

ERYTHROPOÏÉTINE : UTILISATION DIAGNOSTIQUE ET THERAPEUTIQUE ⁽¹⁾

Y. Beguin (2), G. Fillet (3)

RESUME

L'érythropoïétine est une hormone produite par le rein en réponse à une hypoxie rénale et qui stimule l'activité érythropoïétique de la moelle osseuse. Le dosage de l'érythropoïétine sérique, toujours interprété en fonction de l'hématocrite circulant, est utile dans le diagnostic différentiel des polyglobulies et dans certains cas particuliers d'anémie. L'utilisation thérapeutique de l'érythropoïétine recombinante a permis de corriger l'anémie de l'insuffisance rénale chronique et est actuellement étudiée dans d'autres indications telles que les anémies inflammatoires.

INTRODUCTION

L'érythropoïétine est une hormone dont l'existence a été soupçonnée dès le XIX^e siècle lorsque l'on a constaté que le taux d'hémoglobine s'élevait chez des personnes qui séjournaient de façon prolongée en altitude. C'est finalement dans les années 50 qu'il a été démontré d'abord qu'une telle hormone existait et était éliminée dans les urines, ensuite qu'elle était produite par le rein. L'érythropoïétine a, pour la première fois, été purifiée à partir de l'urine de patients atteints d'anémie aplastique en 1977 et sa structure a alors pu être élucidée. Le gène codant pour l'érythropoïétine a ensuite été cloné et il a été possible de produire de grandes quantités d'érythropoïétine par génie génétique, ce qui a permis de développer les multiples applications diagnostiques et thérapeutiques que l'on connaît aujourd'hui.

* (1) Conférence présentée le 13 mai 1990 dans le cadre des Journées d'Enseignement postuniversitaire de la Faculté de Médecine de Liège.

(2) Assistant, (3) Chargé de Cours, Université de Liège, CHU, Département de Médecine, Service d'Hématologie.

Revue médicale de Liège, XLV, 6 - 1990, p. 261-267.

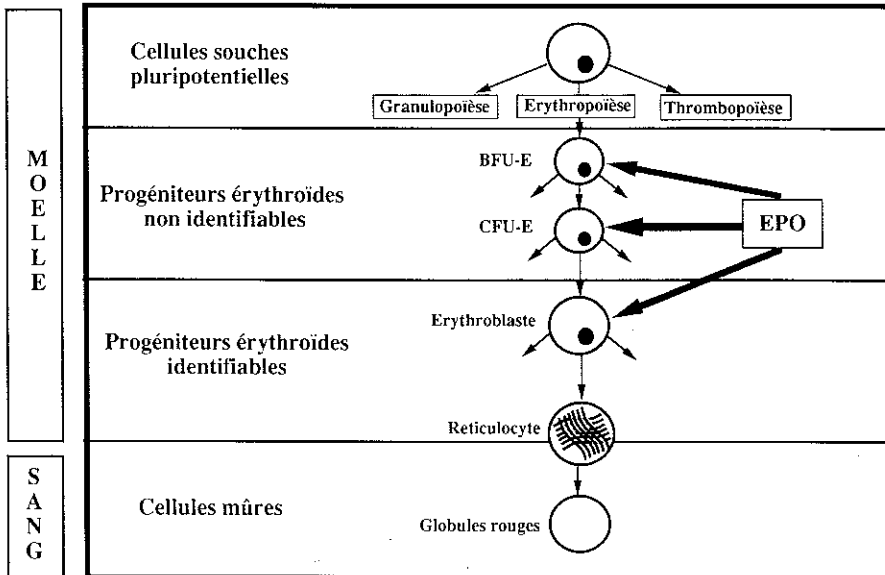


Fig. 1: Schéma de l'érythropoïèse et points d'impact de l'érythropoïétine (EPO).

PHYSIOLOGIE DE L'ERYTHROPOÏÉTINE

L'érythropoïétine est une protéine contenant 165 acides aminés et fortement glycosylée, ce qui lui donne un poids moléculaire total de 34.000 daltons. L'érythropoïétine est pour 90 % produite par le rein, et plus particulièrement par les cellules péri-tubulaires du cortex rénal et dans une moindre mesure de la médulla externe du rein. La nature exacte de ces cellules, endothéliales ou macrophagiques, n'a pas encore été déterminée. Dix pour cent de la production sont également dus au foie (cellules de Küpffer?) et à d'autres cellules macrophagiques; chez le fœtus, la production se fait essentiellement au niveau du foie. Les cellules productrices d'érythropoïétine ne contiennent pas de réserve de cette hormone. Cependant, la réponse à un stimulus hypoxique se fait rapidement sous la forme d'un accroissement de la transcription du gène pour l'érythropoïétine, situé sur le chromosome 7, suivi de la production et de l'excrétion d'un excès d'érythropoïétine déjà noté après 90 minutes.

L'érythropoïétine exerce son action sur les cellules cibles après s'être fixée sur des récepteurs spécifiques. On a identifié deux types de récepteurs, l'un de haute affinité et l'autre de faible affinité pour l'érythropoïétine, mais le rôle physiologique de ce dernier n'est pas bien élucidé. L'érythropoïétine exerce son action via un deuxième messager intracytoplasmique et la libération de calcium libre, mais la cible enzymatique exacte n'est pas encore connue. Ces récepteurs se retrouvent exclusivement sur les cellules de la lignée érythropoïétique (à l'exclusion des globules rouges mûrs). Comme indiqué dans la figure 1, la lignée érythropoïétique comprend plusieurs compartiments :

- 1) des cellules souches pluripotentielle capables de s'autorenouveler;
- 2) des progéniteurs érythropoïétiques non identifiables morphologiquement, mais ne pouvant plus se différencier que vers la lignée érythroïde : il existe des progéniteurs précoces

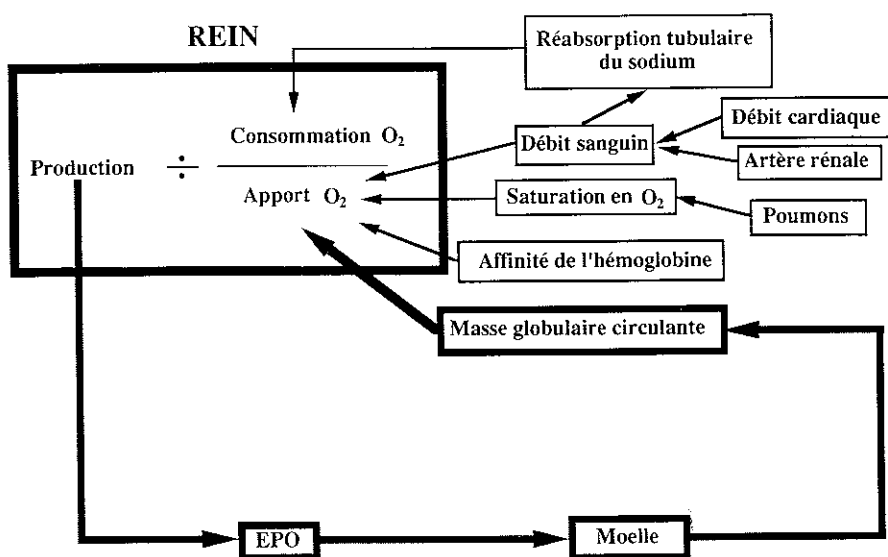


Fig. 2: Régulation de la production d'érythropoïétine (EPO) par le rein.

qui, en culture, forment des burstforming-units ou bfu-e, et des progéniteurs plus tardifs qui, en milieu de culture, forment des colony-forming-units ou cfu-e;

3) des progéniteurs identifiables morphologiquement et évoluant du proérythroblaste à l'érythroblaste et au réticulocyte;

4) les globules rouges mûrs circulants.

L'érythropoïétine a deux types d'action sur les différents précurseurs de la lignée rouge. D'une part, elle agit comme un stimulus mitogène surtout pour les cfu-e mais également pour les bfu-e, les proérythroblastes et les érythroblaste basophiles. L'érythropoïétine agit également comme agent de différenciation des cfu-e en proérythroblastes. Elle n'a aucune action sur les globules rouges circulants et ne semble pas non plus avoir d'effet stimulant sur la production de plaquettes et de globules blancs bien que l'une ou l'autre étude ait suggéré qu'il puisse y avoir un petit effet sur la mégakaryopoïèse.

Parmi tous les facteurs de croissance hématopoïétiques, l'érythropoïétine est le seul à fonctionner comme une hormone réelle (fig. 2). Le circuit principal de régulation est le suivant : la masse globulaire circulante (représentant la capacité totale sanguine de transport d'oxygène) détermine la production d'érythropoïétine par le rein, érythropoïétine qui va stimuler la moelle érythropoïétique à produire les globules rouges. Un certain nombre d'autres facteurs interviennent dans la régulation de la production de l'érythropoïétine, qui est proportionnelle à la consommation d'oxygène par le rein et inversement proportionnelle à l'apport d'oxygène dans cet organe. La réabsorption tubulaire du sodium, influencée par le débit sanguin rénal qui lui-même dépend du débit cardiaque global et de l'intégrité de l'artère rénale, détermine la consommation d'oxygène du rein. Le débit sanguin rénal, la saturation en oxygène du sang (dépendant essentiellement de la fonction pulmonaire) et l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène influencent également la quantité d'oxygène qui est apportée au niveau du

rein. Contrairement à ce qui se passe au niveau du glomus carotidien qui est sensible à la tension d'oxygène dans le sang artériel, le régulateur rénal est sensible à la tension d'oxygène du sang veineux.

Après injection iv, l'érythropoïétine présente une demi-vie d'environ 6 à 9 h. Les études *in vitro* ont montré que l'érythropoïétine est dégradée par les cellules cibles après avoir été fixée sur le récepteur spécifique, mais on ne sait pas si cela se passe également de la même façon *in vivo*. Il y a également une faible élimination urinaire de l'érythropoïétine et en cas de perte des résidus d'acide sialique, destruction de l'érythropoïétine décarboxylée au niveau de l'hépatocyte.

DOSAGE SÉRIQUE DE L'ERYTHROPOÏÉTINE

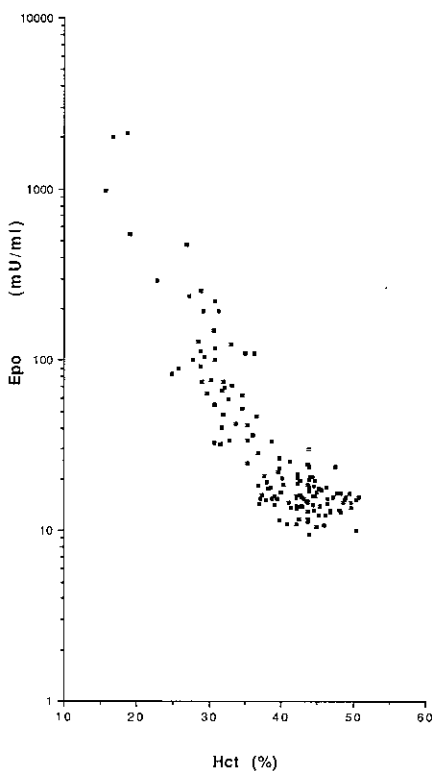


Fig. 3: Relation entre le taux sérique d'érythropoïétine et l'hématocrite sanguin.

La concentration sérique de l'érythropoïétine peut varier considérablement entre 0 et plus de 10.000 mU/ml. Chez les sujets normaux, l'érythropoïétine se situe généralement entre 10 et 20 mU/ml. L'adaptation physiologique de la production d'érythropoïétine dépendant essentiellement de la masse globulaire, il n'est pas étonnant de voir des variations importantes du taux sérique d'érythropoïétine se produire en fonction du taux de l'hémoglobine ou de l'hématocrite sanguin (fig. 3). Lorsque celui-ci augmente, comme dans la polyglobulie primitive ou à l'occasion d'hypertransfusion, le taux d'érythropoïétine diminue sans jamais cependant disparaître totalement. Lorsqu'une anémie se développe, le taux d'érythropoïétine s'élève d'abord lentement jusqu'à un hématocrite d'environ 38 %, puis s'élève exponentiellement pour des hématocrites plus bas. C'est le cas quelle que soit l'origine de l'anémie et notamment pour les anémies aplasiques ou hypoplasiques, hémolytiques, ferriprives ou encore dysérythropoïétiques (mégaloblastique, syndrome myéloprolifératif, thalassémie). Indépendamment de l'hématocrite circulant, le taux d'érythropoïétine sérique s'élève également de façon appropriée en présence d'une insuffisance respiratoire chronique, de cardiopathie congénitale, ou encore en cas d'hémoglobine anormale à haute affinité pour l'oxygène (tableau I).

Le taux d'érythropoïétine sérique peut également être abaissé de façon inappropriée pour le degré d'anémie présente. C'est bien entendu le cas dans l'insuffisance rénale chronique puisque l'organe de production de l'érythropoïétine est en bonne partie détruit. Cela s'ob-

<i>Diminution du taux d'EPO</i>	
Physiologique	- Polyglobulie primitive - Hypertransfusion - Oxygénothérapie hyperbare
Inappropriée	- Insuffisance rénale chronique, néphrectomie bilatérale - Inflammation (cancer, infection, SIDA, maladies rhumatismales) - Greffe de moelle allogénique
<i>Augmentation du taux d'EPO</i>	
Physiologique	- Anémies - ferriprive - hypoplasique - aplasique - hémolytique - dysérythropoïétique (mégaloblastique, thalassémie, syndromes myéloprolifératifs) - Insuffisance respiratoire chronique - Cardiopathies congénitales cyanogènes - Hémoglobines anormales (haute affinité pour l'O ₂)
Inappropriée	- Tumeurs hypernéphrome hépatome myome utérin hémangiome du cervelet - Reins polykystiques - Sténose d'artère rénale - Greffe rénale (10 % des cas) - Hépatite aiguë

Tableau 1. Anomalies du taux d'érythropoïétine sérique.

serve également lors de néphrectomie bilatérale mais il faut remarquer que même dans ce cas, le taux n'est jamais égal à 0 en raison de la persistance d'une petite sécrétion au niveau hépatique. L'anémie inflammatoire ou encore « anemia of chronic disorders » s'accompagne également d'une insuffisance de production d'érythropoïétine par rapport au degré d'anémie observé. Ceci a été démontré dans certaines maladies rhumatismales et notamment l'arthrite rhumatoïde, dans certains cancers, certaines infections chroniques et dans le SIDA. Enfin, nous avons mené une étude qui a démontré que la production d'érythropoïétine après greffe de moelle allogénique, mais pas après greffe de moelle autologue, était également insuffisante. Le taux d'érythropoïétine sérique peut également augmenter de façon inappropriée, provoquant alors une polyglobulie secondaire non physiologique. Ceci a été notamment observé dans certaines tumeurs comme l'hypernéphrome, l'hépatome, le myome utérin ou l'hémangiome du cervelet, en présence de reins polykystiques, d'une sténose de l'artère rénale, dans certains cas après greffe rénale, ou encore au cours d'une hépatite aiguë.

Les méthodes de dosage de l'érythropoïétine sérique sont restées extrêmement laborieuses jusque récemment. Il s'agissait de bio-essais consistant en l'injection d'un extrait de l'urine ou du plasma du sujet chez lequel on désirait obtenir un dosage, à une souris rendue polycy-

thémique dans une atmosphère hypoxémique. Après injection de fer radioactif par voie iv, on mesurait la proportion de la radioactivité qui se retrouvait dans les globules rouges après quelques jours. Actuellement, et surtout depuis la production de grandes quantités d'érythropoïétine par génie génétique, des mesures par méthode immunologique, notamment RIA et ELISA, sont apparues et le dosage de l'érythropoïétine peut quasi entrer en routine. L'intérêt principal de ce dosage réside dans le diagnostic différentiel des polyglobulies secondaires (à une sécrétion excessive d'érythropoïétine physiologique ou inappropriée) ou primitives (prolifération tumorale de la moelle érythropoïétique dans la maladie de Vaquez). Un dosage supérieur à la normale indique toujours la présence d'une polyglobulie secondaire mais un dosage normal peut se retrouver aussi bien dans une polyglobulie primitive qu'une polyglobulie secondaire. Un autre intérêt du dosage réside dans le diagnostic de certaines anémies dont l'étiologie n'apparaît pas après les investigations biologiques et de ponction de moelle habituelles. Il faut cependant garder à l'esprit, comme le montre la figure 3, qu'un dosage isolé d'érythropoïétine n'a aucune valeur si l'on ne dispose pas de la valeur hématocrite le même jour : en effet un taux d'érythropoïétine «normal» de 15 mU/ml est en fait diminué de façon tout à fait inappropriée si l'hématocrite est de 25 % ; de même une valeur d'érythropoïétine augmentée à 800 mU/ml représente une adaptation tout à fait normale à un hématocrite de 20 %.

UTILISATION THERAPEUTIQUE DE L'ERYTHROPOÏÉTINE RECOMBINANTE

1. Insuffisance rénale en hémodialyse

Depuis 1986, de grandes quantités d'érythropoïétine produites par génie génétique sont devenues disponibles pour l'utilisation en thérapeutique humaine. L'indication de choix est bien sûr l'anémie de l'insuffisance rénale où la thérapeutique par érythropoïétine représente le remplacement de l'hormone qui n'est plus produite. Les deux premières études chez des patients atteints d'insuffisance rénale chronique sous hémodialyse ont été publiées respectivement par Winearls et coll. et par Eschbach et coll., en Angleterre et aux Etats-Unis. Ces études ont montré que le traitement par érythropoïétine administrée par voie iv 3 fois/semaine après dialyse, permettait de corriger l'anémie, de maintenir un taux d'hématocrite supérieur à 30 % sans transfusion et ainsi d'augmenter le confort et la qualité de vie des malades. Plusieurs doses ont été utilisées chez les premiers malades traités ; les doses les plus basses (15 U/kg 3 fois/semaine) se sont avérées insuffisantes tandis que les doses les plus fortes (500 U/kg 3 fois/semaine) provoquaient une correction très rapide de l'hématocrite circulant mais étaient accompagnées d'une incidence prohibitive d'hypertension artérielle pouvant s'accompagner de crises convulsives. Depuis lors, on s'est rendu compte que l'hypertension n'était pas provoquée par l'érythropoïétine elle-même mais par l'adaptation hémodynamique à l'augmentation de la masse globulaire circulante et notamment à l'augmentation des résistances vasculaires périphériques. Des doses intermédiaires (de 40 à 100 U/kg 3 fois/semaine) sont maintenant recommandées de façon à corriger l'anémie de façon plus progressive sur une période de 3 mois environ. Lorsque l'hématocrite cible, généralement 30 %, est atteint, la dose d'érythropoïétine peut souvent être diminuée à une dose d'entretien plus faible. L'anémie de l'insuffisance rénale chronique est probablement multifactorielle. L'élément déterminant est l'insuffisance de production d'érythropoïétine. Cependant les pertes sangui-

nes, notamment dans le circuit de dialyse, une petite hémolyse chronique, la présence hypothétique d'inhibiteurs de l'érythropoïèse, la myélofibrose secondaire à l'hyperparathyroïdie, une intoxication par l'aluminium, les phénomènes infectieux, les déficits en fer et les autres déficits nutritionnels, par exemple en acide folique ou en protéines, peuvent contribuer à cette anémie et gêner la réponse au traitement par érythropoïétine. Il faudra donc être particulièrement attentif à donner des suppléments en fer suffisants pour maintenir un taux de ferritine supérieur à 100 ng/ml, à traiter rapidement tous les phénomènes infectieux, à maintenir un apport correct en acide folique et à traiter l'intoxication aluminique par desferrioxamine ainsi qu'à prévenir et traiter l'hyperparathyroïdisme.

2. *Autres indications.*

L'érythropoïétine recombinante a également été utilisée pour le traitement d'autres malades que les insuffisants rénaux en hémodialyse. Plusieurs études ont montré que le traitement par érythropoïétine recombinante à des doses de 50 à 100 U/kg 3 fois/semaine permettait de corriger également l'anémie des insuffisants rénaux non encore dialysés sans provoquer de détérioration de leur fonction rénale.

L'érythropoïétine recombinante a été aussi utilisée avec succès dans le traitement de l'anémie inflammatoire ou encore « anemia of chronic disorders ». L'érythropoïétine a notamment été donnée pour le traitement de certains patients atteints d'arthrite rhumatoïde et des études plus larges sont actuellement en cours pour évaluer la place de l'érythropoïétine dans cette indication. D'autres études ont montré que l'érythropoïétine était également capable de corriger l'anémie secondaire à un cancer ou encore l'anémie de malades atteints de SIDA, notamment ceux traités par AZT. Plusieurs études sont actuellement en cours dans ces différentes affections pour mieux définir la place de l'érythropoïétine dans le traitement de leur anémie. L'érythropoïétine recombinante a été également utilisée pour des patients chez lesquels on devait prélever des sacs de sang en vue d'une autotransfusion pour une intervention chirurgicale. Dans cette indication les personnes qui sont traitées par érythropoïétine sont capables de donner une plus grande quantité de leur propre sang et donc d'éviter de devoir être aussi transfusées en sang hétérologue.

Enfin, une observation intéressante a été faite dans l'anémie falciforme dans laquelle le traitement par érythropoïétine recombinante permet d'augmenter significativement le taux d'hémoglobine fœtale par rapport au taux d'hémoglobine sanguine. Des études complémentaires sont menées pour déterminer si cette élévation d'hémoglobine fœtale s'accompagne également d'un bénéfice clinique, c'est-à-dire d'une diminution de la fréquence et de l'importance des crises hémolytiques.

Par rapport à la voie iv, l'injection d'érythropoïétine par voie sous-cutanée présente actuellement à la fois un avantage pratique et un avantage clinique puisque une même dose injectée par voie sous-cutanée est un peu plus efficace que si elle est injectée par voie iv, en raison d'une pharmacocinétique plus favorable.

CONCLUSIONS

L'administration d'érythropoïétine recombinante a permis de résoudre dans une large mesure le problème de l'anémie de l'insuffisance rénale chronique en dialyse ou en pré-dialyse.

Elle permet d'éviter les transfusions sanguines dont les effets secondaires peuvent devenir considérables à long terme en raison de la transmission d'infections virales, notamment hépatite et HIV, de l'hémochromatose secondaire de la diminution des défenses immunitaires, et des réactions immunologiques de type hémolyse aiguë et immunisation à long terme. Un traitement par érythropoïétine recombinante coûte plusieurs centaines de milliers de francs par an chez un dialysé. Les bénéfices de cette thérapeutique chez ce type de patient semblent cependant justifier la dépense. L'utilisation de l'érythropoïétine dans d'autres indications restera probablement plus limitée en fonction du rapport entre le coût et le bénéfice thérapeutique, notamment dans les anémies inflammatoires ou dans le problème de l'autotransfusion.

Remerciements

Nous remercions G. Weber, Ph. D. (Service de Physique nucléaire expérimentale) pour la réalisation des figures.

BIBLIOGRAPHIE

1. BAER, A.B., DESSYPRIS, E.N., GOLDWASSER, E., KRANTZ, S.B. - *Blunted erythropoietin response to anaemia in rheumatoid arthritis*. Brit. J. Haemat., 1987, 66, 559-564.
2. COTES, P.M., DORE, C.J., LIU YIN, J.A., LEWIS, S.M., MESSINEZY, M., PEARSON, T.C., REID, C. - *Determination of serum immunoreactive erythropoietin in the investigation of erythrocytosis*, New Engl. J. Med., 1986, 315, 283-287.
3. ECKARDT, K.U., BAUER, C. - *Erythropoietin in health and disease*. Europ. J. clin. Invest., 1989, 19, 117-127.
4. ERSLEV, A.J., SCHUSTER, J., CARO, J. - *Erythropoietin and its clinical promise*. Europ. J. Haemat., 1989, 43, 367-373.
5. ESCHBACH, J.W., EGRIE, J.C., DOWNING, M.R., BROWNE, J.K. ADAMSON, J.W. - *Correction of the anemia of end-stage renal disease with recombinant human erythropoietin. Results of a combined phase I and II clinical trial*. New Engl. J. Med., 1987, 316, 73-78.
6. ESCHBACH, J.W., KELLY, M.R., HALEY, N.R., ABELS, R.I., ADAMSON, J.W. - *Treatment of the anemia of progressive renal failure with recombinant human erythropoietin*, New Engl. J. Med., 1989, 321, 158-163.
7. GARCIA, J.F., EBBE, S.N., HOLLANDER, L., CUTTING, H.O., MILLER, M.E., CRONKITE, E.P. - *Radioimmunoassay of erythropoietin: circulating levels in normal and polycythemic human beings*. J. Lab. clin. Med., 1982, 99, 624-634.
8. GOODNOUGH, L.T., RUDNICK, S., PRICE, T.H., BALLAS, S.K., COLLINS, M.L., CROWLEY, J.P., KOSMIN, M., KRUSKALL, M.S., LENES, B.A., MENITOVE, J.E., SILBERSTEIN, L.E., SMITH, K.J., WALLAS, C.H., ABELS, R., VON TRESS, M. - *Increased preoperative collection of autologous blood with recombinant human erythropoietin therapy*. New Engl. J. Med., 1989, 321, 1163.
9. LIN, F.K., SUGGS, S., LIN, C.H., BROWNE, K., SMALLING, R., EGRIE, J.C., CHEN, K.K., FOX, G.M., MARTIN, F., STABINSKY, Z., BADRAWI, S.M., LAI, P.H., GOLDWASSER, E. - *Cloning and expression of the human erythropoietin gene*. Proc., nat. Acad., Sci. USA, 1985, 82, 7580-7584.
10. WINEARLS, C.G., OLIVER, D.O., PIPPARD, M.J., REID, C., DOWNING, M., COTES, P.M. - *Effect of human erythropoietin derived from recombinant DNA on the anaemia of patients maintained by chronic haemodialysis*. Lancet. 1986, II, 1175-1177.