 2018**). Cependant dans notre étude la concentration en érythropoïétine des dialysés est supérieure à celui des patients IRC, cela serait dû à l'utilisation (injection des patients) de l'érythropoïétine recombinante dans les centres d'hémodialyse. En effet, l'érythropoïétine (EPO) est un facteur crucial qui régule le nombre des globules rouges liée à son intégration dans le système de transport de l'oxygène. Le principal stimulus pour une synthèse élevée de l'EPO est l'hypoxie tissulaire, qui conduit normalement à une augmentation exponentielle des taux sériques d'EPO (**Jelkmann., 2011**). Cette rétroaction est affectée chez les patients présentant des conditions pathologiques impliquant les reins et l'anémie qui se développe n'est pas adéquatement compensée par une augmentation suffisante de la production d'EPO. L'expression de l'EPO est régulée par le facteur de transcription induit par l'hypoxie HIF-2 α . La régulation de la production d'EPO se fait par HIF-2 α et est modulée par la pression d'oxygène dans les cellules et les tissus. L'ablation de HIF-2 α , et non de HIF-1 α , provoquait une anémie restaurée par l'EPO recombinante (**Sugahara *et al.*, 2017**). Sous normoxie, HIF-2 α est hydroxylé par le dioxygène et les prolyl-4-hydroxylases HIF dépendantes du fer (HIF-PHD) et ciblées pour la dégradation protéasomale dans un complexe E3-ligase (**Vogler *et al.*, 2015**). Cependant, dans des conditions d'hypoxie, HIF-2 α est stabilisé et n'est plus dégradé, mais transloqué vers le noyau où il forme un hétérodimère avec HIF- β ou le

translocateur nucléaire du récepteur des hydrocarbures aryliques (ARNt). Les hétérodimères HIF-2 α / β , conjointement avec des coactivateurs transcriptionnels, tels que la protéine de liaison CREB (CBP) et p300, se lient aux éléments consensus dans les régions 5' ou 3' du gène pour le rein ou le foie, respectivement, pour initier et augmenter la transcription de l'EPO (**Sugahara et al., 2017**).

Des facteurs tels que les chélateurs du fer, l'oxyde nitrique, les espèces réactives de l'oxygène (ROS) ou le chlorure de cobalt (CoCl₂) inhibent l'association HIF-PHD (augmentation de HIF-2 α), ce qui aboutit à une augmentation de la transcription et de la production d'EPO. À l'inverse, un excès de fer diminue les taux d'expression de HIF 2 α et d'EPO dans un modèle de souris déficient en érythropoïétine (**Suzuki et Abe., 2018**). Aux stades avancés de l'IRC, une hémodialyse régulière contribue à une carence en fer absolue. Dans des conditions physiologiques normales, les macrophages englobent les érythrocytes sénescents et recyclent le fer incorporé à l'hémoglobine (**Korolnek et Hamza., 2015**). Lors de telles pertes de sang, cette opportunité de recyclage du fer est perdue. Après une perte de sang, chez les individus en bonne santé, l'EPO aide à l'absorption du fer, mais celle-ci est réduite chez les patients atteints d'IRC, car ils souffrent d'un déficit en EPO à mesure que leur état se détériore. Par conséquent, dans l'IRC, il est difficile de reconstituer les réserves de fer et donc, l'érythropoïèse est limitée.

Il a été constaté une augmentation significative de la CRP chez les patients IRC (45 mg/L) par rapport aux témoins (2 mg/L) par contre chez les hémodialysés (9 mg/L), quoique la différence ne soit pas significative en comparaison aux témoins, la valeur de la CRP est au-dessus des valeurs de référence standard (< 6 mg/L). De même, il a été noté une hausse de la ferritine chez les patients IRC (1215 mg/L) et des hémodialysés (810 mg/L) qui diffère significativement des témoins (160 mg/L). Au contraire, il a été observé une baisse significative des concentrations sériques du fer des insuffisants rénaux (patient IRC et hémodialysés). En effet, la concentration de fer sérique était de 10,07 μ mol/L chez les dialysés, de 12,46 μ mol/L chez les insuffisants rénaux non dialysé et de 15,85 μ mol/L chez les témoins. La baisse de la teneur en transferrine a également été constatée ; les valeurs de la transferrine étaient de 1,26 g/L chez les patients IRC et les hémodialysés diffèrent significativement de la valeur de 2,40 g/L observée chez les témoins. Quant à la capacité totale de fixation de la transferrine (CTF), il a été noté une différence significative entre les insuffisants rénaux non dialysé (32 μ mol/L) et les témoins (61 μ mol/L). De même, une différence significative a été obtenue entre les dialysés (35 μ mol/L) et les témoins. L'augmentation de la CRP et de la ferritine et

d'autre part la baisse des concentrations sériques du fer, de la transferrine, de la capacité totale de fixation de la transferrine (CTF), observés chez la majorité des patients insuffisants rénaux chroniques de cette étude, sont caractéristiques d'un profil inflammatoire. Dans les premières heures suivant le début de l'inflammation les cytokines, y compris le facteur de nécrose tumorale α (TNF- α), l'interleukine-1, l'interleukine-6 et interféron- γ , sont produites par des cellules inflammatoires (**Tomas., 2019**). Cela peut être expliqué premièrement, par l'activation immunitaire systémique qui conduit à des changements profonds du trafic de fer, entraînant une rétention du fer dans les macrophages et une réduction de l'absorption du fer alimentaire. Les travaux de **Mayeur et collaborateurs** en 2014 ont montré que l'interleukine-6 induisait l'expression de l'hepcidine. L'augmentation des concentrations d'hepcidine inhibe l'absorption du fer dans le duodénum et agit également sur les macrophages pour bloquer la libération du fer recyclé à partir d'érythrocytes sénescents dans le plasma (**Ueda et Takasawa., 2017**). Cet ensemble de mécanismes favoriserait la diminution de la concentration du fer sérique et la capacité de fixation du fer à la transferrine (**Marioa, 2012**). Deuxièmement, c'est l'altération de l'érythropoïèse causée, en partie, par une production réduite et/ou une activité biologique réduite de l'hormone EPO dans le contexte inflammatoire qui favorise la production de divers médiateurs inflammatoires (TNF- α , l'interleukine-1, l'interleukine-6 et interféron- γ). En effet, l'EPO exerce ses effets biologiques après la liaison à son récepteur érythroïde homodimérique par des cascades de signalisation médiées par JAK/STAT (**Jelkmann., 2011**). En effet, la liaison de l'EPO à son récepteur active la Janus kinase 2 (JAK-2), qui entraîne ensuite l'inhibition de l'apoptose des cellules progénitrices par de multiples processus de régulation (**Zadrazil et Horak., 2015**). L'efficacité de la signalisation à médiation EPO est réduite et inversement liée aux taux circulants d'IL-1 et d'IL-6, indiquant l'hyporéactivité des EPOR provoquée par l'inflammation (**Okonko et al., 2013**). En outre, la disponibilité et l'activité réduites d'EPO altèrent l'induction de l'érythroferrone, qui inhibe normalement la production d'hepcidine aggravant ainsi la limitation du fer érythroïde médiée par l'hepcidine (**Latour et al., 2017**).

Concernant le bilan lipidique, les teneurs de cholestérol total, de cholestérol-LDL et de triglycéride des populations d'étude se trouvaient dans la gamme des valeurs normales. Cependant la concentration en cholestérol-HDL des patients IRC et des dialysés était significativement plus faible que celle des témoins. Ces résultats sont similaires aux travaux d'**Udoka et al., (2017)** et **Aljabri et al., (2019)**. En effet, chez les patients atteints d'IRC, en particulier, ceux sous dialyse, les taux de HDL sont généralement réduits en raison d'une

maturation ralentie des HDL, qui est liée à une diminution des niveaux d'apolipoprotéines et de la lécithine-cholestérol acyltransférase (LCAT) et à ses modifications post-traductionnelles anormales (**Rysz et al., 2020**). De plus, une diminution de la concentration de HDL dans la maladie rénale chronique est associée à la diminution du métabolisme des lipoprotéines riches en triglycérides, au ralentissement de la synthèse des apo A-I et A-II par le foie et à l'augmentation de l'activité de la protéine de transfert des esters de cholestérol (**Rysz et al., 2020**). Les modifications observées dans les particules HDL dans les états pathologiques altèrent l'efflux de cholestérol (**Bermúdez-López et al., 2017**), les fonctions antioxydantes, l'expression des molécules d'adhésion, la capacité à inhiber l'activité de la NADPH oxydase induite par le TNF α et la production de superoxyde, la capacité à métaboliser les hydroperoxydes sur les membranes érythrocytaires, la suppression de la cytokine, l'inhibition dans les cellules inflammatoires activées ainsi que les propriétés anti-apoptotiques (**Shroff et al., 2014 ; Linton et al., 2019**).

La teneur élevée en parathormone, chez les patients IRC et les dialysés est similaire à celle des travaux de Mondé chez les patients insuffisants rénaux (**Mondé et al., 2013**). Cela témoigne d'une hyperparathyroïdie (HPT). Cependant, la diminution significative de la PTH observée au cours de la dialyse pourrait être due non seulement à la baisse de sa sécrétion induite par l'hypercalcémie survenant pendant la dialyse mais, également à son élimination dans le dialysat (**Basile et al., 2012**). L'hyperparathyroïdie représente l'une des complications les plus courantes de l'évolution de l'IRC et pourrait s'expliquer par plusieurs mécanismes interdépendants. En effet, la relation PTH sérique/calcémie ionisée suit une courbe sigmoïde qui fait que pour des variations faibles des valeurs moyennes de la calcémie, il existe des variations fortes de la PTH sérique. Dans des conditions d'hypocalcémie, le pourcentage de PTH intacte libérée dans la circulation sanguine augmente, et dans des conditions d'hypercalcémie, il diminue (**Goltzman et al., 2018**). Au cours de l'insuffisance rénale, l'hypocalcémie s'installe en rapport avec les réductions de la réabsorption tubulaire rénale et de l'absorption intestinale du calcium, ce qui va stimuler directement la synthèse des ARNm de la PTH. En effet, les cellules parathyroïdiennes peuvent détecter des changements, même minimes, des niveaux de calcium sérique par l'intermédiaire d'un récepteur membranaire (CaSR), ce qui entraîne des modifications de la libération et de la synthèse de la PTH (**Riccardi et Valenti., 2016**). Aussi, des données expérimentales suggèrent qu'une réduction de l'expression du CaSR sur les cellules parathyroïdiennes avait pour conséquence une augmentation du point de consigne pour la libération de la PTH contrôlée par le calcium (**Messa**

et Alfieri., 2019). Cette situation pourrait concourir à la sécrétion accrue de la PTH au cours de l'IRC.

Il a été observé une augmentation significative de la calcémie après la dialyse. La concentration en calcium dans le dialysat étant plus élevée que celle du calcium ionisé dans le sang, la séance permet un transfert de calcium vers le sang du patient (le calcium lié aux protéines ne diffuse pas). Malheureusement, il y a peu de preuves cliniques, sur lesquelles l'équilibre du calcium devrait être ciblé pour répondre au mieux à des avantages et des risques potentiels pour les insuffisants rénaux. Cela rend difficile la définition de la concentration en calcium dans le bain de dialyse optimale chez chaque patient (**Messa et Sherman., 2014**).

Par ailleurs, la diminution de la fonction rénale est également associée à une hyperphosphatémie comme observée chez les patients insuffisants rénaux non dialysés (patient IRC). Cependant, au début de l'IRC, les niveaux de phosphore sérique sont maintenus grâce à une diminution compensatoire du taux de réabsorption tubulaire rénale du phosphore. Ce maintien de l'équilibre phosphatique s'explique par une augmentation de la sécrétion de deux protéines dont le rôle phosphaturique est central à savoir la FGF23 (Fibroblast Growth Factor 23) et son corécepteur α Klotho. Ces protéines augmentent l'excrétion rénale de phosphate en inhibant l'expression des cotransporteurs de phosphate dépendant du sodium de type II NaPi2a et NaPi2c dans le tubule proximal du rein, inhibant ainsi la réabsorption du phosphate et favorisant la phosphaturie (**Martin et al., 2012**). Malheureusement, il y a aussi une diminution de la production de Klotho avec la progression de l'insuffisance rénale chronique. Ainsi, l'efficacité de FGF23/Klotho pour corriger l'excrétion du phosphate est limitée, et à mesure que l'IRC progresse, il y a le développement d'une hyperphosphatémie manifeste. Cela entraîne une stimulation supplémentaire de la production de FGF23. Bien que le FGF23 se lie au récepteur Klotho dans la parathyroïde pour inhiber la PTH, il y a une diminution de Klotho avec une détérioration de la fonction rénale, et *in fine*, le FGF23 perd sa capacité à diminuer les concentrations de la PTH. De plus, l'hyperphosphatémie inhibe directement les récepteurs de détection du calcium et stimule également la production de la PTH (**Ryyan et Stuart., 2020**). Toutefois, il a été noté une phosphatémie normale chez les dialysés. Ces résultats pourraient s'expliquer par un régime alimentaire pauvre en phosphate et les interventions pharmacologiques (la prise de chélateur de phosphate) qui visent à limiter l'absorption gastro-intestinale (**Adema et al., 2014**). De même la dialyse favorise la diminution de la teneur en phosphate chez les patients dialysés d'où la baisse observée chez ces derniers. Selon **Daugirdas (2015)** le phosphore, est éliminé principalement de l'espace plasmatique au cours de la dialyse.

L'hypovitaminose D observée chez des témoins pourrait être expliquée par une consommation insuffisante des aliments contenant ou enrichis en vitamine D. En effet, la vitamine D circulante a une double origine : exogène fournie par l'alimentation (ergocalciférol, cholécalciférol, présents par exemple dans certains végétaux ou les poissons gras) et endogène par synthèse cutanée. La principale source de la vitamine D est la synthèse cutanée induite par la lumière du soleil et la seconde source provient de l'alimentation et des suppléments (**Uwitonze et al., 2017**). Cependant, chez les noirs, la pigmentation de la peau affecte la production de la vitamine D par synthèse cutanée. Par conséquent, les personnes de race noire ont des niveaux inférieurs de 25 (OH) D, potentiellement à cause de la mélanine (pigment de la peau) qui constitue un écran solaire naturel, conduisant à une diminution de la synthèse de la vitamine D₃ dans la peau (**Jean et al., 2017**).

La teneur en 25 (OH) vitamine D, bien qu'abaissée chez des dialysés, est significativement supérieure à celle des patients IRC. Cela est dû à la supplémentation en vitamine D des patients dialysés. Au cours de l'insuffisance rénale, les troubles du métabolisme de la vitamine D jouent un rôle majeur dans le développement de l'hyperparathyroïdie secondaire. Les faibles taux de calcidiol ou 25-hydroxyvitamine D sont très répandus au cours de l'insuffisance rénale chronique (**Nigwekar et al., 2014**).

La diminution de la 1,25-dihydroxyvitamine D ou le calcitriol est lié par ailleurs à la baisse de la 25-hydroxyvitamine D indépendamment du stade de l'insuffisance rénale. L'hydroxylation de 25 (OH) D pour former 1,25 (OH)₂ D, la forme hormonale, la plus active et fonctionnelle de la vitamine D, se produit principalement dans le tubule droit proximal du rein (**Jones et al., 2014**). L'enzyme responsable de la conversion de la 25 (OH) D en 1,25 (OH)₂ D est la 1- α -hydroxylase rénale (CYP27B1 Cytochrome 27 B1 mitochondriale). La baisse de la 25 (OH) D contribuerait à la diminution de la 1,25 (OH)₂ D observée dans les stades avancés de l'insuffisance rénale, en raison de la baisse de l'activité de la 1- α -hydroxylase, mais également de la diminution du substrat de cet enzyme (**Chang et Soo., 2014**).

Le taux de calcitriol diminue progressivement à mesure que le débit de filtration glomérulaire diminue. Cette diminution des taux de calcitriol est due à plusieurs facteurs rénaux, tels qu'une diminution du CYP27B1 rénal en cas de réduction de la masse rénale ; la perte de mégaline rénale nécessaire à l'absorption du calcidiol par le tubule proximal et de faibles quantités de calcidiol délivrées aux cellules tubulaires proximales pour l'activation en calcitriol (**Chesney., 2016**). En outre, des facteurs de régulation, comme des taux élevés de FGF23, qui surviennent au début de l'IRC, suppriment directement le CYP27B1 rénal et exacerbent le déficit en

calcitriol (**Kuro., 2018**). Dans des conditions normales, le calcitriol agit directement pour diminuer la synthèse de la PTH en se liant au récepteur de la vitamine D (VDR) dans le noyau de la cellule parathyroïdienne. Lors de la liaison au calcitriol, le VDR subit un changement conformationnel et forme un complexe avec le récepteur rétinolide X. Ce complexe récepteur VDR/rétinolide X se lie alors à des séquences spécifiques dans les gènes cibles et modifie le taux de transcription génique ; un effet est de réduire la transcription du gène pré-pro-PTH, première étape de la synthèse de la PTH (**Chitalia et al., 2012**). Le calcitriol peut également inhiber la PTH indirectement en augmentant l'absorption intestinale du calcium (**Negrea., 2018**). Dans les maladies rénales, la synthèse du calcitriol est réduite et la boucle de rétroaction endocrinienne normale pour contrôler la synthèse de la PTH est donc rompue.

D'autres facteurs, ont joué un rôle dans le dérèglement de l'activité et de la prolifération des glandes parathyroïdiennes associé à la progression de l'hyperparathyroïdie dans l'IRC : l'expression accrue de la cyclooxygénase 2 (Cox 2) favorise la prolifération cellulaire, inhibe l'apoptose cellulaire et stimule l'angiogenèse via la production de prostaglandines. Selon les études menées par **Zhang**, l'expression de Cox 2 était systématiquement augmentée dans les parathyroïdes des patients urémiques atteints d'hyperparathyroïdie secondaire sévère et des glandes parathyroïdes obtenues des rats urémiques **Zhang et al (2011)**. Cependant, le traitement des rats urémiques avec un inhibiteur de la Cox 2 le célécoxib, a inversé l'hyperplasie des parathyroïdes. Ces résultats suggèrent l'activation de la Cox 2 dans la prolifération des cellules parathyroïdiennes qui caractérisent l'hyperparathyroïdie de l'IRC.

Les anomalies électrolytiques sont des complications courantes chez les patients atteints d'insuffisance rénale chronique (IRC). Parmi elles, l'hyponatrémie est cliniquement pertinente, non seulement parce qu'il s'agit de l'un des troubles électrolytiques les plus fréquents dans l'IRC, mais aussi parce qu'il s'agit d'un marqueur pronostique bien établi de mauvais résultats cliniques tels que le décès, les événements cardiovasculaires, la progression de l'IRC et les fractures (**Lim et al., 2016**). L'hyponatrémie a été constatée chez les patients insuffisants rénaux non dialysés. L'hyponatrémie pourrait être due à l'accumulation d'eau et de sel chez des patients qui sont souvent anuriques et dont l'hyperhydratation intra et extracellulaire entraîne une prise de poids et une hypertension artérielle (**Zhang et al., 2017**). Afin de corriger cette hyponatrémie certains auteurs suggèrent un apport supplémentaire de sodium par l'intermédiaire du bain de dialyse, mais avec le risque d'exposer le malade à une soif excessive par déshydratation intra-cellulaire. La dialyse corrige l'hyponatrémie fréquente chez ces patients et stabilise la natrémie (**Diop., 1996**).

Il a été noté une hyperkaliémie chez les patients IRC et les dialysés. Le rein est le principal régulateur de l'homéostasie potassique et une altération de la fonction rénale est la condition préalable essentielle au développement et au maintien de l'hyperkaliémie chronique (**Kovesdy., 2016**). D'autres modificateurs clés du taux du potassium sont les comorbidités fréquemment rencontrées dans la population de l'IRC, à savoir le diabète, l'insuffisance cardiaque (IC), l'acidose métabolique, la réduction de l'excrétion urinaire du potassium, l'excrétion intestinale réduite de potassium, l'augmentation de la libération du potassium des cellules et l'utilisation d'agents de première intention pour le traitement de l'IRC, à savoir les antagonistes du système rénine-angiotensine-aldostérone (anti-SRAA), en particulier s'ils sont utilisés en combinaison (**De Nicola et al., 2018**). La dialyse permet de corriger l'hyperkaliémie.

A decorative horizontal border with rounded ends, resembling a scroll. The top and bottom edges are slightly curved, and the left and right sides are vertical with rounded corners. The text is centered within this border.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'insuffisance rénale chronique (IRC) demeure un problème de santé publique majeur dans le monde. Elle se caractérise par une diminution progressive de la fonction rénale. Au cours de cette maladie, les reins perdent progressivement leur fonction normale, en particulier les fonctions excrétrices et régulatrices. Les marqueurs hématologiques, biochimiques et hormonaux jouent un rôle important dans le diagnostic précis et dans l'évaluation des risques et l'adoption d'un traitement pour améliorer les résultats cliniques.

Il ressort de cette étude que l'IRC est diagnostiquée à un stade avancé. Un meilleur contrôle des affections causales de l'insuffisance rénale ainsi qu'une sensibilisation des populations favoriseraient un dépistage précoce de cette maladie.

L'anémie de type normochrome normocytaire, l'anémie hypochrome microcytaire et dans une moindre proportion l'anémie macrocytaire ont été décelées au sein de la population d'étude. L'anémie chez les insuffisants rénaux chroniques (patients IRC et hémodialysé) est essentiellement due à une baisse de la concentration en érythropoïétine. Cependant, les marqueurs biochimiques du métabolisme du fer ont permis d'attirer l'attention sur l'origine inflammatoire de l'anémie chez ces patients. Par ailleurs, l'hyperparathyroïdie secondaire constitue une complication métabolique majeure observée dans cette étude. Elle est due à un ensemble de facteurs qui s'imbriquent tels que les troubles du métabolisme phosphocalcique et la baisse de la teneur en 25-hydroxyvitamine D.

De même, le bilan lipidique et l'ionogramme sanguin sont perturbés. Il a été noté une baisse des marqueurs lipidiques à savoir des taux de cholestérol total, de cholestérol-HDL, cholestérol-LDL à l'exception des triglycérides. Chez les patients atteints d'IRC, en particulier, ceux sous dialyse, les taux de HDL sont généralement réduits en raison d'une maturation ralentie du cholestérol-HDL. Une hyponatrémie associée à une hyperkaliémie est le trouble ionique observé chez les insuffisants rénaux chroniques. En réalité, le rein est le principal régulateur de l'homéostasie des électrolytes, ainsi une altération de la fonction rénale est la condition préalable essentielle au développement et au maintien des anomalies électrolytiques.

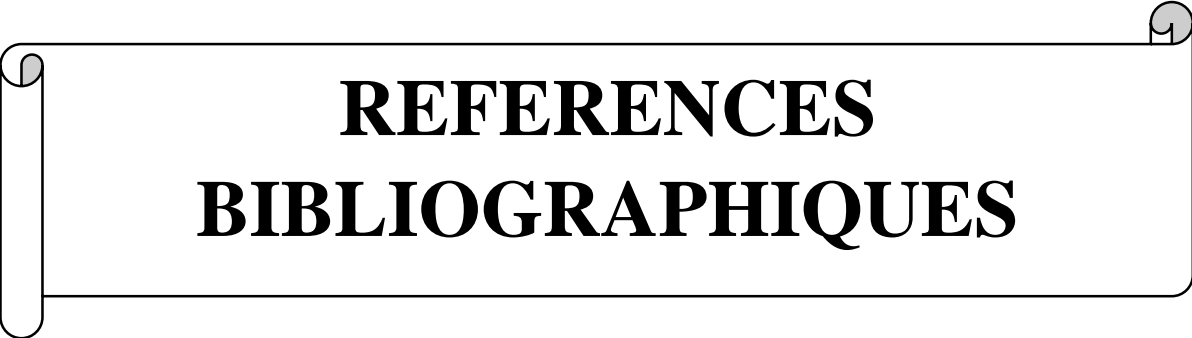
La dialyse permet de corriger dans une certaine mesure la valeur moyenne de certains paramètres tels que l'urée, la créatinine, la parathormone, la phosphatémie, la calcémie, la natrémie et la kaliémie. Néanmoins, la supplémentation en vitamine D et l'injection de l'EPO dans les centres d'hémodialyses ont contribué à un meilleur état de santé des hémodialysés par rapport aux insuffisants rénaux non dialysés. Le dosage de l'érythropoïétine, de la vitamine D et de la parathormone donnerait une meilleure orientation aux cliniciens. Cela permettrait

d'adresser un meilleur traitement afin d'améliorer la prise en charge médicale des insuffisants rénaux chroniques en Côte d'Ivoire.

PERSPECTIVES

Des études supplémentaires permettant de mieux apprécier le profil biologique des patients insuffisants rénaux chronique seraient nécessaires. Il serait donc intéressant :

- de doser la calcitonine pour évaluer son impact réel dans le mécanisme de régulation du métabolisme phosphocalcique
- déterminer la valeur moyenne de l'AMP cyclique, molécule qui rend compte de la réactivité de la PTH
- d'évaluer le profil des vitamines hydrosolubles des patients insuffisants rénaux



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Abboud M., Puglisi D.A., Davies B.N., Rybchyn M., Whitehead N.P., Brock K.E., Cole L.C., Gordon-Thomson C., Fraser D.R. & Maçon R.S. 2013. Evidence for a specific uptake and retention mechanism for 25-hydroxyvitamin D (25OHD) in skeletal muscle cells. *Journal of Endocrinology*, **154**: 3022-3030.

Abell L.L., Levy B.B. & Kendall F.E. 1958. Cholesterol in serum. *Standard Methods of Clinical Chemistry*. Vol. 2 Seligon D (ed.). Academic Press, New York. 2: 26-33.

Abrouki E.F. 2013. Les D dimères : techniques de dosage. Thèse en vue de vue de l'obtention du grade de Docteur en Pharmacie. Université Mohammed V-Souissi, Rabat, Maroc 121p.

Ackoundou-N'Guessan K.C., N'Zoue S., Lagou A.D., Tia W.M., Guei M.C., Coulibaly P.A. & Gnonsiahe D.A. 2014. Epidémiologie de l'hypertension artérielle non contrôlée au cours des maladies rénales chroniques chez des patients admis dans une unité de néphrologie d'Afrique noire : une étude rétrospective de 479 patients. *Néphrologie & Thérapeutique*, **745**: 1-10.

Ackoundou-N'Guessana K.C., Hoangb A.D., Ben Abdallahc T., Gnionsahe D.A., Dollod I., Ripoched C., Coulibalya N., Aye Y.D., N'Guessana F.Y., Diby K.B., Gueia C.M., Tia M.W., Amekoudjia Y & Lagou D.A., 2015. Living Kidney Donor Transplantation in a Resource-limited Country: The Ivory Coast Experience. *Transplantation Proceedings*, **47** : 1580-1584

Adema A.Y., Borst M.H., Wee P.M.T., Vervloet M.G. & Nigram C. 2014. Dietary and pharmacological modification of fibroblast growth factor-23 in chronic kidney disease. *The Journal of Renal Nutrition*, **24**: 143-150.

Agarwal R. & Light R.P. 2011. Determinants and prognostic significance of electrocardiographic left ventricular hypertrophy criteria in chronic kidney disease. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, **6**: 528-536.

Ahmed A.A., Malhotra D., Rondon B.H., Argyropoulos P.C, Khitan J.Z., Raj S.C.D., Mark R.M., Shapiro I.J. & Tzamaloukas H.A., 2017. Establishing the presence or absence of chronic kidney disease: uses and limitations of formulas estimating the glomerular filtration rate, *World Journal of Methodology*, **7**: 73-92.

Akesson K. 2003. Bone and joint diseases around the world. Sweden: A brief update on burden and priority. *The Journal of Rheumatology and Supplements*, **67**: 38-40.

Alem A.M., Sherrard D.J., Gillen D.L., Weiss N.S., Beresford A.S., Heckbert R.S., Wong C. & Stehman-Breen C. 2000. Increased risk of hip fracture among patients with end-stage renal disease. *Kidney International*, **58**: 396-399.

Aljabri S.K., Bokhari A.S., Alshareef A.M., Khan M.P., Abu E.M.H., Jalal M.M., Rania F.S.F.R., El Boraie R., Nawaf K.A.K.N., Aljabri K.B., Alsuraihi Y.A. & Hawsawi I.A. 2019. Serum lipid profiles in patients with chronic kidney disease in a Saudi population. *Endocrinology & Metabolism International Journal*, **7**: 41 – 46.

Allain C.C., Poon L.S. & Chan C.S. 1974. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clinical Chemistry*, **20**: 470 – 475.

Allaire O., David D.J & Lee-robin S.H. 2011. Evaluation du débit de filtration glomérulaire et du dosage de la créatininémie dans le diagnostic de la maladie rénale chronique chez l'adulte. Rapport d'évaluation technologique, Saint-Denis, 14p.

Amrani H.Z. 2016. Insuffisance rénale chronique et endocrinopathies. Thèse en vue de l'obtention du diplôme de spécialité en médecine option : en endocrinologie et maladies métaboliques. Université Sidimohammed Ben Abdellah, faculté de médecine et de pharmacie de Fès, royaume du Maroc, 82p.

ANAES., 2002. Diagnostic de l'insuffisance rénale chronique chez l'adulte. Texte des Recommandations, 25 p.

Anonyme 1. 2011. Politique nationale de prévention et de prise en charge des maladies chroniques non transmissibles en Côte d'Ivoire. Rapport de la Direction de Coordination du Programme National de Prévention des Maladies Non Transmissibles, Abidjan, 30 p.

Antic T. & Taxy J.B. 2014. Rein normal *Tumeurs rénales*. Springer, New York (Etats Unis), pp 5-8.

Atkinson M.A. & Warady B.A. 2018. Anemia in chronic kidney disease. *Pediatric Nephrology*, **33**: 227-238.

Babitt J.L. & Lin H.Y. 2012. Mechanisms of anemia in CKD. *Journal of the American Society of Nephrology*, **23**: 1631-1634.

Bacic D., Lehir M., Biber J., Kaissling B., Murer H. & Wagner C.A. 2006. The renal Na⁺/phosphate cotransporter NaPi-IIa is internalized via the receptor-mediated endocytic route in response to parathyroid hormone. *Kidney International*, **69**: 495-503.

Bare B., Sholtis B.L., Smeltzer S & Suddarth S.D., 2011. Soins infirmiers en médecine et en chirurgie 4 fonctions rénale et reproductrice, 3^{ème} édition. De Boeck supérieur, paris (France) 149p.

Basile C., Libutti P., Turo D.L.A., Vernagliono L., Casucci F., Losurdo N., Teutonico A. & Lomonte C. 2012. Effect of Dialysate Calcium Concentrations on Parathyroid Hormone and Calcium Balance during a Single Dialysis Session Using Bicarbonate Hemodialysis: A Crossover Clinical Trial. *American Journal of Kidney Diseases*, **59**: 92-101

Bazan J.F. 1990. Structural design and molecular evolution of a cytokine receptor superfamily. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **87**: 6934–6938.

Behera P.B. 2020. Hematological profile in patients of chronic kidney disease with its severity in a tertiary care hospital, north odisha. *Asian Journal of Pharmaceutical and clinical research*, **13** : 182-187

Benaisa R. 2014. Mircera® : indications thérapeutiques, utilisation frauduleuse en milieu sportif et méthodes de détection, thèse pour le diplôme de docteur en pharmacie. Université de Lille 2, Lille, France 119 p.

Benja R., Eliane M.R., Mihary D., Evanirina R. & Willy F.R. 2016. Une étude rétrospective sur l'incidence de l'insuffisance rénale chronique dans le service de Médecine Interne et Néphrologie du Centre Hospitalier Universitaire d'Antananarivo, Madagascar. *The Pan African Medical Journal*, **23**: 1-6.

Bermúdez-López M., Arroyo D., Betriu À., Masana L., Fernández E & Valdivielso J.M. 2017. New perspectives on CKD-induced dyslipidemia. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, **21**: 967-976.

Blaine J, Chonchol M, Levi M., 2015. Renal control of calcium, phosphate, and magnesium homeostasis. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, **10** : 1886 - 1887.

Bondar R.J & Mead D.C. 1974. Evaluation of glucose -6-phosphate dehydrogenase from leuconostoc mesenteroides in the hexokinase method for determining glucose in serum. *Clinical Chemistry*, **20**: 586-590.

Bouillon R., 2018. Extra-Skeletal Effects of Vitamin D. *Frontiers of Hormone Research*, **50** : 72-88.

Bouillon R., Carmeliet G., Verlinden L., Van E.E., Verstuyf A., Luderer F.H., Lieben L., Mathieu C. & Demay M. 2008. Vitamin D and human health: lessons from vitamin D receptor null mice. *Endocrine Reviews*, **29**: 726-776.

Bourquin V. & Martin P.Y. 2006. Insuffisance rénale chronique : prise en charge. *Forum Médical Suisse*, **6**: 794-803.

Brel O. 2015. Le rôle du pharmacien d'officine dans la prise en charge de l'insuffisance rénale chronique : ses nouvelles missions. Thèse en vue de vue de l'obtention du grade de Docteur en Pharmacie. Université de Lorraine, Lorraine, France 91p.

Brown E.M. & MacLeod R.J, 2001. Extracellular calcium sensing and extracellular calcium signaling. *Physiological Reviews*, **81**: 239-297.

Brunet P., Faure V., Burtey S., Sichez H & Berland Y. 2006. Anémie de l'insuffisance rénale chronique. *EMC-Néphrologie*, **1**: 1-12.

Bunn H.F. 2013. Erythropoietin. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, **3**: 1-21.

Caldararu C.D., Tarta D.I., Gliga M.L., Tarta C., Carasca E., Albu S., Hutanu A., Dogaru M. & Dogaru G. 2017. Comparative analysis of hepcidin-25 and inflammatory markers in patients with chronic kidney disease with and without anemia. *Acta Marisiensis - Seria Medica*, **63**: 10-14.

Carrero J.J., Hecking M., Chesnaye N.C & Jager K.J., 2018. Sex and gender disparities in the epidemiology and outcomes of chronic kidney disease. *Nature Reviews Nephrology*, **14**: 151-164.

Ceppa F., Gidenne S., Robino C., Sarret D & Burnat P., 2000. Suivi biologique de l'hémodialyse chronique. *Nephrology Annales de Biologie Clinique*, **58**: 663-674.

Chabane C. M & Benzenati., 2017. Troubles minéraux et osseux chez l'hémodialysé. Thèse en vue de l'obtention du diplôme de Docteur en Médecine. Université Abderrahmane Mira de Bejaia, Faculté de Médecine, République Algérienne Démocratique et Populaire, 170 p.

Chadban S.J., Ahn C., Axelrod D.A., Foster B.J., Kasiske B.L., Kher V., Kumar D., Oberbauer R., Pascual J. & Pilmore H.L. 2020. KDIGO Clinical Practice Guideline on the

Evaluation and Management of Candidates for Kidney Transplantation. *Transplantation*, **104**: 11-103.

Chang S.K & Soo W.K., 2014. Vitamin D and chronic kidney disease. *Korean Journal of Internal Medicine*, **29**: 416-427.

Chazot C. & Jean G., 2014. - Complications et prises en charge thérapeutiques des anomalies du métabolisme phosphocalcique de l'insuffisance rénale chronique. *Journal of Nephrology*, **12**: 1-15.

Chesney R.W. 2016. Interactions of vitamin D and the proximal tubule. *Pediatric Nephrology*, **31**: 7-14.

Chitalia N., Recio-Mayoral A., Kaski J.C. & Banerjee D. 2012. Vitamin D deficiency and endothelial dysfunction in non-dialysis chronic kidney disease patients. *Journal Atherosclerosis*, **220**: 265-268.

Clase M.C., Holden R.M., Sood M.M., Rigatto C., Moist L.M., Thomson B.K.A., Mann J. F.E. & Zimmerman D.L., 2012. Should Patients With Advanced Chronic Kidney Disease and Atrial Fibrillation Receive Chronic Anticoagulation? *Nephrology Dialysis Transplantation journal*, **27**: 3719-3724.

Combaz F., 2011. De l'insuffisance rénale chronique à la dialyse rôle du pharmacien d'officine dans l'accompagnement du patient dialysé. Thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie. Université Joseph Fourier, Grenoble, France 159p.

Combe C. & Kourilsky O., 2014. Maladie rénale chronique, *Néphrologie et troubles hydroélectrolytiques*, Elsevier Masson, paris (France), pp 280-334.

Daugirdas J.T. 2015. Removal of Phosphorus by Hemodialysis. *Seminars in Dialysis*, **28**: 620-623.

De Nicola L., Di Lullo L., Paoletti E., Cupisti A. & Bianchi S. 2018. Chronic hyperkalemia in non-dialysis CKD: controversial issues in nephrology practice. *Journal of Nephrology*, **31**: 653-664.

Deyhimi F., Arabieh M. & Parvin L., 2006. Optimization of the EmersonTrinder enzymatic reaction by response surface methodology. *Biocatalysis Biotransformation*, **24**: 263-271.

Diane A., 2013. Erythropoïèse normale et pathologique, internalisation de c-Kit et morphologie du nucléole, thèse pour l'obtention du diplôme de docteur en hématologie et oncologie. Université Paris Descartes, Paris, France 194p.

Diop P.A., Haudrechy D., Alladaye C.S., Niang-sylla M. & Sall-lopez P. 1996. Surveillance de l'équilibre électrolytique chez les hémodialyses. *Medecine d'Afrique Noire*, **43**: 547-549.

Dubois S., McGovern M. & Ehrhardt V. 1988. Eisenstoffwechsel-Diagnostik mit Boehringer Mannheim/Hitachi-Analysen systemen: Ferritin, Transferrin und Eisen. *GIT Labor-Medizin*, **9**: 468-471.

Duchassaing D. 1997. L'assurance de la qualité de la phase pré-analytique : le prélèvement. **55**: 497-508.

Duployez N. 2020. Hématologie. 3e édition édition. Prépa-Pharma. Paris, De Boeck Supérieur. 272 p.

Dusso A.S., Brown A.J & Slatopolsky E. 2005. Vitamin D. *American Journal Physiology Renal Physiology*, **289**: 8-28.

Eckardt U.K., Boutellier U., Kurtz U., Schopen M., Koller A.E., Bauer C., 1989. Rate of erythropoietin formation in humans in response to acute hypobaric hypoxia. *Journal of Applied Physiology*, **66**: 1785-1788.

El khoury G., 2008. Tests immunologiques miniaturisés pour le développement de puces a peptides et a protéines. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'école centrale de Lyon spécialité chimie et chimie physique. Ecole Centrale de Lyon, France 236p.

Endres R.K. & Rude D.B. 2006.- Mineral and Bone Metabolism. In : Burtis CA, Ashwood ER, Bruns ED, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*, 4th ed. St. Louis (MO) : Saunders Elsevier : 1891–1965.

Fawcett et Scott., 1960. A rapid and precise method for the determination of urea. *Journal of Clinical Pathology*, **13**: 156-159.

Fitsum G.E. & Denis F. 2004. Altérations métaboliques au cours de l'insuffisance rénale chronique. *Nutrition Clinique et Metabolisme*, **18**: 3-6.

Floege J., Johnson R. & Feehally J. 2010. *Comprehensive Clinical Nephrology*, 4ème Edition. Elsevier saunders, Philadelphia (Etats Unis), 132 p.

Fossati P. & Principe L. 1982. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clinical Chemistry*, **28**: 2077-2080.

Fournier-Charriere E., 2007. Vaso-occlusive pain crises in children with sickle cell anemia. *Soins Pédiatrie/Puericulture*, **234**: 21-26.

Friedewald W.T., Levy R. I. & Fredrickson D.S., 1972.- Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*, **18**: 499-502.

Frossard C. 2012. L'EPO n'est pas qu'une hormone qui dope les sportifs. In: L'EPO n'est pas qu'une hormone qui dope les sportifs - Planete sante [en ligne]. [Consulté le 04 Août 2021]. /Magazine/Autour-de-la-maladie/Insuffisance-renale/L-EPO-n-est-pas-qu-une-hormone-qui-dope-les-sportifs

Gallant M.H.K & Spiegel M.D. 2017. Calcium Balance in Chronic Kidney Disease. *Current Osteoporosis Reports*, **15**: 214-221.

García-Canton C., Bosch E., Ramírez A., Gonzalez Y., Auyanet I., Guerra R., Perez A.M., Fernández E., Toledo A., Lago M. & Checa D.M., 2011. Vascular calcification and 25-hydroxyvitamin D levels in non-dialysis patients with chronic kidney disease stages 4 and 5. *Nephrology Dialysis Transplantation journal*, **26**: 2250-2256.

Gensure C.R., Thomas J., Gardella J.T. & Jüppner H. 2005. Parathyroid hormone and parathyroid hormone-related peptide, and their receptors. *Biochemical Biophysical Research Communications*, **328**: 666-678

Gérard D., 2017. Liquides d'épanchements : analyse par l'hématimètre XN (SYSMEX®), évaluation de la formule automatisée et mise en évidence des cellules pathologiques par cytométrie en flux. Thèse en vue de l'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie. Université de Lorraine, faculté de pharmacie, France. 102p.

Girard S., Pondarre C., André J.M., Pages M.P. & Bertrand Y. 2009. Diagnostic néonatal d'un syndrome de Jacobsen avec thrombopénie « Paris-Trousseau », *Journal of Hématology*, **15**: 240-242.

Girgis C.M., Clifton-Bligh R.J., Hamrick M.W., Holick F.M. & Guntonal E.J. 2013. The roles of vitamin D in skeletal muscle: form, function, and metabolism. *Endocrine Reviews*, **34**: 33-83.

- Go S.A., Chertow M.G., Fan D., McCulloch E.C. & Hsu C.Y., 2004.** Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *New England Journal Medicine*, **351**: 1296-1305.
- Goltzman D., Mannstadt M. & Marcocci C. 2018.** Physiology of the Calcium-Parathyroid Hormone-Vitamin D Axis. *Frontiers of Hormone Research*, **50**: 1-13
- Gougoux A. 2005.** Physiologie des reins et des liquides corporels. MultiMondes Editions, Québec (Canada), 336 p.
- Gueutin V., Deray G. & Isnard-Bagnis C. 2012.** Physiologie rénale. *Breast Cancer journal*, **99**: 237-249
- Hagström E., Ingelsson E., Sundström J., Hellman P., Larsson E.T., Berglund L., Melhus H., Held C., Michaëlsson K., Lind L. & Arnlöv J. 2010.** Plasma parathyroid hormone and risk of congestive heart failure in the community, *European Journal of Heart Failure*, **12**: 1186-1192.
- Haythem A.A.R. & Dhalal D.H. 2014.** Assessment of hematological and biochemical parameters in hemodialysis patients and the impact of hemodialysis duration on hepcidin, ferritin and CRP. *Iraqi Journal Hematology*, **3**: 85-97.
- Heaney P.R., Armas A.G.L. & French C. 2013.** All-Source Basal Vitamin D Inputs Are Greater Than Previously Thought and Cutaneous Inputs Are Smaller. *The Journal of Nutrition*, **143**: 571-575.
- Heaney R.P., Horst R.L. & Cullen D.M. & Armas A.G.L. 2009.** Vitamin D₃ distribution and status in the body. *Journal of the America College of Nutrition*, **28**: 252-256.
- Heidelberger M. & Kendall F.E., 1935.** A quantitative theory of the precipitin reaction. *Journal of Experimental Medicine* **62**: 697-720.
- Henry R., 1974.** Clinical Chemistry: Principles and Technics, 2nd ed. New York, NY: Harper & Row. 723 p.
- Hernández C.C., Burgos C.F., Gajardo A.H., Silva-Grecchi T., Gavilan J., Toledo J.R. & Fuentealba J. 2017.** Neuroprotective effects of erythropoietin on neurodegenerative and ischemic brain diseases: the role of erythropoietin receptor. *Neural Regeneration Research*, **12**: 1381-1389.

- Himmelfarb J & Ikizler A.T. 2010.** Hemodialysis, *N Engl J Med* **363**: 1833-1845
- Hohenstein A., Hebell M., Zikry H., Ghazaly E.M., Mueller F. & Rhode J. 2014.** Development and validation of a novel cell-based assay for potency determination of human parathyroid hormone (PTH). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **98**: 345-350.
- Holick F.M. 2007.** Vitamin D deficiency. *New England Journal Medicine*, **357**: 266-281.
- Houat N. 2015.** Incidence de l'insuffisance rénale chronique terminale à Maghnia. Thèse en vue de l'obtention du diplôme de docteur en médecine. Université abou bekr belkaid, Tlemcen, Algérie, 46p.
- Houillier P. 2008.** Physiologie des parathyroïdes. *EMC - Endocrinologie - Nutrition*, **5**: 1-13.
- Hsieh C.J., Shimizu Y., Minoshima S., Shimizu N., Haussler A.C., Jurutka W.P. & Haussler R.M. 1998.** Novel nuclear localization signal between the two DNA-binding zinc fingers in the human vitamin D receptor. *Journal of Cellular Biochemistry*, **70**: 94-109.
- Iyawe I.O. & Adejumo O.A. 2018.** Hematological profile of predialysis chronic kidney disease patients in a tertiary hospital in Southern Nigeria. *Journal of Tropical Medicine*, **20**: 36-41.
- Jacquelinet C. & Briançon S. 2005.** Le Réseau épidémiologie et information en néphrologie (Rein) : un registre national des traitements de suppléance de l'insuffisance rénale chronique. *Bulletin épidémiologique hebdomadaire*, **37**: 185-197.
- Jauzein F. 2018.** EPO et dopage. In : Planet-Vie [en ligne]. [Cité 05 Août 2020]. <https://planet-vie.ens.fr/thematiques/animaux/systeme-cardiovasculaire/epo-et-dopage>
- Jean G., Souberbielle J.C. & Chazot C. 2017.** Vitamin D in Chronic Kidney Disease and Dialysis Patients. *Nutriments*, **9**: 328
- Jelkmann W. 1997.** Erythropoietin: structure, control of production, and function. *Physiological Reviews*, **72**: 449-489.
- Jelkmann W. 2011.** Regulation of erythropoietin production. *The Journal of Physiology*, **589**: 1251-1258.
- Jewell U.R., Kvietikova I., Scheid A., Bauer C., Wenger R.H. & Gassmann M. 2001.** Induction of HIF-1 α in response to hypoxia is instantaneous. *The faseb Journal*, **15**: 1312-1314.

- Jones G., Prosser D.E. & Kaufmann M. 2014.** Cytochrome P450-mediated metabolism of vitamin D. *Journal of Lipid Research*, **55**: 13-31.
- Jüppner H., Abou-Samra A.B., Freeman M., Kong X.F., Schipani E., Richards J., Kolakowski L.F., Hock J., Potts JT. & Kronenberg H.M. 1991.** A G protein-linked receptor for parathyroid hormone and parathyroid hormone-related peptide. *Science*, **254**: 1024-1026.
- Jurutka W.P, Bartik L., Whitfield K.G, Mathern R.D, Barthel K.T, Gurevich M., Jui-Cheng H.J.C, Kaczmarska M., Haussler A.C., Haussler R.M. 2007.** Vitamin D receptor: key roles in bone mineral pathophysiology, molecular mechanism of action, and novel nutritional ligands. *Journal of Bone Mineral Research* **22**: 2-10.
- Kamal A. 2014.** Estimation of blood urea (BUN) and serum creatinine level in patients of renal disorder. *International Journal of fundamental and applied life science*, **4**: 199-202.
- Kaouther N. & Safia Z. 2016.** Le suivi biologique du métabolisme phosphocalcique chez les hémodialysés. Mémoire de Sciences Biologiques (Biochimie Moléculaire et Santé), Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire, Université des Frères Mentouri Constantine, Constantine, Algérie, 99 p.
- Ketteler M. & Biggar H.P. 2009.** Dietary and pharmacological control of calcium and phosphate metabolism in predialysis stages of chronic kidney disease. *Blood Purification*, **27**: 345-349.
- Koné A. 2014.** Evaluation de l'état bucco-dentaire chez les patients hémodialysés chroniques dans le service de Néphrologie et d'hémodialyse du CHU Point G. Thèse en vue d'obtenir le grade de Docteur Chirurgie Dentaire. Université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako, Bamako, Mali 117p.
- Korolnek T. & Hamza I. 2015.** Macrophages and iron trafficking at the birth and death of red cells. *Blood*, **125**: 2893-2897.
- Kovesdy C.P. 2016.** Epidemiology of hyperkalemia: an update. *Kidney International Supplements*, **6**: 3-6.
- Krassilnikova M., Ostrow K., Bader A., Heeger P. & Anita M.A. 2014.** Low Dietary Intake of Vitamin D and Vitamin D Deficiency in Hemodialysis Patients. *Journal of Nephrology & Therapeutics*, **4**: 1-14.

- Kundrapu S. & Noguez J. 2018.** Laboratory assessment of anemia, *advances in Clinical Chemistry*. Elsevier Masson, paris (France), pp 198-222.
- Kuro-O M. 2018.** Klotho and endocrine fibroblast growth factors: marker of chronic kidney disease progression and cardiovascular complications? *Nephrology Dialysis Transplantation journal*, **34**: 15-21
- Lacoura B. & Massy Z. 2013.** Diagnostic, suivi biologique de l'insuffisance rénale chronique et prise en charge de l'insuffisance rénale chronique terminale. *Revue Francophone des Laboratoires*, **43**: 59-73.
- Lafage-proust M.H. 2012.** Physiopathologie de l'atteinte osseuse au cours de l'insuffisance rénale chronique. *Réalités en rhumatologie*, **48**: 1-5.
- Landrier J.F. 2014.** Vitamine D : sources, métabolisme et mécanismes d'action. *Oilseeds and fats, Crops and Lipids*, **21**: 1-7.
- Landrier J.F., Marcotorchino J. & Tourniaire F. 2012.** Lipophilic micronutrients and adipose tissue biology. *Nutrients* **4**: 1622-1649.
- Latour C., Wlodarczyk M.F. & Jung G. 2017.** L'érythroferrone contribue à la répression de l'hepcidine dans un modèle murin d'anémie palustre. *Haematologica*, **102**: 60-68.
- Layton A.T., Vallon V. & Edwards A. 2016.** A computational model for simulating solute transport and oxygen consumption along the nephrons. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, **311**: 1378- 1390.
- Leaf E.D. & Goldfarb S.D. 2009.** Interpretation and review of health-related quality of life data in CKD patients receiving treatment for anemia. *Kidney International*, **75**: 15-24.
- Lee P., Greenfield J.R. & Campbell L.V. 2008.** Vitamin D insufficiency: a novel mechanism of statin-induced myalgia? *Clinical Endocrinology*, **71** : 154-155.
- Lefevre C. 2013.** Mécanismes de régulation de la balance prolifération/différenciation érythroïde par les facteurs de transcription GATA-1, FOG-1, E2F et la voie de signalisation Akt. Thèse de doctorat en biochimie, biologie cellulaire et moléculaire. Université Paris-Sud, France, 267p.
- Legris M.E. & Desforges K. 2017.** Ajustement posologique : pour un choix éclairé de la formule d'estimation de la fonction rénale. *Pharmaceutical Journal*, **50**: 33-44.

Levey A.S., Stevens L.A., Schmid C.H., Zhang Y.L., Castro A.F., Feldman H.I., Kusek J.W., Eggers P., Van Lente F., Greene T. & Coresh J. 2009. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Annals of Internal Medicine*, **150**: 604 - 612.

Lim L.M., Tsai N.C., Lin M.Y., Hwang D.Y., Lin Y.H.H., Lee J.J., Hwang S.J., Hung C.C. & Chen H.C. 2016. Hyponatremia is Associated with Fluid Imbalance and Adverse Renal Outcome in Chronic Kidney Disease Patients Treated with Diuretics. *Scientific Reports*, **6**: 1-10.

Linton M.F., Yancey P.G., Davies S.S., Jerome W.G., Linton E.F., Song W.L., Doran A.C. & Vickers K.C. 2019. *Endotext*. MDText.com, Inc ; South Dartmouth, MA, USA : The Role of Lipids and Lipoproteins in Atherosclerosis. Consulté le 28 septembre 2021.

Locatelli F., Pisoni L.R., Combe C., Bommer J., Andreucci E.V., Piera L., Greenwood R., Feldman I.H., Port K.F & Held J.P. 2004. Anaemia in haemodialysis patients of five European countries: association with morbidity and mortality in the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS). *Nephrol Nephrology Dialysis Transplantation journal*, **19**: 121-132.

Lombardero M., Kovacs K. & Scheithauer B.W. 2011. Erythropoietin: a hormone with multiple functions. *Pathobiology*, **78**: 41-53.

Lu K.C., Wu C.C., Yen J.F. & Liu W.C. 2014. Vascular Calcification and Renal Bone Disorders. *The Scientific World Journal*, **2014**: 1-20

Maiese K., Hou J., Chong Z.Z. & Shang Y.C. 2009. Erythropoietin, forkhead proteins, and oxidative injury: biomarkers and biology. *The Scientific World Journal*, **2**: 1072-1104.

Mannstadt M., Jüppner H. & Gardella J.T. 1999. Receptors for PTH and PTHrP: their biological importance and functional properties. *American Journal of Physiology*, **277**: 665-675.

Marieb E. & Hoehn K. 2010. Anatomie et physiologie humaines. 8^{eme} édition, Pearson, Paris (France), 134p.

Marioa N. 2012. Marqueurs biologiques pour le diagnostic des troubles du métabolisme du fer. *Revue francophone des laboratoires*, **442**: 39-48.

Marron E.M. & Mac L.R.J. 2001. Détection du calcium extracellulaire et signalisation du calcium extracellulaire, *Physiological Reviews*, **81**: 239-297

- Martin A., David V. & Quarles L.D. 2012.** Regulation and function of the FGF23/klotho endocrine pathways. *Physiological Reviews*, **92**: 131-155.
- Matsuzaki Y., Kawaguchi E. & Morita Y. 1996.** Evaluation of Two Kinds of Reagents for Direct Determination of HDL-Cholesterol. *International journal of analytical bio-science*, **9**: 419-442.
- Mayeur C., Lohmeyer L.K., Leyton P., Kao S.M., Pappas A.E., Kolodziej A.S., Spagnolli E., Yu B., Galdos R.L., Yu P.B., Peterson R.T., Bloch D.B., Bloch K.D. & Steinbicker A.U. 2014.** The type I BMP receptor Alk3 is required for the induction of hepatic hepcidin gene expression by interleukin-6. *Blood*, **123** : 2261-2268.
- McGowan M.W., Artiss J.D., Strandbergh D.R. & Zak B. 1983.** A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. *Clinical Chemistry*, **29**: 538-542.
- Means R.T. 2019.** Anemia of Renal Failure/Chronic Kidney Disease. In R.T. Means Jr., éd. *Anemia in the Young and Old: Diagnosis and Management*, 147-156
- Meimouna M. 2011.** Mise en place d'un réseau de santé en néphrologie dans la région de FesBoulemane, Thèse en vue d'obtenir du grade de Docteur en médecine. Université Sidi Mohamed Ben Abdelah. 96p
- Messa P. & Alfieri C.M. 2019.** Secondary and Tertiary Hyperparathyroidism. *Frontiers of Hormone Research*, **51**: 91-108.
- Messa P. & Sherman R.A. 2014.** Should dialysate calcium be individualized? *Seminars in Dialysis*, **27**: 4-7.
- Meyerhoff M.E. & Opdycke W.N. 1986.** Ion-Selective Electrodes, *Advances in Clinical Chemistry*. Elsevier, paris (France), pp 1-47.
- Mills K.T., Xu Y., Zhang W., Bundy J.D., Chen C.S., Kelly T.N., Jing C. & Jiang H. 2015.** A Systematic Analysis of Worldwide Population-Based Data on the Global Burden of Chronic Kidney Disease in 2010. *Kidney International*, **88**, 950-957.
- Milovanova L., Milovanov Y. & Plotnikova A. 2012.** - Phosphorus and Calcium Metabolism Disorders Associated with Chronic Kidney Disease Stage III-IV (Systematic Review and Meta-Analysis). In *Chronic Kidney Disease and Renal Transplantation*, Prof. Manisha Sahay (Ed.), InTech. pp 95-119.

- Miner J.H. 2012.** The Glomerular Basement Membrane. *Experimental Cell Research*, **318**: 973-978.
- Miyake T., Kung K.C. & Goldwasser E. 1997.** Purification of human erythropoietin. *Journal of Biological Chemistry*, **252**: 5558-5564.
- Moe S., Drüeke T., Cunningham J., Goodman W., Martin K. & Olgaard K. 2006.** Definition, evaluation, and classification of renal osteodystrophy: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney International*, **69** : 1945-1953.
- Moe S.M. & Chen N.X. 2008.** Mechanisms of vascular calcification in chronic kidney disease. *Journal of the American Society of Nephrology*, **19** : 213-216.
- Moe S.M. & Drüeke T.B. 2003.** Management of Secondary Hyperparathyroidism: The Importance and the Challenge of Controlling Parathyroid Hormone Levels without Elevating Calcium, Phosphorus, and Calcium-Phosphorus Product. *American Journal of Nephrology*, **23** : 369 - 379
- Mohebati A. & Shaha A.R. 2012.** Anatomy of thyroid and parathyroid glands and neurovascular relations. *Clinical Anatomy*, **25**: 19-31.
- Mondé A.A., Kouamé K. A., Lagou D. A., Camara C. M., Achy B. O., Tchimou L., Djessou P. & Sess E.D. 2013.** Variations du calcium, du phosphore et de la parathormone au cours de l'insuffisance rénale chronique (IRC) en Côte d'Ivoire. *Journal of Nuclear Medicine*, **37**: 451-454.
- Morishita E., Masuda S., Nagao M., Tasuda Y. & Sasaki R. 1997.** Erythropoietin receptor is expressed in rat hippocampal and cerebral cortical neurons, and erythropoietin prevents in vitro glutamate-induced neuronal death. *The Journal of Neuroscience*, **6**: 105-116.
- Murray M.T., Rao G.L., Divieti P. & Bringhurst F.R. 2005.** Parathyroid hormone secretion and action: evidence for discrete receptors for the carboxyl-terminal region and related biological actions of carboxyl-terminal ligands. *Endocrine Reviews*, **26**: 78-113.
- Muschio G. & Oldri Z. 2000.** Progression of renal disease. *Kidney International*, **75**: 291-376.
- Negrea L. 2018.** Active Vitamin D in Chronic Kidney Disease: Getting Right Back Where We Started from? *Kidney Diseases*, **5**: 59 - 68

Ng D.S.K. & Blass K.G. 1986. Jaffé Reaction Products. *Journal of Chemical Chemistry and Clinical Biochemistry*, **24**: 565-570

Nguyen H.Q.T. 2009. Insuffisance rénale chronique : épidémiologie de l'insuffisance rénale chronique chez l'enfant à l'Hôpital National Pédiatrique de Hanoi et analyse histologique de l'expression du récepteur B1 de la bradykinine sur des biopsies de transplants rénaux. Thèse en vue de l'obtention du grade de Docteur en Physiopathologie. Université de Toulouse III- Paul Sabatier, Toulouse, France, 128 p.

Nigwekar S.U., Tamez H. & Thadhani R.I. 2014. Vitamin D and chronic kidney disease-mineral bone disease (CKD-MBD). *Bonekey Reports*, **3**: 1-6.

Noreau A. 2002. L'EPOR comme indicateur d'une accélération induite de l'érythropoïèse. Mémoire de Biophysique et biologie cellulaires. Université du Québec à Trois-Rivières, Canada, 130 p.

Nykjaer A., Dragun D., Walther D., Vorum H., Jacobsen C., Herz J., Melsen F., Christensen E.I. & Willnow T.E. 1999. An endocytic pathway essential for renal uptake and activation of the steroid 25-(OH) vitamin D₃. *Cell*, **96**: 507–515.

Okonko D.O., Marley S.B., Anker S.D., Poole-Wilson P.A. & Gordon M.Y. 2013. La résistance à l'érythropoïétine contribue à l'anémie dans l'insuffisance cardiaque chronique et est liée à la transduction aberrante du signal JAK-STAT. *International Journal of Cardiology*, **164** : 359-364.

Ormerod M.G., Sun X.M., Snowden R.T., Davies R., Fearnhead H. & Cohen G.M. 1993. Increased membrane permeability of apoptotic thymocytes: A flow cytometric study. *Cytometry*, **14** : 595-602.

Panichi V., Migliori M., De Pietro S., Taccola D., Bianchi A.M., Norpoth M., Metelli M.R., Giovannini L., Tetta C. & Palla R. 2001. C-reactive protein in patients with chronic renal diseases. *Renal Failure*, **23** : 551-562.

Pilz S., Tomaschitz A., März W., Drechsler C., Ritz E., Zittermann A., Cavalier E., Thomas R.P.R.T., Lappe M.J., Grant B.W., Holick F.M. & Dekker M.J. 2011. Vitamin D, cardiovascular disease and mortality. *Clinical Endocrinology*, **75**: 575-584.

Pollak R.M., Quaggin E.S., Hoenig P.M & Dworkin L.D. 2014. The Glomerulus: The Sphere of Influence. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, **9**: 1461-1469.

- Ponce L.L., Navarro J.C., Ahmed O. & Robertson C.S. 2013.** Erythropoietin neuroprotection with traumatic brain injury. *Pathophysiology*, **20**: 31-38.
- Porter D.L. & Goldberg M.A., 1994.** Regulation of erythropoietin production. *Experimental Hematology*, **21**: 399-404.
- Portillo M.R. & Rodríguez-Ortiz M.E. 2017.** Secondary Hyperparathyroidism: Pathogenesis, Diagnosis, Preventive and Therapeutic Strategies. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorder*, **18**: 79-95.
- Raggi P. & Kleerekoper M. 2008.** Contribution of bone and mineral abnormalities to cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, **3**: 836-843.
- Rao M. & Pereira B. 2005.** Optimal anemia management reduces cardiovascular morbidity, mortality, and costs in chronic kidney disease. *Kidney International*, **68**: 1432-1438.
- Rasmussen H. & Craig L. 1959.** Purification de la parathormone par l'utilisation de la distribution à contre-courant. *Journal of the American Chemical Society*, **81**: 1
- Reboul E., Goncalves A., Comera C., Bott R., Nowicki M., Landrier J.F., Jourdeuil-Rahmani D., Dufour C., Collet X. & Borel P. 2011.** Vitamin D intestinal 24 absorptions is not a simple passive diffusion: Evidences for involvement of cholesterol 25 transporters. *Molecular Nutrition and Food Research*, **55**: 691-702.
- Ribeiro M., López F.P., Blanco F.J., Mendes A.F. & Caramés B. 2016.** Insulin decreases autophagy and leads to cartilage degradation. *Osteoarthritis and Cartilage*, **24**: 731-739.
- Riccardi D. & Valenti G. 2016.** Localization and function of the renal calcium-sensing receptor. *Nature Reviews Nephrology*, **12**: 414-425.
- Rietman S. & Frankel S. 1957.** A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *American Journal of Clinical Pathology*, **28**: 56-63.
- Rottembourg J. 2011.** Troubles du métabolisme phosphocalcique au cours de l'insuffisance rénale chronique : diagnostic et traitement. *The Journal of clinical Pharmacology*, **30**: 235-242

- Rysz J., Gluba-Brzózka A., Rysz-Górzyńska M. & Franczyk B. 2020.** The Role and Function of HDL in Patients with Chronic Kidney Disease and the Risk of Cardiovascular Disease. *International Journal Molecular Sciences*, **21**: 1-19.
- Ryuan H. & Stuart M.S. 2020.** Secondary Hyperparathyroidism in a Patient with CKD. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, **15**: 1041-1043.
- Sakanaka M., Wen C.T., Matsuda S., Morishita E., Nagao M. & Sasaki R. 1998.** In vivo evidence that erythropoietin protects neurons from ischemic damage. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **95**: 4635-4640.
- Schuster I. 2011.** Cytochromes P450 are essential players in the vitamin D signaling system. *Biochimica Biophysica Acta*, **1814**: 186-199.
- Schwartz D., 1969.** Méthodes statistiques à l'usage des médecins et biologistes. Flammarion Médecins Sciences. Paris (France), 311p.
- Senju O., Takagi Y., Uzawa R., Iwasaki Y., Suzuki T., Gomi K. & Ishii T. 1986.** A new immuno quantitative method by latex agglutination—application for the determination of serum C-reactive protein (CRP) and its clinical significance. *Journal of Clinical and Laboratory Immunology*, **19**: 99-103.
- Shastry I. & Belurkar S. 2019.** The spectrum of red blood cell parameters in chronic kidney disease: A study of 300 Cases. *Journal of Applied Hematology*, **10**: 61 - 66.
- Shi X. & Luo C.H. 2017.** Surgical Anatomy of the Retroperitoneal Space, *Retroperitoneal Tumors*. Springer, Dordrecht (Pays-Bas), pp 1-16.
- Shroff R., Speer T., Colin S., Charakida M., Zewinger S., Staels B., Chinetti-Gbaguidi G., Hettrich I., Rohrer L. & O'Neill F. 2014.** HDL in children with CKD promotes endothelial dysfunction and an abnormal vascular phenotype. *Journal of the American Society of Nephrology*, **25**: 2658-2668
- Sirén A.L., Fratelli M., Brines M., Goemans C., Casagrande S., Lewczuk P., Keenan S., Gleiter C., Pasquali C., Capobianco A., Mennini T., Heumann R., Cerami A., Ehrenreich H & Ghezzi P. 2001.** Erythropoietin prevents neuronal apoptosis after cerebral ischemia and metabolic stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **98**: 4044-4049.
- Soliz J. 2013.** Erythropoïétine et contrôle respiratoire à l'âge adulte et au début de la vie postnatale. *Respiratoire Physiology & Neurobiology*, **185**: 87-93.

Souberbielle J.C., Lawson-Body E. & Cormier C., 2014. Updating about PTH: our immunoassays are not specific of the sole intact PTH. *Immunology & Cell Biology*, **17**: 48-53.

Speeckaert M., Huang G., Delanghe J.R. & Youri E.C.T. 2006. Biological and clinical aspects of the vitamin D binding protein (Gc-globulin) and its polymorphism. *Clinica Chimica Acta*, **372**: 33-42.

Stanifer J.W., Maro V., Egger J., Karia F., Thielman N., Turner E.L., Shimbi D., Kilaweh H., Matemu O. & Patel U.D. 2015. The Epidemiology of Chronic Kidney Disease in Northern Tanzania: A Population-Based Survey. *Plos one*, **10**: 1-7.

Stanifer M.D., Bocheng J.B.S., Scott T.M.D., Nicole H.B.S., Romita M.M.D., Saraladevi N. & Uptal P.M.D. 2014. The epidemiology of chronic kidney disease in sub-Saharan Africa: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Global Health*, **2**: 174-181.

Stookey L.L. 1970. Ferrozine-A New Spectrophotometric Reagent for Iron. *Analytical chemistry*, **42**: 779-781.

Sugahara M., Tanaka T. & Nangaku M., 2017. Prolyl hydroxylase domain inhibitors as a novel therapeutic approach against anemia in chronic kidney disease. *Kidney International*, **92**: 306-312

Sugiuchi H., Uji Y., Okabe H. & Irie T. 1995. Direct Measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol in Serum with Polyethylene Glycol-Modified Enzymes and Sulfated α -Cyclodextrin. *Clinical Chemistry*, **41**: 717-723.

Suresh M, Reddy M.N, Singh S.B, Bandi H.K, keerti S.G, Chandrashekar M., 2012. Hematological changes in chronic renal failure. *International Journal of Scientific and Research Publications*, **2**: 1- 4.

Suzuki T. & Abe T. 2018. Crossroads of metabolism and CKD. *Kidney International*, **94**: 242-243.

Thomas M.J., Fraser D.J. & Bowen T. 2018. Biogenesis, Stabilization, and Transport of microRNAs in Kidney Health and Disease. *Non-coding RNA*, **4**: 1-13.

Tissandié E., Guéguen Y., Lobaccaro A.J.M., Aigueperse J & Souidi M. 2006. Vitamine D : Métabolisme, régulation et maladies associées. *Medical Sciences*, **22**: 1095-1100.

- Toledo J.R., Sánchez O., Seguí R.M., García G., Montanez M., Zamora P.A., Rodríguez M.P. & Cremata J.A. 2006.** High expression level of recombinant human erythropoietin in the milk of non-transgenic goats. *Journal Biotechnology*, **123**: 225-235.
- Tomas G. 2019.** Anemia of Inflammation. *New England Journal of Medicine*, **12**: 1148-1157.
- Udoka C.O., Chijioko N.N., Nwabueze S.U., Jervas E., Chimobi O. & Williams O. 2017.** Lipid profile abnormalities among Nigerian male renal failure patients on dialysis. *Journal of Diabetes, Metabolic Disorders & Control*, **4**: 133-135.
- Ueda N. & Takasawa K. 2017.** Role of hepcidin-25 in chronic kidney disease: Anemia and beyond. *Current Medicinal Chemistry*, **24**: 1417-1452.
- Ugwuja E.I., Ogonnaya L.U., Obuna A.J., Awelegbe F. & Uro-Chukwu H. 2015.** Anaemia in relation to body mass index (BMI) and socio-demographic characteristics in adult Nigerians in Ebonyi State. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, **9**: 4-7.
- Uwitonze A.M., Murererehe J., Ineza M.C., Harelimana E.I., Nsabimana U., Uwambaye P., Gatarayiha A., Haqd A. et Razzaque M.S. 2017.** Effects of vitamin D status on oral health, *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, **175**: 190-194.
- Valdigué P. 2000.** Biochimie clinique, 2^{ème} édition. Tec & Doc (Editions), paris (France), 340 p.
- Vogler M., Zieseniss A., Hesse A.R., Levent E., Tiburcy M., Heinze E., Burzlaff N., Gunnar S.G., Eckardt K.U, Willam C. & Katschinski M.D. 2015.** Pre- and post-conditional inhibition of prolyl-4-hydroxylase domain enzymes protects the heart from an ischemic insult. *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*, **467**: 2141-2149.
- Wang N., Jiang L., Zhu B., Wen Y. & Xi X-M. 2016.** Fluid balance and mortality in critically ill patients with acute kidney injury: a multicenter prospective epidemiological study. *Journal of Critical Care* **19**: 1-11.
- Wanger A. 2000.** Le rôle du laboratoire dans l'exploration du métabolisme du fer. *Médecine Nucléaire*, **6**: 23-27.
- Weiner E.D., Tighiouart H., Vlagopoulos T.P, Griffith L.J., Salem N.D., Andrew S. L. & Mark J.S. 2005.** Effects of Anemia and Left Ventricular Hypertrophy on Cardiovascular Disease in Patients with Chronic Kidney Disease. *Journal of the American Society of Nephrology*, **16**: 1803-1810.

Yao H.K., Konan S.D., Sanogo S., Diopoh S.P. & Diallo A.D. 2018. Prevalence and risk factors of chronic kidney disease in Cote d'Ivoire: An analytic study conducted in the department of internal medicine. *Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation*, **29**: 153-159.

Yapo A.E., Assayi M., Aka N.B., Bonetto R., Comoe L., Lonsdorfer A., Monnet D. & Diaine C. 1990. Les valeurs de référence de 21 constituants biochimiques sanguins de l'ivoirien adulte présumé sain. *Publications Médicales Africaines*, **110**: 49-57.

Yaw A.A., Dennis O.L., George B.A., Henry A. & Yaw A.A. 2014. Clinical and demographic characteristics of chronic kidney disease patients in a tertiary facility in Ghana. *The Pan African medical Journal*, **18**: 1-10

Yayo S.E., Aye M., Konan J.L., Emième A., Attoungbre M.L., Gnionsahé A., Etienne Cavalier E., Monnet D. & Delanaye P. 2016. Inadéquation du facteur ethnique afro-américain pour estimer le taux de filtration glomérulaire dans une population générale africaine : résultats de Côte d'Ivoire. *Néphrology & thérapeutique*, **12**: 454-459.

Youssofian H., Longmore G., Neumann D., Yoshimura A. & Lodish H.F. 1993. Structure, function, and activation of the erythropoietin receptor. *Blood*, **81**: 2223-2236.

Zabel B.U., Kronenberg H.M., Bell G.I. & Shows T.B. 1985. Chromosome mapping of genes on the short arm of human chromosome 11: parathyroid hormone gene is at 11p15 together with the genes for insulin, c-Harvey-ras 1, and beta hemoglobin. *Cytogenetic and Genome Research*, **39**: 200-205.

Zadrazil J. & Horak P. 2015. Pathophysiology of anemia in chronic kidney diseases: A review. *Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacky Olomouc Czech Republic*, **159**: 197-202.

Zandecki M., Genevieve F., Gerard J. & Godon A. 2007. Spurious counts and spurious results on haematology analysers: a review. Part II: white blood cells, red blood cells, haemoglobin, red cell indices and reticulocytes, *International Journal of Laboratory Hematology*, **29**: 21-41.

Zhang Q., Qiu J., Li H., Lu Y., Wang X., Yang J., Wang S., Zhang L., Gu Y., Hao C.M. & Chen J. 2011. Cyclooxygenase 2 promotes parathyroid hyperplasia in ESRD. *Journal of the American Society of Nephrology*; **22**: 664-672.

Zhang R., Wang S., Zhang M. & Cui L. 2017. Hyponatremia in patients with chronic kidney disease. *Hemodialysis International*, **21**: 3-10

Zhou C., Assem M., Tay J.C., Watkins B.P., Blumberg B., Schuetz G.E. & Thummel E.K. 2006. Steroid and xenobiotic receptor and vitamin D receptor crosstalk mediates CYP24 expression and drug-induced osteomalacia. *Journal of Clinical Investigation*, **116** : 1703-1712.



ANNEXES

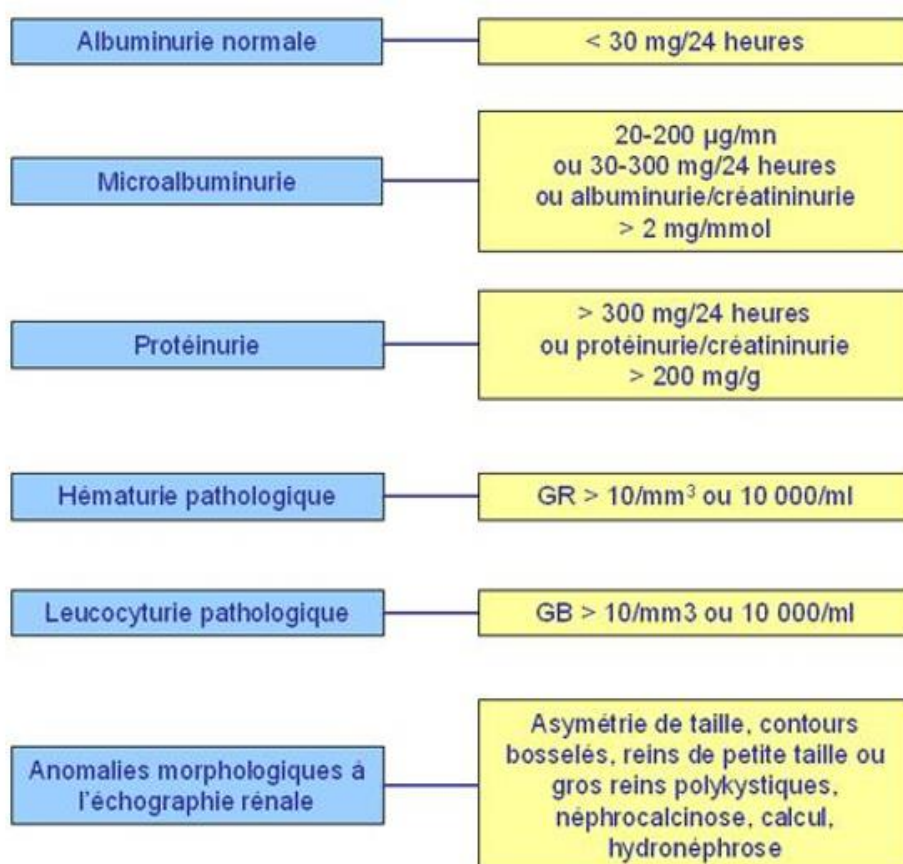
ANNEXE 1

Classification KDIGO de la maladie rénale chronique (**Chadban et al., 2020**)

Stades	Descriptions	DFG (mL/min/1,73m ²)
1	Maladie rénale chronique* avec fonction rénale normale	≥ 90
2	Maladie rénale chronique* avec insuffisance rénale légère	60-89
3 A	Insuffisance rénale légère à modérée	45-59
3 B	Insuffisance rénale modérée à sévère	30-44
4	Insuffisance rénale sévère	15-29
5	Insuffisance rénale terminale	<15

* avec marqueurs d'atteinte rénale : albuminurie, hématurie, leucocyturie, ou anomalies morphologiques ou histologiques, ou marqueurs de dysfonction tubulaire, persistant plus de 3 mois (deux ou trois examens consécutifs). KDIGO : Kidney Disease Improving Global Outcomes. DFG : Débit de Filtration Glomérulaire

ANNEXE 2



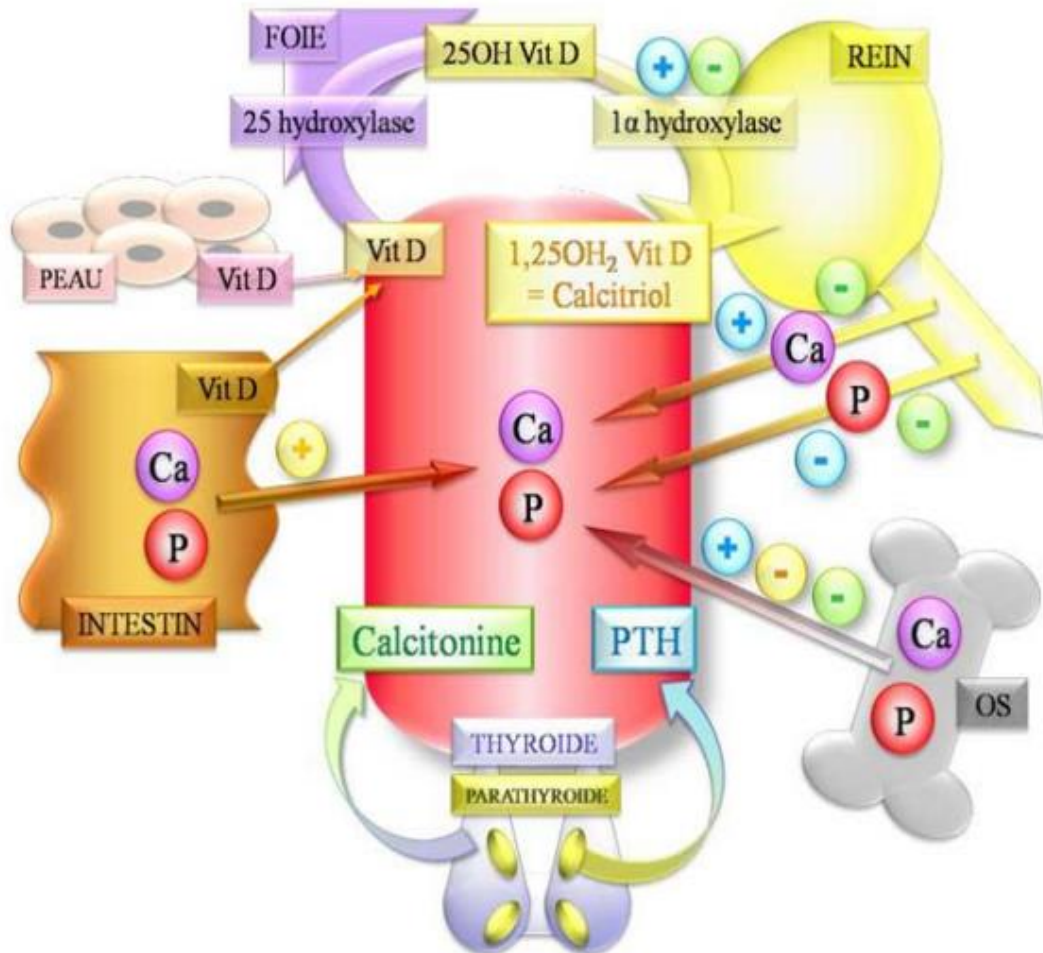
Définition des marqueurs d'atteinte rénale (**ANAES., 2002**)

ANNEXE 3

Quantités de solutés et d'eau à différents niveaux du néphron (**Combaz., 2011**)

SUBSTANCES CHIMIQUES	PLASMA	FILTRAT (juste après la capsule de Bowman)	SUBSTANCES REABSORBEES DU FILTRAT	URINE
Eau	900 litres	180 litres	~ 178,5 litres	~ 1,5 litres
Protéines	7000 à 9000	10 à 20	10 à 20	0
Glucose	180	180	180	0
Chlore (Cl⁻)	630	630	625	5
Sodium Na⁺	540	540	537	3
Bicarbonates	300	300	299,7	0,3
Potassium (K⁺)	28	28	24	4
Urée	53	53	28	25
Créatinine	1,5	1,5	0	1,5

ANNEXE 4



Régulation du métabolisme phosphocalcique (Chabane et Benzenati., 2017)

PTH : Parathormone ; P : Phosphore ; Ca : Calcium ; 25 OH Vit D : 25 hydroxyvitamine D

ANNEXE 5



Séance d'hémodialyse (Photographie Kouadio M.R., 2020, CNPTIR-Cocody)

ANNEXE 6

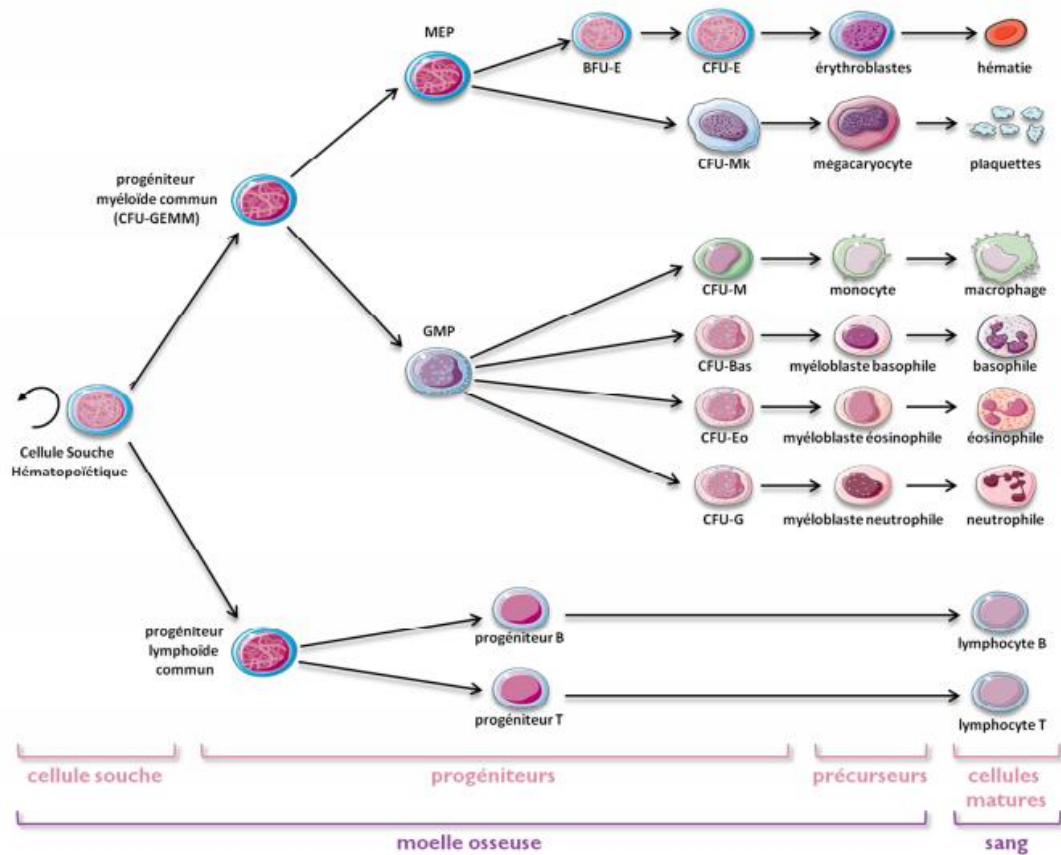


Schéma de l'hématopoïèse (Diane., 2013)

La cellule souche hématopoïétique (CSH) donne naissance à un progéniteur myéloïde ou lymphoïde. Le progéniteur lymphoïde devient progéniteur B ou progéniteur T, puis lymphocyte B ou lymphocyte T. Le progéniteur myéloïde se différencie en progéniteur MEP (Megakaryocyte/Erythroid Progenitor) ou en GMP (Granulocyte/Monocyte Progenitor), puis en progéniteur engagé vers une lignée spécifique. On retrouve les BFU-E (Burst Forming Unit-Erythroid) puis les CFU-E (Colony Forming Unit-Erythroid), CFU-Mk (Colony Forming Unit-Megakaryocyte), CFU-M (Colony Forming Unit-Macrophage), CFU-Baso (Colony Forming Unit-Basophil), CFU-Eo (Colony Forming Unit-Eosinophil), CFU-G (Colony Forming Unit-Granulocyte). Tous ces progéniteurs vont devenir précurseurs puis cellules matures. Les cellules matures quittent la moelle osseuse et passent dans la circulation sanguine

ANNEXE 7

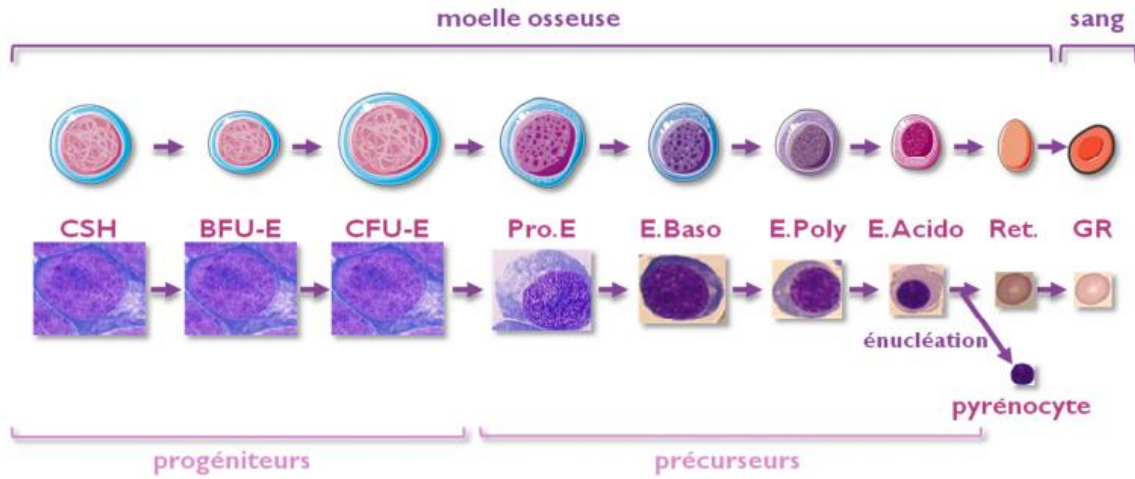


Schéma de l'érythropoïèse (Diane., 2013)

La production des globules rouges matures se fait à partir d'une cellule souche hématopoïétique (CSH). Après les stades BFU-E (Burst Forming Unit-Erythroid) et CFU-E (Colony Forming Unit-Erythroid), les cellules deviennent précurseurs et se différencient en proérythroblastes (ProE), Erythroblastes Basophiles (E. Baso), Erythroblastes Polychromatophiles (E. Poly), Erythroblastes Acidophiles (E.Acido), puis en Réticulocytes (Ret) et finalement en globules rouges (GR).

ANNEXE 8

NOTICE D'INFORMATION

Titre de l'étude : Importance de l'évaluation de la PTH, la vitamine D et l'érythropoïétine dans la prise en charge de l'insuffisance rénale chronique et des patients hémodialisés.

Investigateur : KOUADIO Maxime Roméo

BREVE PRESENTATION DE L'INSUFFISANCE RENALE

L'insuffisance rénale chronique est un problème de santé publique crucial par son taux de prévalence dans le monde (5 à 10 %) qui ne cesse de croître et par ses complications cliniques dévastatrices. En Afrique, la prévalence de cette pathologie varie d'un pays à un autre. En Côte d'Ivoire, elle est de 2,1%.

L'insuffisance rénale chronique est une maladie grave qui entraîne peu à peu la destruction des reins. Le rein permet d'éliminer les déchets toxiques produits par le fonctionnement normal de l'organisme et transportés par le sang. Ces substances sont inutiles à l'organisme et sont toxiques si elles ne sont pas éliminées. Les produits du métabolisme et l'eau en excès passent de moins en moins dans l'urine et s'accumulent dans l'organisme. La maladie progresse ainsi jusqu'à la destruction de la fonction de purification rénale.

Le recours à la dialyse (hémodialyse ou dialyse péritonéale) est nécessaire à ce stade car les souffrances et complications subis par les patients favorisent une augmentation de la mortalité. Le remplacement du rein défectueux par un rein sain, prélevé sur un donneur représente la solution thérapeutique idéale, mais reste toujours la grande difficulté dans les pays en voie de développement et à faible revenu.

Au cours de l'insuffisance rénale chronique, il apparaît des troubles du métabolisme minéral notamment phosphocalcique et osseux. Ces troubles sont dus à la perturbation des éléments régulateurs principalement la PTH et la vitamine D qui affectent l'équilibre du bilan phosphocalcique et qui sont à l'origine d'une hyperparathyroïdie secondaire.

Dans les pays à faible développement économique comme la Côte d'Ivoire, la prise en charge de l'insuffisance rénale chronique est particulièrement coûteuse et peu de travaux ont été réalisés sur cette pathologie. Cependant pratiquement aucune étude n'a été réalisée sur l'aspect biologique de l'insuffisance rénale.

L'évaluation de la PTH, de la vitamine D et de l'érythropoïétine va permettre de mieux comprendre les troubles métaboliques pour une meilleure prise en charge biologique des insuffisants rénaux et une amélioration de la qualité de vie des hémodialysés.

Madame, Monsieur

Nous vous proposons de participer à une recherche biomédicale ou recherche scientifique. Avant de vous décider, il est important que vous compreniez pourquoi cette étude est réalisée, ce que l'étude implique, les bénéfices, les risques et les inconvénients possibles. Prenez votre temps pour lire attentivement cette note d'information destinée à répondre aux questions que vous pourriez vous poser au sujet de cette étude, et si vous le souhaitez, parlez-en avec vos proches, vos amis ou votre médecin de référence.

La réalisation de cette étude permet d'avoir un meilleur suivi concernant votre état biologique et de mieux comprendre les troubles métaboliques au cours de l'insuffisance rénale en Côte d'Ivoire.

Explication de l'objectif de l'étude

L'objectif de l'étude est de contribuer à une meilleure prise en charge biologique des insuffisants rénaux et une amélioration de la qualité de vie des hémodialysés.

Comment allons-nous procéder ?

- Remplir un questionnaire
- Faire un prélèvement
- Communiquer les résultats à votre médecin, bien entendu avec votre consentement.

Quels sont les avantages de cette étude ?

- Meilleur suivi par le médecin de l'insuffisance rénale
- Gratuité des examens

Quels sont les risques de cette étude ?

La douleur au site de ponction veineuse. Pour minimiser les risques, les prélèvements seront effectués par des professionnels de santé avec du matériel stérile.

Qu'est ce qui sera fait pour assurer le consentement éclairé des sujets ?

Après avoir lu la notice d'information et après un temps de réflexion, une réponse de votre

consentement éclairé pour votre participation ou non à l'étude nous sera donnée. Pour les mineurs, il faudra le consentement éclairé des représentants légaux et le consentement d'assentiment de la personne mineure. Le formulaire de consentement éclairé devra être daté et signé par l'étudiant en thèse, par le participant ou le parent ou son tuteur légal s'il s'agit d'un mineur. Le formulaire d'assentiment de la personne mineure devra être daté et signé par l'étudiant en thèse et le mineur. Vous pouvez vous retirer à tout moment de l'étude sans aucun problème.

Comment la confidentialité et l'anonymat seront-ils respectés

Les données sont confidentielles et peuvent servir à des études ultérieures. Vous êtes libres d'accepter ou de refuser de participer à l'étude. Ceux qui acceptent rempliront une fiche de consentement éclairée.

NB: Cette étude est totalement indépendante des examens demandés par le médecin traitant. Les résultats des analyses biologiques de cette étude seront transmis au patient concerné et à son médecin traitant. Les résultats seront complètement anonymes pour les analyses statistiques et traités avec une confidentialité absolue.

Personnes à contactés au cas où besoins se fera ressentir :

Les responsables du traitement de ces données (Pr DJAMAN A. Joseph, Dr BOYVIN Lydie, KOUADIO Maxime Roméo) peuvent être contactés à l'adresse suivante : (Département de Biochimie Clinique et Fondamentale de l'Institut Pasteur de Cocody).

ANNEXE 9

FORMULAIRE DE CONSENTEMENT ECLAIRE

Je soussigné(e)

.....

Certifie avoir été informé(e) sur les objectifs et le déroulement de l'étude par l'investigateur dont le nom figure au bas de cette page, et

- ✓ Affirme avoir lu attentivement et compris les informations fournies à propos
- ✓ Affirme qu'on m'a lu, traduit en des termes que j'ai compris
- ✓ Certifie avoir été informé des avantages et des risques qui sont associés à cette étude et des contraintes qu'implique ma participation
- ✓ Atteste qu'un temps de réflexion suffisante m'a été accordé.
- ✓ Certifie avoir été informé que je pouvais interrompre à tout instant ma participation à cette étude sans préjudice d'aucune sorte,
- ✓ Consens à ce que les données recueillies pendant cette étude puissent servir à des études ultérieures au bénéfice de la santé publique à condition que ces études aient l'accord préalable du comité d'éthique
- ✓ M'engage à informer le médecin responsable de tous les phénomènes inattendus pouvant survenir durant cette étude.
- ✓ Serez-vous d'accord pour que l'on conserve vos échantillons pour des études ultérieures?

Oui Non

J'accepte donc de participer à l'étude sur l'amélioration de la prise en charge de l'insuffisance rénale.

Fait à _____ le _____

Nom et Prénoms du participant :

Nom et Prénoms de l'investigateur :

Date et signature :

Contacts :

Nom et prénom du médecin Investigateur :

Pour les sujets ne sachant pas lire

Nom et Prénoms du témoin :

Date et signature

Contacts :

ANNEXE 10

**FICHE D'ENQUETE DES PATIENTS INSUFFISANTS
RENAUX ET HEMODIALYSES**

N° de Fiche :.....

Code patient :.....

Site de recrutement :.....

Date : / /

I. IDENTITE :

Date de naissance : Sexe : M / F

Fonction :..... Situation matrimoniale :.....

II. HISTOIRE DE LA MALADIE

Date de diagnostic : / /

Lieu du Diagnostic :

Quel est le stade de la maladie rénale chronique actuellement ?

Avez-vous été transplanté ? Oui Non

Etes-vous hémodialysé ? Oui Non

Depuis combien de temps êtes-vous en dialyse?

Quelle est la fréquence de l'hémodialyse par semaine?

Quelle est la cause (l'étiologie) de la maladie rénale chronique ?

Néphropathie diabétique Néphropathie associée à l'Hépatite B

Néphropathie hypertensive Néphropathie associée à l'Hépatite C

Néphropathie associée au VIH

Néphropathie obstructive (cancer du col utérin ou hypertrophie prostatique)

Néphropathie héréditaire (drépanocytose, polykystose rénale autosomique dominante)

Cause Indéterminée

Autres causes

Examens prescrits régulièrement ? Oui Non

Si oui, Types d'examens?

Quelle est la fréquence des examens ? 1 mois 3 mois autres

Avez-vous une complication liée à la maladie rénale chronique ? : Oui Non

Si Oui laquelle ?

Insuffisance rénale chronique terminale

Accident vasculaire cérébral Infarctus du myocarde

Ostéodystrophie rénale Anémie sévère Autres

III. Facteur de risque non biologique

Etes-vous stressé (e) ? Oui Non

Suivez-vous un régime alimentaire ? Oui Non

Si oui, le suivez-vous correctement ?

Si non, quel en est le motif ?

Quel est le coût de la dialyse par séance ?

Quel est le coût des médicaments par mois ?

Avez-vous un bon soutien psychologique familial ? Oui Non

Si non, quel en est le motif ?

IV. Facteur de risque biologique

Suivez-vous un traitement à l'EPO ? Oui Non

Est-il régulier ? Oui Non

Suivez-vous bien votre traitement médicamenteux ? Oui Non

Prenez-vous d'autres médicaments en dehors de l'EPO ? Oui Non

Si oui la fréquence ?

Quelles sont les noms des médicaments ?

ANNEXE 11



Automate Sysmex XN-1000 (photographie Kouadio M.R., 2020 IPCI-Cocody)

ANNEXE 12



Kit human EPO de Sigma-Aldrich (photographie Kouadio M.R, 2020 IPCI-Cocody)

ANNEXE 13



Chaîne ELISA (photographie Kouadio M.R., 2020 IPCI-Cocody)

ANNEXE 14



Automate Cobas C 311 (photographie Kouadio M.R., 2020 IPCI-Cocody)

ANNEXE 15



Automate Vidas (photographie Kouadio M.R., 2020 IPCI-Cocody)

ANNEXE 16



Analyseur d'électrolyte 9180 (photographie Kouadio M.R., 2020 IPCI-Cocody)



MINISTÈRE DE LA SANTÉ
ET DE L'HYGIÈNE PUBLIQUE

COMITÉ NATIONAL D'ÉTHIQUE
DES SCIENCES DE LA VIE ET DE
LA SANTÉ (CNESVS)

US DPT OF HHS REGISTRATION #2 : IRB000111917

Le Président

N/Réf : 023-20/MSHP/CNESVS-km

regu le 27/02/20
14h 46
Par Mme Gnon

REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE
UNION-DISCIPLINE-TRAVAIL



Abidjan, le 27 FEV. 2020

A

Monsieur KOUADIO Maxime Roméo
Investigateur Principal Projet / Doctorant
UFR BIOSCIENCES - UFHB
ABIDJAN

OBJET : Autorisation de mise en œuvre du protocole de recherche intitulé :

« Importance de l'évaluation de la PTH, la calcitonine, la vitamine D et l'érythropoïétine dans la prise en charge de l'insuffisance rénale chronique et des patients hémodialysés ».

Monsieur,

Le Comité National d'Éthique des Sciences de la Vie et de la Santé (CNESVS) a examiné votre demande d'autorisation de mise en œuvre du projet cité en objet.

Sous cette perspective, il a été émis **un avis favorable** à l'utilisation de ce protocole.

Par conséquent, je vous autorise à mettre en œuvre votre étude telle que soumise au Comité National d'Éthique.

Toutefois, il faut noter que la validité de cette autorisation est **d'un an (1) à compter de la date de signature**. Par ailleurs, je vous saurai gré de bien vouloir transmettre au CNESVS une copie du rapport de cette étude dès la fin de sa mise en œuvre.

Je vous prie d'agréer, **Monsieur**, l'expression de mes salutations distinguées.



Dr Louis PENALI



PUBLICATIONS



Erythropoietin and the Role of Inflammation in Anaemia in Patients with Chronic Renal Living in Cote D'ivoire

**Maxime Roméo Kouadio^{1,2*}, Lydie Boyvin¹, Gnogbo Alexis Bahi¹,
Valère Ultrich Tchokothe Tchako², Gervais Melaine M'Boh¹,
Appolinaire Gnionsahé³ and Allico Joseph Djaman^{1,2}**

¹Department of Clinical and Fondamental Biochemistry, Institute Pasteur of Côte d'Ivoire, (IPCI),
01 BP 490, Abidjan 01, Côte d'Ivoire.

²Health Biology Laboratory, University Félix Houphouët-Boigny (UFHB), 01 BP V34, Abidjan 01,
Côte d'Ivoire.

³Department of Nephrology, UFR Medical Sciences, University Félix Houphouët-Boigny, 01 BP V 34,
Abidjan 01, Côte d'Ivoire.

Authors' contributions

This work was carried out in collaboration among all authors. All authors read and approved the final manuscript.

Article Information

DOI: 10.9734/IJBCRR/2021/v30i530265

Editor(s):

(1) Dr. K. V. Ramanath, Dayanand Sagar College of Pharmacy, Dayanand Sagar University(DSU), India.

Reviewers:

(1) Laxmikant Chavan, AIMST University, Malaysia.

(2) Usha Rani R, JSS College of Nursing, India.

Complete Peer review History: <https://www.sdiarticle4.com/review-history/72784>

Original Research Article

Received 15 June 2021
Accepted 21 August 2021
Published 07 September 2021

ABSTRACT

Introduction: Anemia is one of the most common complications of kidney failure. The kidney is responsible for the production of erythropoietin, a key hormone in erythropoiesis. Insufficient production of erythropoietin due to impaired kidney functions and also inflammation could explain this anemia. This study aimed at contributing to a better understanding of the mechanisms of erythropoietin in anemia observed in kidney failure.

Methods: The study population consisted of 138 people: 92 with chronic renal failure (46 not on dialysis, 46 on hemodialysis) and 46 voluntaries as control without kidney failure. Serum concentrations of urea, creatinine, C-reactive protein (CRP), serum iron, ferritin and transferrin were determined using the Cobas C311 Hitachi machine. The erythropoietin assay was performed on the ELISA chain.

Results: Lower mean values of EPO, increased CRP and decreased iron were observed in CKF patients (EPO: 5.66 ± 0.97 mIU / L; CRP: 45 ± 7.46 mg / l ; Iron: 12.46 ± 0.85 μ mol / l), and patients under dialysis (EPO: 9 ± 0.51 mIU / L; CRP: 9 ± 2.66 mg / l; Iron: 10.07 ± 0.54 μ mol / l) compared to controls (EPO: 18 ± 1.29 mIU / L; CRP: 2 ± 0.30 mg / l; Iron: 15.85 ± 0.56 μ mol / l).

Conclusion: Anemia in chronic renal failure is thought to be due to an erythropoietin deficiency but also to an exacerbation of inflammation with a disruption of the iron status.

Keywords: Anemia; chronic kidney failure; Côte d'Ivoire; erythropoietin; inflammation.

1. INTRODUCTION

The increasing incidence and prevalence of chronic renal failure (CKF), the high cost of its treatment and its side effects are major public health concerns around the world. However, it is an unrecognized, insidious disease with few specific symptoms; it is still too often diagnosed at a late stage [1].

Among the complications seen in patients with kidney failure, anemia is one of the most common. It appears in the early stages of the disease and gets worse as the disease progresses to the terminal stage [2].

The production of erythropoietin (EPO) is an important function of the kidney that is very often overlooked. EPO is a signaling molecule that stimulates red blood cells in response to decreased levels of oxygen in the blood. Indeed, it is an anti-apoptotic hormone that promotes the survival, proliferation and differentiation of erythrocyte precursors [3]. Any disruption of this process promotes the onset of anemia characterized by a lower than normal hemoglobin rate. Anemia associated with chronic kidney disease has exposed patients to cardiovascular disease and is associated with poor quality of life, increased hospitalizations, cognitive impairment and mortality [4].

The contribution of recombinant human erythropoietin or erythropoiesis stimulating agents (ESA) in the management of anemia since the end of the 1980s, has thus contributed to reducing the frequency of blood transfusions and their risks, for example increase in hemoglobin level, therefore leading to an improvement in the quality of life of patients with kidney failure [5].

Impaired kidney function appears to influence the level of inflammatory markers, such as serum C-reactive protein (CRP) or interleukin 6 (IL-6) [6]. Anemia in patients with chronic renal failure is a multifactorial process in which it would be important to take into account chronic

inflammation, erythropoietin deficiency, iron metabolism disorders, blood loss during sessions of hemodialysis [4]. Understanding the mechanisms underlying anemia in chronic renal failure is important due to the fact that in some patients' treatment with erythropoiesis-stimulating agents (ESAs) may be at least ineffective or even harmful [7].

In Côte d'Ivoire, there are studies of patients with kidney failure, but very few have focused on measuring erythropoietin (EPO), a key hormone in erythropoiesis. Red blood cell indices provide us with information about their hemoglobin content as well as their level. Abnormal values of these indicate the presence of anemia and give us an idea of the kind of anemia. Ferritin and the degree of transferrin saturation are the best markers of iron content.

The objective of this research is to contribute to a better understanding of the mechanisms of anemia in kidney failure.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Type and Study Site

This is a descriptive cross-sectional study which was carried out from December 2019 to December 2020 at the department of fundamental and medical biochemistry of the Institute Pasteur of Côte d'Ivoire (IPCI) on 138 people (90 men and 48 women) aged 18 to 74, precisely 46 patients with kidney failure who have never had dialysis (46 CKF patients), 46 chronic hemodialysis patients (46 dialysis patients) and healthy volunteers (46 controls) to serve as control.

2.2 Criteria for the Selection of Subjects

2.2.1 Inclusion criteria

This study included all individuals who met the following inclusion criteria:

Samples from adult hemodialysis patients and those with chronic kidney disease (CKD) as

defined by KDIGO 2017 (GFR < 90 mL/min/1.73m² for more than 03 months). Patients who gave consent for blood sampling. Samples of healthy adults of both sexes with no clinical and biological signs of renal failure who voluntarily agreed to participate in this study.

2.2.2 Non-inclusion criteria

Samples from patients with acute kidney disease, children, pregnant women and kidney transplant patients were not included in the study. People with medical conditions such as diabetes, hypertension, HIV and/or who have not given their consent to participate in the study.

2.3 Blood Samples Collection

The samples were collected from various nephrology units in hospitals in the Abidjan district (Côte d'Ivoire). Venipuncture samples were taken from the bend of the elbow in fasting individuals. In patients with chronic hemodialysis, the sample was taken before and after dialysis, where the frequency was twice weekly. EDTA (Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid) tubes were used for complete blood count (CBC) and reticulocyte count on the SYSMEX XN-1000i machine. Dry tubes without anticoagulant were used to measure biochemical parameters (urea, creatinine, reactive C protein (CRP), serum iron, ferritin and transferrin) on the Hitachi Cobas C311 analyser.

2.4 Collecte Blood Including Reticulocytes

Total blood count and reticulocyte count were performed using the XN-1000i automated system from SYSMEX combining the principle of hydrodynamic focusing and fluorescent flow cytometry [8]. According to the WHO classification, anemia occurs when a haemoglobin concentration is less than 12 g/dl in females and less than 13 g/dl in males [9].

2.5 Determination of Biochemical Parameters

Serum concentrations of urea, creatinine, C-reactive protein (CRP), serum iron, ferritin and transferrin were determined using Roche Diagnostic Cobas C311 Hitachi analyzer. The principle is based on the TRINDER reaction which is an enzymatic and colorimetric method with the help of a chromogen. The intensity of colouration or turbidity developed is directly

proportional to the concentration of the measured substance [10].

The total binding capacity of the transferrin and the saturation coefficient of the transferrin were calculated with the following formulae [11]:

$$\text{CTF } (\mu\text{mol / L}) = \text{Transferrin value (g / L)} \times 25.$$

$$\text{CTS (\%)} = (\text{Serum iron / CTF}) \times 100.$$

2.6 Screening for Erythropoietin

Erythropoietin was determined using the Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) method, whose principle is based on the double antibody sandwich technique. The intensity of the color is directly proportional to the amount of conjugate which in turn is directly proportional to the amount of EPO in the sample. A standard curve is drawn by plotting the absorbance of the measured complex in relation to the concentration of the EPO standards. The EPO concentration in the unknown sample is determined by comparing its optical density to the curve of the standard.

2.7 CKD-EPI Equation

The CKD-EPI equation (Chronic Kidney Disease EPIdemiology collaboration) [12] made it possible to estimate the glomerular filtration rate (GFR) and therefore to know the stage of chronic kidney disease in patients with kidney failure who have never undergone dialysis.

2.8 Statistical Analysis

The information was entered using an Excel spreadsheet. The mean values and the mean standard error (mean SEM) for the data were obtained using Graph Pad Prism 8.0 (Microsoft, USA). Statistical analysis of the results was done using the Variance Analysis (ANOVA) followed by the Tukey Multiple Comparison Test. The difference is significant when p-value <0.05.

3. RESULTS

3.1 Epidemiological Data

The mean age for hemodialysis patients was 48±1.99 and for CKD patients was 46±1.86. There were 30 men (65.22%) and 16 women (34.78%) in both hemodialysis patients and CKD patients. The sex ratio M / F was 1.87.

3.2 Stage of the Disease

The stage of chronic kidney disease was calculated in patients with chronic kidney failure, i.e 46 CKF patients not yet on dialysis. It appears that 93.48% and 2.18% were respectively in stages 5 and 4 against 4.34% in stage 3 of chronic kidney disease.

3.3 Haematological Profile

In general, results of hematological markers in patients with chronic renal impairment (CKD and dialysis) show a decrease compared to controls $P < 0.05$ (Table 1). The average hemoglobin (Hb) value was lower for CKD patients than for dialysis patients and controls. Anaemia was present in 94.56% of patients with chronic renal failure (CKD and dialysis patients). Most (48.92%) reported cases had normochromic-normocytic anaemia followed by hypochromic microcytic anaemia (40.21%). However, in a smaller proportion and mostly in dialysis patients, some cases of macrocytic anemia (5.43%) were observed. Erythropoietin concentrations in controls were double that of dialysis patients. The lowest levels were observed in CKD patients (Fig. 1).

3.4 Biochemical Profile

Very high average values of urea and creatin were found in dialysis and CKD patients. For the C-reactive protein (CRP), an increase in its value was observed in dialysis patients over controls (Table 2). This difference is even more pronounced in people with CKD. For iron, there is a significant difference between the values found in controls, dialysis patients and CKD patients. In addition to the fact that the serum iron values are within the range of normal values in the study population, a decrease in its content was nevertheless noted in dialysis patients (53.12%) and CKD patients (37.5%) while no decrease was observed in controls. For ferritin, values in dialysis and CKD patients were significantly elevated relative to controls. The increase in ferritin was 87.75% and 65.62% respectively in CKD patients and dialysis patients compared to 18.75% in controls. Regarding transferrin and the total transferrin binding capacity, the values observed in patients with CKD and dialysis patients were below the normal range, unlike in the controls population. There was no significant difference in the transferrin saturation coefficient (CS) which was within the range of normal values throughout the study population.

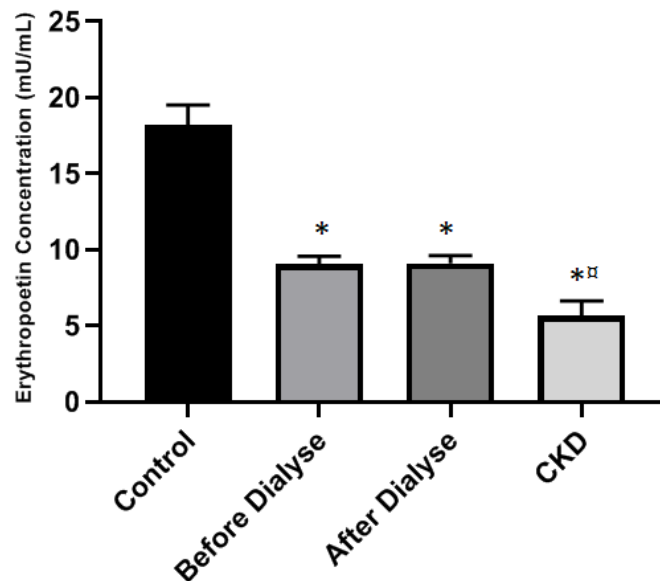


Fig. 1. Erythropoietin concentration of the study population

CKD: patients with kidney disease who have never had dialysis; Dialysis patients: chronic hemodialysis patients;

*: Significant difference between chronic renal failure patients (CKF and dialysis patients) and controls, $P < 0.05$.

α: Significant difference between patients before dialysis and after dialysis and CKF patients $P < 0.05$

Table 1. Average concentrations of hematological markers and erythropoietin in the study population

Parametrs	Control	Before Dialyse	After Dialyse	CKD	p value a	p value b	p value c
Red blood cell (3.8 – 6.0 10 ⁶ /μL)	4,58 ± 0,09	3,46 ± 0,09	3,81 ± 0,11	2,68 ± 0,12	0,0001*	0,0006*	0,0001*
Hematocrit (35 – 54 %)	39 ± 0,88	30 ± 1,02	33 ± 1,21	21 ± 1,31	0,0001*	0,0013*	0,0001
Hemoglobin (12 – 18 g/dL)	13 ± 0,23	9 ± 0,25*	10 ± 0,31*	7 ± 0,33*	0,0001*	0,0001*	0,0001*
MCV (80 – 95 fL)	84 ± 0,67	84 ± 1,08	85 ± 0,85	79 ± 0,96	0,28	0,92	0,0009*
MCHC (32 – 36 g/dL)	33 ± 0,14	31 ± 0,15	31 ± 0,18	32 ± 0,39	0,0001*	0,0081*	0,59
Reticulocytes (25 – 100 10 ⁹ /μL)	61 ± 00	80 ± 0,01	76 ± 00	53 ± 00	0,56	0,72	0,94

CKD: patients with kidney disease who have never had dialysis; Before Dialyse: chronic hemodialysis patients before the dialysis session; After Dialyse: chronic hemodialysis patients after the dialysis session; MCV: mean corpuscular volume, MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration

*: p indicates statistical significance. The difference is significant for $p < 0.05$. a : Control vs chronic hemodialysis patients before the dialysis session, b : Control vs chronic hemodialysis patients after the dialysis session, c : Control vs patients with kidney disease who have never had dialysis.

Table 2. Average concentrations of biochemical markers and EPO in the study population

Parametrs	Control	Before Dialyse	After dialyse	CKD	p value a	p value b	p value c
Creatin (5 - 12 mg/L)	10±0,31	158±4,5	61±3,65	140±9,23	0,0001*	0,0001*	0,0001*
Urea (0,10 - 0,35 g/L)	0,24±0,01	1,57±0,05	0,54±0,04	2,13±0,13	0,0001*	0,02*	0,0001*
CRP (< 6 mg/L)	2±0,30	9±2,66	12±3,44	45±7,46	0,68	0,36	0,0001*
Iron (μmol/l) (M: 11-28; F: 6.6-26)	15,85±0,56	10,07±0,54	10,21±0,61	12,46±0,85	0,0001*	0,0001*	0,0018*
Transferrin (g/L) (M: 2.0-2,7 ; F: 1.9-2.7)	2,40±0,06	1,41±0,07	1,54±0,08	1,26±0,08	0,0001*	0,0001*	0,0001*
CTF (49-69 μmol/L)	61±1,22	35±1,34	37±1,41	32±1,78	0,0001*	0,0001*	0,0001*
CS (20-45 %)	27±1,05	36±5,36	34±4,14	43±3,46	0,33	0,55	0,01*
Ferritin (μg/l) (M: 30-300; F: 20-200)	160±21,34	810 ± 162,5	795±81,44	1215±106,8	0,0001*	0,0002*	0,0001*

CKD: patients with kidney disease who have never had dialysis; Before Dialyse: chronic hemodialysis patients before the dialysis session; After Dialyse: chronic hemodialysis patients after the dialysis session; CTF: Total Transferrin Binding Capacity; CS: Saturation coefficient of transferrin; CRP: C-reactive protein; M: Male; F: Femal

*: p indicates statistical significance. The difference is significant for $p < 0.05$. a : Control vs chronic hemodialysis patients before the dialysis session, b : Control vs chronic hemodialysis patients after the dialysis session, c : Control vs patients with kidney disease who have never had dialysis.

4. DISCUSSION

Almost all of the CKD patients in this study had advanced stage chronic kidney disease were in stages 4 and 5, respectively that is, by that moment kidney replacement therapy is very essential. This could be attributed not only to the low socio-economic level of the populations, but also to the under-medicalization in developing countries with the lack of awareness of the population in the face of the warning symptoms of kidney disease [13].

The anemia was of the normochromic normocytic type in the majority of the cases followed by a hypochromic microcytic anemia and few cases in a macrocytic anemia mainly in dialysis patients. These results agree with those of Shastry and Belurkar [14] who also found the presence of these three types of anemia in their study population. Anemia in CKD is usually normochromic, normocytic, but sometimes it can be microcytic hypochromic due to lack of iron associated with insufficient production of red blood cells caused by reduced EPO activity in the bone marrow [14]. Patients with kidney failure may also present macrocytic anemia due to vitamin B12 or folic acid deficiency. This deficiency is uncommon, occurring in less than 10% of dialysis patients. Folic acid deficiency may occur primarily in dialysis patients, since serum folate levels are also reduced after dialysis [15].

In this study, anemia was regenerative. The reticulocytes count is useful for estimating the functional integrity of the bone marrow. A decrease in reticulocytes in blood level reflects a bone marrow defect in anemic patients [16].

The levels of red blood cells, hematocrit and hemoglobin observed were significantly higher in controls than in chronic renal failure (CKD and dialysis patients), this is corroborated to the work of Behera [17]. The main cause of low red blood cell count in chronic kidney disease is impaired erythropoietin synthesis and reduced red blood cell survival. The hormone erythropoietin, the main humoral regulator of red blood cell production, helps maintain red blood cell viability by delaying DNA cleavage that normally occurs in the CFU-E (colony forming unit-erythroid) stage of erythropoiesis [18]. In the absence of EPO, DNA cleavage is rapid and results in cell death.

The decrease in serum erythropoietin (EPO) concentrations observed in CKD patients is considered to be the main cause of the development of kidney anemia. Erythropoietin (EPO) is a hormone produced by specialized type I interstitial fibroblasts in the cortex and the outer layer of the renal medulla. As kidney disease progresses, kidney mass decreases, which reduces the production of EPO and creates its deficit [3]. However, in our study, the erythropoietin concentration in dialysis patients was higher than that of CKD patients, this would be due to the use of recombinant erythropoietin in hemodialysis centers. This is because erythropoietin (EPO) is a critical factor that regulates the number of red blood cells associated with its integration into the oxygen-carrying system. The main stimulus for high EPO synthesis is tissue hypoxia, which normally leads to an exponential increase in serum EPO levels [19]. This feedback is affected in patients with pathological conditions involving the kidneys, and the developing anemia is not properly compensated by a sufficient increase in EPO production.

The increase in CRP, ferritin and on the other hand, the decrease in serum iron concentrations, transferrin, total iron binding capacity to transferrin (CTF), observed in the majority of patients with chronic renal failure in this study, are characteristics of an inflammatory profile. In the early hours of the occurrence of inflammation cytokines, including tumor necrosis factor α (TNF- α), interleukin-1, interleukin-6 and interferon- γ , are produced by inflammatory cells [20]. This can be explained firstly, by systemic immune activation which leads to profound changes in iron trafficking, resulting in iron retention in macrophages and reduced intestinal absorption of dietary iron. The work of Mayeur et al in 2014 showed that interleukin-6 induced the expression of hepcidin by a signal transducer and a transcription activator 3 (STAT3) [21]. Hepcidin exerts its iron regulating effects by binding ferroportin, an iron transporter to the cell surface, causing cellular internalization and degradation of ferroportin. Thus, increasing hepcidin concentrations, inhibits iron absorption in the duodenum where ferroportin is needed to deliver the dietary iron absorbed into the circulation, and they also act on macrophages to block the release of recycled iron from senescent erythrocytes in plasma [22]. This set of mechanisms promotes the decrease in serum iron concentration and the ability to bind iron to transferrin [23].

5. CONCLUSION

Anemia, a common complication in chronic kidney disease, is primarily due to decreased erythropoietin levels. However, inflammation plays an important role in the development of anemia. Determining erythropoietin levels and inflammatory parameters could improve the medical management of chronic kidney disease in Côte d'Ivoire.

ETHICS APPROVAL AND CONSENT

The study was authorized for implementation by the national ethics committee for life and health sciences (CNESVS) assigned number 023-20 / MSHP / CNESVS-km. Informed Consent has been obtained from the individuals for the use of blood samples for the research.

DISCLAIMER

The products used for this research are commonly and predominantly use products in our area of research and country. There is absolutely no conflict of interest between the authors and producers of the products because we do not intend to use these products as an avenue for any litigation but for the advancement of knowledge. Also, the research was not funded by the producing company rather it was funded by personal efforts of the authors.

COMPETING INTERESTS

Authors have declared that no competing interests exist.

REFERENCES

1. Sumaili EK, Krzesinski JM, Cohen EP & Nseka NM, épidémiologie de la maladie rénale chronique en République démocratique du Congo : une revue synthétique des études de Kinshasa, la capitale. *Néphrologie & Thérapeutique*. 2010;6:232.
2. Janus N, Launay VV. Complication de l'insuffisance rénale chronique : l'anémie et ses traitements. *Journal de Pharmacie Clinique*. 2011;30:229.
3. Atkinson MA, Warady BA. Anemia in chronic kidney disease. *Pediatric Nephrology*. 2018;33:227.
4. Babitt JL, Lin HY, mechanisms of anemia in CKD. *JASN*. 2012;23:1631.
5. López-Gómez JM, Abad S, Vega A. New expectations in the treatment of anemia in chronic kidney disease. *Nefrologia*. 2016;36:232.
6. Panichi V, Migliori M, De Pietro S, Taccola D, Bianchi AM, Norpoth M, Metelli MR, Giovannini L, Tetta C, Palla R. C-reactive protein in patients with chronic renal diseases. *Ren. Fail.* 2001;23: 551.
7. Caldararu CD, Tarta DI, Gliga ML, Tarta C, Carasca E, Albu S, Hutanu A, Dogaru M, Dogaru G. Comparative analysis of hepcidin-25 and inflammatory markers in patients with chronic kidney disease with and without anemia. *Acta Med. Marisiensis*. 2017;63:10.
8. Ormerod MG, Sun XM, Snowden RT, Davies R, Fearnhead H, Cohen GM. Increased membrane permeability of apoptotic thymocytes: A flow cytometric study. *Cytometry*. 1993;14: 595.
9. WHO, UNICEF & UNU, Iron deficiency anaemia. Assessment, prevention and control. A guide for Programme Managers. 2001;132.
10. Deyhimi F, Arabieh M, Parvin L. Optimization of the Emerson Trinder enzymatic reaction by response surface methodology. *Biocatal. Biotransfor.* 2006;24:263.
11. Wagner A. le rôle du laboratoire dans l'exploration du métabolisme du fer. *Revue de l'ACOMEN*. 2000;6:23.
12. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, Feldman HI, Kusek JW, Eggers P, Van Lente F, Greene T, Coresh J. CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration), a new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med*. 2009;150:604.
13. Ackoundou-N'Guessan KC, N'Zoue S, Lagou AD, Tia, WM, Guei MC, Coulibaly PA, Gnonsiahe DA. Épidémiologie de l'hypertension artérielle non contrôlée au cours des maladies rénales chroniques chez des patients admis dans une unité de néphrologie d'Afrique noire : une étude rétrospective de 479 patients. *Néphrol ther.* 2014;745:1.
14. Shastry I, Belurkar S. The spectrum of red blood cell parameters in chronic kidney disease: A study of 300 Cases. *J Appl Hematol*. 2019;10:61.
15. Zadrazil J, Horak P. Pathophysiology of anemia in chronic kidney diseases: A review. *Biomed Pap Med*. 2015;159:197.

16. Means RT. Anemia of renal failure/chronic kidney disease. In R.T. Means Jr., éd. *Anemia in the Young and Old: Diagnosis and Management*. 2019;147.
17. Behera PB. Hematological profile in patients of chronic kidney disease with its severity in a tertiary care hospital, north odisha. *Asian J Pharm Clin Res*. 2020;13:182.
18. Lombardero M, Kovacs K, Scheithauer BW. Erythropoietin: a hormone with multiple functions. *Pathobiology*. 2011;78:41.
19. Jelkmann W. Regulation of erythropoietin production. *J Physiol*. 2011;589:1251.
20. Tomas G, Anemia of Inflammation. *N Engl J Med*. 2019;381:1148.
21. Mayeur C, Lohmeyer LK, Leyton P, Kao SM, Pappas AE, Kolodziej AS, Spagnolli E, Yu B, Galdos RL, Yu PB, Peterson RT, Bloch DB, Bloch KD, Steinbicker AU. The type I BMP receptor Alk3 is required for the induction of hepatic hepcidin gene expression by interleukin-6. *Blood*. 2014; 123:2261.
22. Ueda N, Takasawa K. Role of hepcidin-25 in chronic kidney disease: Anemia and beyond. *Curr. Med. Chem*. 2017;24: 1417.
23. Marioa N. Marqueurs biologiques pour le diagnostic des troubles du métabolisme du fer. *Revue Francophone des Laboratoires*. 2012;442:39.

© 2021 Kouadio et al.; This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Peer-review history:

The peer review history for this paper can be accessed here:
<https://www.sdiarticle4.com/review-history/72784>

Vitamin D and Parathyroid Hormone Profiles in Living Kidney Failure Patients in Côte d'Ivoire

Maxime Roméo Kouadio^{1,2}, Lydie Boyvin¹, Gnogbo Alexis Bahi¹,
Assieoussou Jean-Luc N'Guessan^{1,2}, Cackouoh Carole Constance Koudou¹, Souleymane Méité¹,
Allico Joseph Djaman^{1,2}

¹Department of Clinical and Fundamental Biochemistry, Institute Pasteur of Côte d'Ivoire, (IPCI), Abidjan, Côte d'Ivoire

²Health Biology Laboratory, University Félix Houphouët-Boigny (UFHB), Abidjan, Côte d'Ivoire

Email: maximeromekouadio@gmail.com

How to cite this paper: Kouadio, M.R., Boyvin, L., Bahi, G.A., N'Guessan, A.J.-L., Koudou, C.C.C., Méité, S. and Djaman, A.J. (2022) Vitamin D and Parathyroid Hormone Profiles in Living Kidney Failure Patients in Côte d'Ivoire. *Advances in Biological Chemistry*, 12, 39-47.
<https://doi.org/10.4236/abc.2022.122004>

Received: January 3, 2022

Accepted: March 21, 2022

Published: March 24, 2022

Copyright © 2022 by author(s) and Scientific Research Publishing Inc. This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).
<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

Introduction: Abnormalities in mineral and bone metabolism, particularly phosphocalcic metabolism, are common in renal failure and are associated with a significant morbidity and mortality. The regulation of phosphocalcic metabolism is subject to a particularly precise and complex control of parathormone (PTH) and vitamin D. Assessment of vitamin D and parathyroid hormone concentrations would help to improve the medical management of patients with chronic kidney disease and ensure a better quality of life. **Methods:** The study population consisted of 138 individuals including 46 non-dialysis renal failure patients, 46 chronic hemodialysis patients and 46 non-renal failure volunteers to serve as controls. Serum Parathyroid hormone and Vitamin D concentrations were measured using the Vidas automated system. **Results:** 25-hydroxyvitamin D concentrations in controls (65 ± 2.41 nmol/L) and dialysis patients (70 ± 3.03 nmol/L) were significantly higher than those in CKD patients (48 ± 3.34 nmol/L). On the other hand, the mean values of Parathyroid hormone in dialysis patients (312 ± 36.22 pg/mL) and CKD patients (117 ± 10.68 pg/mL) were very high compared to that in controls (25 ± 2.34 pg/mL). **Conclusion:** Secondary hyperparathyroidism is common in renal failure. Parathyroid hormone and 25-hydroxyvitamin D assays would be adequate for better management of chronic renal failure.

Keywords

25-Hydroxyvitamin D, Chronic Renal Failure, Côte d'Ivoire, Secondary Hyperparathyroidism, Parathyroid Hormone

1. Introduction

Chronic kidney disease (CKD) remains a major public health problem world-

wide. Nearly 500 million people suffer from it and about 80% of them reside in low and middle income countries [1]. African countries are particularly affected due to the high prevalence of non-communicable diseases, such as hypertension and diabetes, but also communicable diseases, such as human immunodeficiency virus (HIV) infection, viral hepatitis B and C and glomerulonephritis [2].

In chronic renal failure, renal function deteriorates over time, with glomerular filtration rate (GFR) gradually decreasing. Irreversible damage leads to an inability of the kidneys to perform their vital functions of homeostasis, excretion and synthesis. They are responsible for numerous complications, particularly metabolic ones. Among these complications, mineral and bone metabolism abnormalities are important and accompanied by a significant morbi-mortality [3].

The regulation of phosphocalcic metabolism is subject to a particularly precise and complex control of parathyroid hormone (PTH) and vitamin D (25-hydroxyvitamin D).

Vitamin D is an important regulator of calcium and phosphate homeostasis and also has many extra-skeletal effects on the cardiovascular system, central nervous system, endocrine system, immune system, and cell differentiation and growth [4].

Stimulation of PTH secretion is characterized physiologically by reduced availability of vitamin D and decreased serum calcium. PTH stimulates calcium reabsorption at the renal tubules, calcium and phosphate resorption from bone tissue, and the synthesis of calcitriol (the most active metabolite of vitamin D), which increases intestinal calcium absorption [5]. Increased production of PTH plays a key compensatory role in restoring normal calcium and vitamin D levels [5]. Thus, the term secondary hyperparathyroidism is widely used to identify a compensatory phenomenon, the purpose of which is to correct reduced bioavailability of calcium and/or vitamin D. Secondary hyperparathyroidism appears early in renal failure and in the absence of treatment it leads in most renal failure patients to potentially serious skeletal (renal osteodystrophy) and extraskeletal (soft tissue calcifications, cardiac vessels and valves) complications [6]. In Côte d'Ivoire, little work has been done on vitamin D and parathyroid hormone despite their importance in phosphocalcic metabolism as well as in the occurrence of secondary hyperparathyroidism. Furthermore, according to Melamed, 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) deficiency is common in CKD, especially in non-Caucasian patients and in patients with advanced disease [7]. The objective of this study is to evaluate 25(OH)D and Parathyroid hormone concentrations in living chronic kidney disease patients in Côte d'Ivoire in order to improve their medical management.

2. Materials and Methods

2.1. Type and Study Site

This is a descriptive cross-sectional study which was carried out from December 2019 to December 2020 at the department of fundamental and medical bioche-

mistry of the Institut Pasteur of Côte d'Ivoire (IPCI). The study population consisted of 138 individuals (90 males and 48 females) aged 18 to 74 years and was distributed as follows: 46 patients with kidney failure who have never had dialysis (46 CKF patients), 46 chronic hemodialysis patients (46 dialysis patients) and 46 healthy volunteers to serve as control (46 controls).

2.2. Collection of Blood Samples

The samples were collected in various nephrology departments of hospitals in the district of Abidjan (Côte d'Ivoire), namely the National Centre for the Prevention and Treatment of Renal Failure (CNPTIR), the University Hospitals (CHU) of Cocody, Treichville and the General Hospital of Adjamé (HGA). Samples were taken by venipuncture, at the elbow fold on red tube without anticoagulant in fasting subjects for the determination of biochemical parameters (urea, creatinine, calcium, phosphorus and magnesium, parathyroid hormone and 25-hydroxyvitamin D). In chronic hemodialysis patients, the sample was taken before and after the dialysis session, with a frequency of twice a week.

2.3. Determination of Biochemical Parameters

Serum concentrations of urea, creatinine, calcium, phosphorus and magnesium were determined using the Cobas C311 Hitachi from Roche Diagnostics. The principle is based on the TRINDER reaction which is an enzymatic and colorimetric method using a chromogen. The intensity of the coloration or turbidity developed is directly proportional to the concentration of the substance being assayed [8]. The determination of PTH and 25(OH)D hormones was performed on the BioMérieux Vidas system, which is based on the ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) technology. This is an immuno-enzymological technique of detection by fluorescence carried out in two stages, which makes it possible to visualize an antigen-antibody reaction thanks to a coloured reaction produced by the action on a substrate of an enzyme previously attached to the antibody. The resulting light intensity constitutes the analytical signal which is directly proportional to the concentration of the substance measured in the sample [9].

2.4. CKD-EPI Equation

The Chronic Kidney Disease EPIdemiology collaboration (CKD-EPI) equation [10] was used to estimate the glomerular filtration rate (GFR) and thus to determine the stage of chronic kidney disease in non-dialysis patients (46 CKD patients).

2.5. Statistical Analysis

The Graph Pad Prism 8.0 software (Microsoft, USA) was used for statistical analysis. The mean values along with standard error on the mean (Mean \pm SEM) of the data were calculated using analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's multiple comparison test. The difference is significant when p-value < 0.05.

3. Results

3.1. Epidemiological Data

This study showed a predominance of males in hemodialysis and CKD patients 30 males (65.22%) and 16 females (34.78%) with a sex ratio M/F was 1.87. The mean age for hemodialysis patients was 48 ± 1.99 and for CKD patients was 46 ± 1.86 .

3.2. Stage of the Disease

The stage of chronic kidney disease was calculated in the 46 CKD patients not yet on dialysis revealed 93.48% in stage 5 and 2.18% in stage 4 against 4.34% in stage 3A.

3.3. Biochemical Profile

Compared with controls, a significant decrease in mean calcium values and a significant increase in mean phosphorus values were observed before dialysis hemodialysis patients and patients with kidney failure who have never had dialysis (CKD patients) ($P < 0.05$) (Table 1). However, hemodialysis patients after the dialysis session, showed elevated mean calcium values and lowered mean phosphorus values.

In contrast, the observed mean magnesium values were within the normal reference range with no significant difference between the different study populations (Table 1). The average values of 25(OH)D values are lowered (below 75 mmol/L) in the different study groups. The average values of 25(OH)D in CKD patients are significantly lower than those of dialysis patients and controls (Figure 1). With regard to parathyroid hormone, its concentration in CKD patients was higher than in controls and significantly lower than in dialysis patients (Figure 2).

4. Discussion

In general, chronic renal failure patients (CKD and dialysis patients) showed phosphocalcium disturbances compared to controls. The elevated parathyroid

Table 1. Average concentrations of biochemical markers in the study population.

Parameters	Control	Before dialyse	After dialyse	CKD	p value a	p value b	p value c
Creatin (5 - 12 mg/l)	9.59 ± 0.31	158.1 ± 4.5	61.04 ± 3.65	140 ± 9.23	0.0001*	0.09	0.0001*
Urea (0.10 - 0.35 g/l)	0.24 ± 0.01	1.57 ± 0.05	0.54 ± 0.04	2.13 ± 0.13	0.0001*	0.0001*	0.0001*
Calcium (90 - 110 mg/l)	90.84 ± 2.46	77.16 ± 2.36	99.81 ± 2.55	58.20 ± 4.79	0.99	0.0001*	0.0001*
Phosphorus (28 - 45 mg/l)	37.53 ± 1.75	41.38 ± 2.34	25.91 ± 2.05	60.47 ± 4.44	0.99	0.77	0.88

CKD: patients with kidney disease who have never had dialysis; Before Dialyse: chronic hemodialysis patients before the dialysis session; After Dialyse: chronic hemodialysis patients after the dialysis session. *: p indicates statistical significance. The difference is significant for $p < 0.05$. a: Control vs chronic hemodialysis patients before the dialysis session, b: Control vs chronic hemodialysis patients after the dialysis session, c: Control vs patients with kidney disease who have never had dialysis.

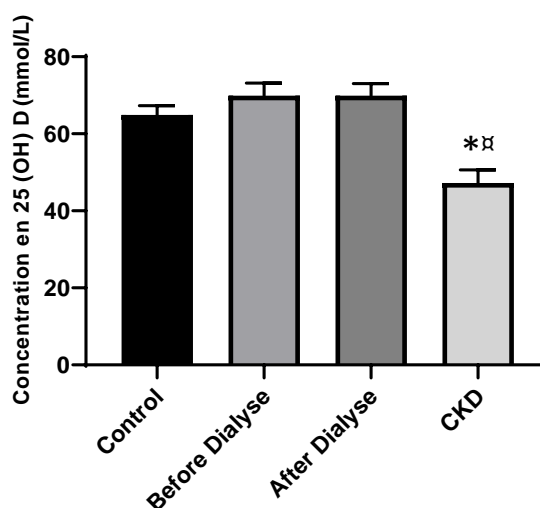


Figure 1. 25-hydroxyvitamin D concentration of the study population.

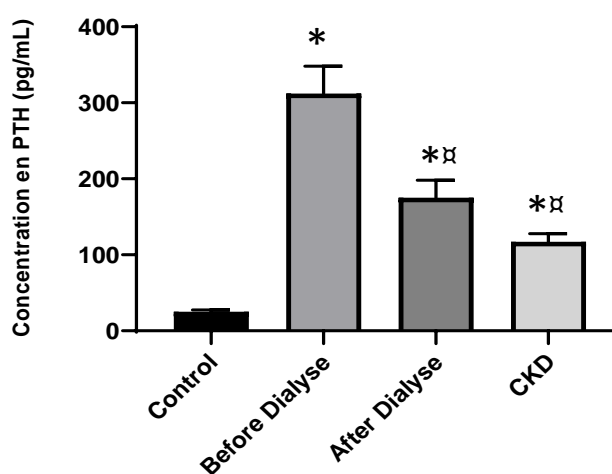


Figure 2. Parathyroid hormone concentration of the study population.

CKD: patients with kidney disease who have never had dialysis; Dialysis patients: chronic hemodialysis patients. *: Significant difference between chronic renal failure patients (CKD and dialysis patients) and controls, $P < 0.05$. ☒: Significant difference between patients before dialysis and after dialysis and CKD patients, $P < 0.05$.

hormone level, in CKD and dialysis patients is similar to the work of Mondé in renal failure patients [11]. This is indicative of hyperparathyroidism (HPT). However, the significant decrease in PTH observed during dialysis could be due not only to the decrease in its secretion induced by the hypercalcemia occurring during dialysis but also to its elimination in the dialysate [12]. Hyperparathyroidism represents one of the most common complications of CKD progression and could be explained by several interrelated mechanisms. Under hypocalcemic conditions, the percentage of intact PTH released into the bloodstream increases, and under hypercalcemic conditions, it decreases [13]. During renal failure, hypocalcemia sets in relation to reductions in renal tubular reabsorption and intestinal calcium absorption, which will directly stimulate PTH mRNA synthesis.

Indeed, parathyroid cells can sense even small changes in serum calcium levels through a membrane receptor (CaSR), resulting in changes in PTH release and synthesis [14]. Also, experimental data suggest that a reduction in CaSR expression on parathyroid cells, resulted in an increase in the set point for calcium-controlled PTH release, may contribute to increased PTH secretion during CKD [15]. A significant increase in blood calcium levels after dialysis has been observed. Since the calcium concentration in the dialysate is higher than the ionized calcium in the blood, the session allows a transfer of calcium to the patient's blood (protein-bound calcium does not diffuse). Unfortunately, there is little clinical evidence on which calcium balance should be targeted to best address potential benefits and risks for renal patients. This makes it difficult to define the optimal dialysis bath calcium concentration in each patient [16]. Furthermore, decreased renal function is also associated with hyperphosphatemia as observed in CKD patients. Phosphatemia is regulated by two proteins with a central phosphate role namely FGF23 (Fibroblast Growth Factor 23) and its co-receptor α Klotho [17]. Unfortunately, there is also a decrease in α Klotho production with the progression of chronic kidney disease; thus, the efficacy of FGF23/Klotho to correct phosphate excretion is limited, and as CKD progresses, there is the development of overt hyperphosphatemia, resulting in further stimulation of FGF23 production. In addition hyperphosphatemia directly inhibits calcium sensing receptors and also stimulates PTH production [18]. However, normal phosphatemia has been noted in dialysis patients. These results could be explained by a low phosphate diet and pharmacological interventions (the intake of phosphate binders) aimed at limiting gastrointestinal absorption [19]. Similarly dialysis favours the decrease in phosphate content in dialysis patients hence the decrease observed in the latter. The hypovitaminosis D observed in controls could be explained by an insufficient consumption of food containing or enriched in vitamin D. Indeed, circulating vitamin D has a double origin: exogenous, dietary (ergocalciferol, cholecalciferol, present for example in certain plants or fatty fish) and endogenous by cutaneous synthesis. The main source of vitamin D is sunlight-induced skin synthesis and the second source is from diet and supplements [20]. However in blacks, skin pigmentation affects the production of vitamin D by skin synthesis. As a result, black people have lower levels of 25(OH)D, potentially due to melanin (skin pigment) acting as a natural sunscreen, leading to decreased vitamin D₃ synthesis in the skin [21]. The 25(OH) vitamin D content, although lowered in dialysis patients, is significantly higher than in CKD patients. This is due to vitamin D supplementation in dialysis patients. In renal failure, disturbances in vitamin D metabolism play a major role in the development of secondary hyperparathyroidism. Low calcidiol or 25-hydroxyvitamin D levels observed during renal failure are widespread in CKD [22]. The decrease in 1,25-dihydroxyvitamin D or calcitriol is further related to the decrease in 25-hydroxyvitamin D independently of the stage of renal failure. The hydroxylation of 25(OH) vitamin D to form 1,25(OH)₂ vitamin D, the most active and func-

tional hormonal form of vitamin D, occurs primarily in the proximal right tubule of the kidney [23]. The enzyme responsible for the conversion of 25(OH)D to 1,25(OH)₂D is renal 1- α -hydroxylase (CYP27B1 Cytochrome 27 B1 mitochondrial). The decrease in 25(OH)D is thought to contribute to the decrease in 1,25(OH)₂D observed in advanced stages of renal failure, due to the decrease in 1- α -hydroxylase activity, but also due to the decrease in the substrate of this enzyme [24]. Calcitriol levels gradually decrease as glomerular filtration rate decreases. This decrease in calcitriol levels is due to several renal factors, such as a decrease in renal CYP27B1 with reduced renal mass; loss of renal megalin required for calcidiol uptake by the proximal tubule; and low amounts of calcidiol delivered to proximal tubular cells for activation to calcitriol [25]. In addition, regulatory factors, such as elevated FGF23 levels, which occur in early CKD, directly suppress renal CYP27B1 and exacerbate calcitriol deficiency [26]. Under normal conditions, calcitriol acts directly to decrease PTH synthesis by binding to the vitamin D receptor (VDR) in the nucleus of the parathyroid cell. Upon binding to calcitriol, the VDR, undergoes a conformational change and forms a complex with the retinoid X receptor. This VDR/retinoid X receptor complex then binds to specific sequences in the target genes and alters the rate of gene transcription; one effect is to reduce transcription of the pre-pro-PTH gene, the first step in PTH synthesis [27]. Calcitriol may also inhibit PTH indirectly by increasing intestinal calcium absorption [28]. In kidney disease, calcitriol synthesis is reduced and thus the normal endocrine feedback loop to control PTH synthesis is broken.

5. Conclusion

During renal failure, various metabolic complications develop, including secondary hyperparathyroidism. The latter is due to a set of interrelated factors, such as disturbances in phosphocalcic metabolism and a drop in 25-hydroxyvitamin D levels correlated with calcitriol levels. The control of these factors is therefore essential to mitigate the adverse effects of the disease. Also a better control of the causal affections of the renal insufficiency as well as a sensitization of the populations would support an early detection of the renal insufficiency. For a better management of renal insufficiency, it would be appropriate to make the measurements of 25-hydroxyvitamin D and parathormone.

Ethical Statement

The study was authorized for implementation by the national ethics committee for life and health sciences (CNESVS) assigned number 023-20/MSHP/CNESVS-km. Informed Consent has been obtained from the individuals for the use of blood samples for the research.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflicts of interest regarding the publication of this paper.

References

- [1] Mills, K.T., Xu, Y., Zhang, W., Bundy, J.D., Chen, C.S., Kelly, T.N., Jing, C. and Jiang, H. (2015) A Systematic Analysis of Worldwide Population-Based Data on the Global Burden of Chronic Kidney Disease in 2010. *Kidney International*, **88**, 950-957. <https://doi.org/10.1038/ki.2015.230>
- [2] Stanifer, J.W., Muiru, A., Jafar, T.H. and Patel, U.D. (2016) Chronic Kidney Disease in Low- and Middle-Income Countries. *Nephrology Dialysis Transplantation*, **31**, 868-874.
- [3] Delanaye, P., Bouquegneau, A., Krzesinski, J.M., Cavalier, E., Guillaume, J., Urena-Torres, P. and Souberbielle, J.C. (2014) Place de la vitamine D native en dialyse. *Néphrologie & Thérapeutique*, **11**, 5-15. <https://doi.org/10.1016/j.nephro.2014.10.004>
- [4] Bouillon, R. (2018) Extra-Skeletal Effects of Vitamin D. *Frontiers of Hormone Research*, **50**, 72-88. <https://doi.org/10.1159/000486072>
- [5] Blaine, J., Chonchol, M. and Levi, M. (2015) Renal Control of Calcium, Phosphate, and Magnesium Homeostasis. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, **10**, 1886-1887.
- [6] Moe, S.M. and Drüeke, T.B. (2003) Management of Secondary Hyperparathyroidism: The Importance and the Challenge of Controlling Parathyroid Hormone Levels without Elevating Calcium, Phosphorus, and Calcium-Phosphorus Product. *American Journal of Nephrology*, **23**, 369-379. <https://doi.org/10.1159/000073945>
- [7] Melamed, M.L., Astor, B., Michos, E.D., Hostetter, T.H., Powe, N.R. and Muntner, P. (2009) 25-hydroxyvitamine D niveaux, race et progression de la maladie rénale. *Journal of the American Society of Nephrology*, **20**, 2631-2639.
- [8] Deyhimi, F., Arabieh, M. and Parvin, L. (2006) Optimization of the Emerson Trinder Enzymatic Reaction by Response Surface Methodology. *Biocatalysis and Biotransformation*, **24**, 263-271. <https://doi.org/10.1080/10242420600661943>
- [9] Abrouki, E.F. (2013) The D Dimers: Dosage Techniques. Ph.D. Thesis, Mohammed V-Souissi University, Rabat.
- [10] Levey, A.S., Stevens, L.A., Schmid, C.H., Zhang, Y.L., Castro, A.F., Feldman, H.I., Kusek, J.W., Eggers, P., Van Lente, F., Greene, T. and Coresh, J. (2009) A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate. *Annals of Internal Medicine*, **150**, 604-612.
- [11] Mondé, A.A., Kouamé-Koutouan, A., Lagou, D.A., Camara-Cissé, M., Achy, B.O., Tchimou, L., Djessou, P. and Sess, E.D. (2013) Variations du calcium, du phosphore et de la parathormone au cours de l'insuffisance rénale chronique (IRC) en Côte d'Ivoire. *Medecine Nucléaire*, **37**, 451-454. <https://doi.org/10.1016/j.mednuc.2013.09.017>
- [12] Basile, C., Libutti, P., Turo, D.L.A., Vernaglione, L., Casucci, F., Losurdo, N., Teutonico, A. and Lomonte, C. (2012) Effect of Dialysate Calcium Concentrations on Parathyroid Hormone and Calcium Balance During a Single Dialysis Session Using Bicarbonate Hemodialysis: A Crossover Clinical Trial. *American Journal of Kidney Diseases*, **59**, 92-101. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2011.08.033>
- [13] Goltzman, D., Mannstadt, M. and Marcocci, C. (2018) Physiology of the Calcium-Parathyroid Hormone-Vitamin D Axis. *Frontiers of Hormone Research*, **50**, 1-13. <https://doi.org/10.1159/000486060>
- [14] Riccardi, D. and Valenti, G. (2016) Localization and Function of the Renal Calcium-Sensing Receptor. *Nature Reviews Nephrology*, **12**, 414-425.

- [15] Messa, P. and Alfieri, C.M. (2019) Secondary and Tertiary Hyperparathyroidism. *Frontiers of Hormone Research*, **51**, 91-108. <https://doi.org/10.1159/000491041>
- [16] Messa, P. and Sherman, R.A. (2014) Should Dialysate Calcium Be Individualized? *Seminars in Dialysis*, **27**, 4-7. <https://doi.org/10.1111/sdi.12150>
- [17] Martin, A., David, V. and Quarles, L.D. (2012) Regulation and Function of the FGF23/Klotho Endocrine Pathways. *Physiological Reviews*, **92**, 131-155.
- [18] Ryyan, H. and Stuart, M.S. (2020) Secondary Hyperparathyroidism in a Patient with CKD. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, **15**, 1041-1043.
- [19] Adema, A.Y., Borst, M.H., Wee, P.M.T., Vervloet, M.G. and Nigram, C. (2014) Dietary and Pharmacological Modification of Fibroblast Growth Factor-23 in Chronic Kidney Disease. *Journal of Renal Nutrition*, **24**, 143-150. <https://doi.org/10.1053/j.jrn.2013.09.001>
- [20] Uwitonze, A.M., Murererehe, J., Ineza, M.C., Harelimana, E.I., Nsabimana, U., Uwambaye, P., Gatarayiha, A., Haqd, A. and Razzaque, M.S. (2017) Effects of Vitamin D Status on Oral Health. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, **175**, 190-194. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2017.01.020>
- [21] Jean, G., Souberbielle, J.C. and Chazot, C. (2017) Vitamin D in Chronic Kidney Disease and Dialysis Patients. *Nutriments*, **9**, Article No. 328. <https://doi.org/10.3390/nu9040328>
- [22] Nigwekar, S.U., Tamez, H. and Thadhani, R.I. (2014) Vitamin D and Chronic Kidney Disease-Mineral Bone Disease (CKD-MBD). *BoneKEy Reports*, **3**, Article No. 498. <https://doi.org/10.1038/bonekey.2013.232>
- [23] Jones, G., Prosser, D.E. and Kaufmann, M. (2014) Cytochrome P450-Mediated Metabolism of Vitamin D. *Journal of Lipid Research*, **55**, 13-31. <https://doi.org/10.1194/jlr.R031534>
- [24] Chang, S.K. and Soo, W.K. (2014) Vitamin D and Chronic Kidney Disease. *The Korean Journal of Internal Medicine*, **29**, 416-427. <https://doi.org/10.3904/kjim.2014.29.4.416>
- [25] Chesney, R.W. (2016) Interactions of Vitamin D and the Proximal Tubule. *Pediatric Nephrology*, **31**, 7-14. <https://doi.org/10.1007/s00467-015-3050-5>
- [26] Kuro, O.M. (2018) Klotho and Endocrine Fibroblast Growth Factors: Marker of Chronic Kidney Disease Progression and Cardiovascular Complications? *Nephrology Dialysis Transplantation*, **34**, 15-21. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfy126>
- [27] Chitalia, N., Recio-Mayoral, A., Kaski, J.C. and Banerjee, D. (2012) Vitamin D Deficiency and Endothelial Dysfunction in Non-Dialysis Chronic Kidney Disease Patients. *Atherosclerosis*, **220**, 265-268. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2011.10.023>
- [28] Negrea, L. (2018) Active Vitamin D in Chronic Kidney Disease: Getting Right Back Where We Started from? *Kidney Diseases*, **5**, 59-68. <https://doi.org/10.1159/000495138>

RESUME

Cette étude a été menée dans le but de contribuer à l'amélioration de la prise en charge médicale des patients insuffisants rénaux non dialysés et les hémodialysés. Elle a porté sur 138 sujets adultes (46 patients insuffisants rénaux non dialysés, 46 patients hémodialysés chroniques et de 46 volontaires en bonne santé pour servir de témoins). Les concentrations sériques des paramètres biochimiques ont été mesurées sur l'automate Cobas C311 Hitachi. La numération formule sanguine et la numération des réticulocytes ont été réalisées à l'aide de l'automate XN-1000i de SYSMEX. Le dosage de l'érythropoïétine a été effectué sur la chaîne ELISA. Les concentrations sériques de la parathormone et de la vitamine D ont été mesurées à l'aide de l'automate Cobas 6000. La concentration en érythropoïétine des témoins était significativement plus élevée que les insuffisants rénaux non dialysés et les patients dialysés. Les concentrations en 25-hydroxyvitamine D chez les témoins et les dialysés ont été significativement plus élevées que celle des patients IRC. Par contre, les valeurs moyennes de la Parathormone chez les dialysés et les patients IRC ont été très élevées comparativement à celle des témoins. L'anémie chez les insuffisants rénaux chroniques (patients IRC et hémodialysé) est essentiellement due à une baisse de la concentration en érythropoïétine. Cependant, les marqueurs biochimiques du métabolisme du fer ont permis d'attirer notre attention sur l'origine inflammatoire de l'anémie chez ces sujets. L'hyperparathyroïdie secondaire constitue une complication métabolique majeure observée dans cette étude. Elle est due à un ensemble de facteurs qui s'imbrique tels que les troubles du métabolisme phosphocalcique et la baisse de la teneur en 25-hydroxyvitamine D. L'anémie dans l'insuffisance rénale chronique serait due à un déficit en érythropoïétine mais également à une exacerbation de l'inflammation avec une perturbation du bilan martial. L'hyperparathyroïdie secondaire est fréquente dans l'insuffisance rénale. Le dosage de la parathormone et de la 25-hydroxyvitamine D serait adéquat pour une meilleure prise en charge de l'insuffisance rénale chronique.

Mots clés : 25-hydroxyvitamine D, Côte d'Ivoire, érythropoïétine, parathormone, hyperparathyroïdie secondaire, insuffisants rénaux chroniques.

ABSTRACT

This study was conducted with the aim of contributing to the improvement of the medical management of non-dialysis kidney patients and haemodialysis patients. It involved 138 adult subjects (46 non-dialysis kidney patients, 46 chronic haemodialysis patients and 46 healthy volunteers as controls). Serum concentrations of biochemical parameters were measured on the Cobas C311 Hitachi machine. CBC and reticulocyte counts were performed on the SYSMEX XN-1000i. Erythropoietin assay was performed on the ELISA chain. The serum concentrations of parathyroid hormone and vitamin D were measured with the Cobas 6000. The erythropoietin concentration of the controls was significantly higher than that of the non-dialysis renal failure patients and the dialysis patients. The 25-hydroxyvitamin D concentrations in controls and dialysis patients were significantly higher than in CKD patients. In contrast, mean Parathyroid hormone values in dialysis and CKD patients were very high compared to controls. Anemia in chronic renal failure (CKD and haemodialysis patients) is mainly due to a decrease in erythropoietin concentration. However, biochemical markers of iron metabolism have drawn our attention to the inflammatory origin of anaemia in these subjects. Secondary hyperparathyroidism is a major metabolic complication observed in this study. It is due to a combination of interrelated factors such as disturbances in phosphocalcium metabolism and decreased 25-hydroxyvitamin D levels. Anemia in chronic renal failure is thought to be due to an erythropoietin deficiency but also to an exacerbation of inflammation with a disturbance of the martial balance. Secondary hyperparathyroidism is common in renal failure. Parathyroid hormone and 25-hydroxyvitamin D measurement would be adequate for a better management of chronic renal failure.

Key words: 25-hydroxyvitamin D, Ivory Coast, erythropoietin, parathyroidism, secondary hyperparathyroidism, chronic renal failure.