

Table des matières	Page
LISTE DES PRINCIPALES ABREVIATIONS	2
LISTE DES FIGURES	3
LISTE DES TABLEAUX	5
INTRODUCTION.....	7
PARTIE I :	11
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	11
I – RAPPELS ANATOMIQUES DU REIN	12
II – ASPECTS PHYSIOLOGIQUES DU REIN	16
III – METHODES DE MESURE DU DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE..	29
IV – EQUATIONS D’ESTIMATION DU DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE CHEZ L’ADULTE.....	36
PARTIE II :	44
ETUDE EXPERIMENTALE.....	44
Chapitre 1 : MATERIEL ET METHODES	45
I- MATERIEL.....	46
II- METHODES	52
Chapitre 2 : RESULTATS ET COMMENTAIRES	63
I- MESURE DU DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE PAR LA CLAIRANCE PLASMATIQUE DE L’IOHEXOL.....	65
II- DETERMINATION DES MARQUEURS SERIQUES IMPLIQUES DANS L’ESTIMATION DU DFG.....	69
III- ESTIMATION DU DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE A PARTIR DES EQUATIONS	74
IV- PERTINENCE DE L’APPLICATION DU FACTEUR ETHNIQUE AFRO- AMERICAIN CHEZ LES NOIRS AFRICAINS	77
V- COMPARAISON DES PERFORMANCES DES EQUATIONS D’ESTIMATION DU DFG.....	82
Chapitre 3 : DISCUSSION	91
I- MESURE DU DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE PAR LA CLAIRANCE PLASMATIQUE DE L’IOHEXOL.....	92
II- DETERMINATION DES MARQUEURS SERIQUES IMPLIQUES DANS L’ESTIMATION DU DFG.....	97
III- PERTINENCE DE L’APPLICATION DU FACTEUR ETHNIQUE AFRO- AMERICAIN CHEZ LES NOIRS AFRICAINS	100
IV- COMPARAISON DES PERFORMANCES DES EQUATIONS D’ESTIMATION DU DFG.....	104
CONCLUSION	108
PERSPECTIVES.....	111
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	113
PUBLICATIONS	134

LISTE DES PRINCIPALES ABREVIATIONS

DFG : Débit de filtration glomérulaire

DFGm : Débit de filtration glomérulaire mesuré

DFGe : Débit de filtration glomérulaire estimé

MDRD : Modification of Diet in Renal Disease

CG : Cockcroft et Gault

CKD-Epi : Chronic kidney disease epidemiology collaboration

IDMS : Isotope dilution mass spectrometry

MRC : Maladie rénale chronique

ASC : Aire sous la courbe

BSA: Body Surface Area

SC : Surface corporelle

AA : Africain-Américain

LCMS : Liquid Chromatography coupled to Mass Spectrometry

LISTE DES FIGURES**Page**

- Figure 1: Coupe longitudinale du rein 13
- Figure 2: Structure schématique d'un néphron..... 14
- Figure 3: Coupe détaillée d'un glomérule 15
- Figure 4: : Déterminants hémodynamiques de la filtration glomérulaire. 19
- Figure 5 : Profil des concentrations plasmatiques du marqueur (exo-
iohexol) en fonction du temps après administration intraveineuse (Le
Garreres et coll 2007)..... 24
- Figure 6: Exemple d'une courbe de décroissance plasmatique dans le
modèle monocompartimental..... 26
- Figure 7: Représentation graphique de la courbe de décroissance
plasmatique du marqueur dans le modèle bicompartimental 27
- Figure 8: Schéma de principe d'une chaîne HPLC 49
- Figure 9: Schéma du principe de dosage immunoturbidimétrique de la
cystatine C..... 59
- Figure 10: Distribution des DFGm par iohexol dans la population de
sujets sains..... 66
- Figure 11: Distribution de la créatininémie dans l'ensemble de la
population..... 70
- Figure 12: Distribution de la cystatine C dans l'ensemble de la population
..... 72
- Figure 13: Box plot des DFGe estimés 75

- Figure 14: Courbes de régression linéaire de la clairance de l'iohexol avec les équations MDRD sans facteur (A), MDRD avec facteur (B), CKD-Epi créat sans facteur (C), CKD-Epi créat avec facteur (D) 79
- Figure 15: Courbes de Bland-Altman comparaison de la clairance de l'iohexol avec les équations MDRD sans facteur (A), MDRD avec facteur (B), CKD-Epi créat sans facteur (C), CKD-Epi créat avec facteur (D) ... 80
- Figure 16: Courbes de régression linéaire ; comparaison de la clairance de l'iohexol avec les équations MDRD sans facteur (A), CKD-Epi créat sans facteur (B), CKD-Epi cys (C), CKD-Epi cys combinée (D), Cockcroft (E) 85
- Figure 17: Courbes de Bland-Altman, comparaison de la clairance de l'iohexol avec les équations MDRD sans facteur (A), CKD-Epi créat sans facteur (B), CKD-Epi cys (C), CKD-Epi cys combinée (D), Cockcroft (E) 86

<u>LISTE DES TABLEAUX</u>	<u>Page</u>
<u>Tableau I</u> : Principales équations d'estimation du débit de filtration glomérulaire (DFG) basées sur la créatinine sérique.....	37
<u>Tableau II</u> : Principales formules d'estimation du débit de filtration glomérulaire (DFG) basées sur la cystatine C plasmatique (CysC).....	42
<u>Tableau III</u> : Caractéristiques de la population d'étude	47
<u>Tableau IV</u> : Contrôles interne de dosage de l'iohexol.....	57
<u>Tableau V</u> : Valeurs moyennes des DFGm par iohexol dans la population d'étude	66
<u>Tableau VI</u> : DFGm par iohexol en fonction de l'âge dans l'ensemble de la population.....	67
<u>Tableau VII</u> : DFGm par iohexol en fonction de l'âge dans la population de sexe féminin.....	67
<u>Tableau VIII</u> : DFGm par iohexol en fonction de l'âge dans la population de sexe masculin.....	67
<u>Tableau IX</u> : Concentrations sériques de la créatinine dans l'ensemble de la population.....	70
<u>Tableau X</u> : Concentrations sériques de la créatinine en fonction du genre.....	71
<u>Tableau XI</u> : Concentrations sériques de la créatinine (mg/dL) en fonction de l'âge et du genre	71
<u>Tableau XII</u> : Concentrations sériques de la cystatine C dans l'ensemble de la population.....	72
<u>Tableau XIII</u> : Concentrations sériques de la cystatine C en fonction du genre..	73
<u>Tableau XIV</u> : Concentrations sériques de la cystatine C en fonction de l'âge...	73
<u>Tableau XV</u> : DFGe par calcul à partir de la créatinine dans l'ensemble de la population.....	75
<u>Tableau XVI</u> : DFGe estimés par calcul à partir de la cystatine dans l'ensemble de la population	76

<u>Tableau XVII</u> : Indicateurs de performance des formules d'estimation du DFG avec et sans le facteur ethnique afro-américain dans l'ensemble de la population saine	78
<u>Tableau XVIII</u> : Indicateurs de performance des formules du DFGe basées sur la créatinine et/ou la cystatine dans l'ensemble de la population	84
<u>Tableau XIX</u> : Indicateurs de performance des formules du DFGe basées sur la créatinine et/ou la cystatine C en fonction du genre	88
<u>Tableau XX</u> : Indicateurs de performance des formules du DFGe basées sur la créatinine et/ou la cystatine C en fonction de l'âge	89
<u>Tableau XXI</u> : Indicateurs de performance des formules du DFGe basées sur la créatinine et/ou la cystatine C en fonction de l'IMC (kg/m^2)	90

INTRODUCTION

La maladie rénale chronique est un problème de santé publique aussi bien dans les pays développés que dans les pays en développement où elle affecte toutes les races et groupes ethniques [1–3]. En Afrique, selon les données hospitalières, l'insuffisance rénale chronique représente 2 à 10% des admissions et est impliquée dans 4 à 22% [4] des décès. Elle serait même sous-estimée particulièrement dans les pays en voie de développement.

En phase terminale de la maladie, les seuls traitements que sont l'épuration extrarénale ou la transplantation demeurent encore peu accessibles dans les pays au sud du Sahara où la proportion de patients pris en charge par ces traitements est estimée à moins de 5% de l'ensemble des patients traités dans le monde [3]. Aussi, le dépistage précoce de la maladie rénale chronique constitue-t-il dans ces pays une stratégie primordiale de prise en charge.

Cependant, la clairance urinaire de la créatinine basée sur la récolte des urines de 24 heures est souvent sujette à de multiples erreurs [5,6] surtout pour les sujets non sondés et en ambulatoire .

Par ailleurs, les méthodes de référence basées sur la détermination de la clairance de marqueurs exogènes tels que l'inuline, les dérivés iodés (iohexol, iothalamate), et les radio-isotopes marqués (^{51}Cr -EDTA, ^{99}Tc -DTPA) ont l'avantage d'être précises mais sont relativement onéreuses et compliquées à mettre en œuvre en routine. Elles nécessitent en effet, des protocoles délicats et un équipement pas toujours disponible particulièrement dans les pays en voie de développement.

Pareillement, comme le recommandent les directives des comités d'experts internationaux NFK-QDOQI (national kidney foundation kidney disease outcome quality initiative) et KDIGO (kidney disease improving global outcome) [7], l'estimation du débit de filtration glomérulaire (DFG) en routine représente une donnée fondamentale en néphrologie clinique.

Aussi, depuis plusieurs décennies, de nombreuses formules basées sur la créatininémie ont été proposées. Parmi elles, la célèbre formule de Cockcroft &

Gault (CG) élaborée en 1976 [8] et prenant en compte l'âge, le poids et le sexe a connu un grand succès en pratique médicale. Face à certaines limitations, notamment le fait qu'elle n'ait pas été développée à partir d'une méthode de référence, qu'elle soit trop sujette aux variations de la masse musculaire (ou aux poids extrêmes) et qu'elle soit finalement très imprécise, de nouvelles équations sont venues supplanter la formule de CG dans l'estimation du DFG.

D'abord, Levey et al ont élaboré en 1999 l'équation MDRD (Modification of Diet in Renal Disease), avec 6 variables [9]. Celle-ci a évolué pour être concentrée à 4 variables (âge, sexe, créatinine sérique, ethnie) tout en gardant la créatininémie comme paramètre principal [10].

Ensuite, l'équation CKD-Epi (Chronic kidney disease epidemiology collaboration) et ses variantes ont été proposées à partir de 2009 [10]. A côté de sa formule initiale basée sur la créatinine, des variantes incluant la cystatine C seule puis la combinaison créatinine – cystatine C sont actuellement recommandées.

Ces deux grandes équations et leurs variantes, présentent en commun l'usage d'un facteur ethno-racial notamment pour les populations de race noire.

S'il est vrai que de nombreuses études ont mis en évidence les performances de ces 2 équations dans diverses populations, il est également vrai que très rares sont les études menées chez des populations Africaines noires. Or il faut noter que, d'une part ces équations ont été établies à partir de sujets noirs Américains et d'autre part, que plusieurs auteurs soutiennent qu'une variable influencée par la race, développée dans une région géographique peut ne pas être applicable dans d'autres régions [11–13]; Ainsi à l'instar du facteur pour les Africains Américains, des facteurs ont été proposés pour les Chinois et les Japonais [14–17]. De plus, l'usage de ces facteurs pour les noirs Africains a été critiqué, notamment sur la base de données limitées en Europe et d'études réalisées en Afrique du Sud [13]. A ce jour, aucune donnée n'est disponible en Afrique de l'ouest.

Dès lors, il apparaît indispensable d'évaluer la pertinence de l'application de ces facteurs ethno-raciaux Afro-Américains, chez des populations noires Africaines en général et noires ouest-africaines en particulier.

Aussi, la présente étude vise t-elle les objectifs suivants :

OBJECTIF GENERAL

Identifier au sein d'une population de noirs africains, les marqueurs et formules de détermination du débit de la filtration glomérulaire (DFG) les plus appropriés.

OBJECTIFS SPECIFIQUES

- Mesurer le DFG d'une population noire Africaine par une méthode de référence : la clairance plasmatique de l'iohexol ;
- Déterminer à partir de la clairance de l'iohexol, les performances des formules d'estimation du DFG (CG, MDRD, CKD-Epi) chez le sujet noir Africain
- Evaluer la pertinence du facteur ethnique « k » actuellement préconisé pour les sujets noirs africains dans les formules MDRD et CKD-Epi;

Pour atteindre ces objectifs avons adopté la démarche suivante :

- Dans un premier chapitre, nous avons présenté à travers une revue de la littérature, la physiologie rénale et les méthodes de détermination du débit de filtration glomérulaire ;
- Dans un second chapitre, a été développé notre étude expérimentale en décrivant d'abord la méthodologie adoptée; ensuite les résultats obtenus ont été exposés et discutés avant de conclure.

PARTIE I :
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I – RAPPELS ANATOMIQUES DU REIN

I.1 - Macroscopie : Le rein [18,19]

Le rein est un organe pair en forme de haricot en position rétro péritonéale, localisé dans la région lombaire supérieure. Chaque rein est surmonté d'une glande surrénale et possède à sa face interne, une ouverture dénommée hile rénal.

La structure interne du rein est constituée de 2 zones distinctes (figure 1) :

- la médullaire, profonde centrale
- le cortex, périphérique.

La médullaire est formée par des cônes appelés les pyramides de Malpighi dont l'extrémité interne dénommée papille, fait saillie dans les calices et dont la base externe jouxte le cortex périphérique.

La médullaire comprend 2 parties ; la médullaire externe voisine du cortex et la médullaire interne qui forme la papille.

Le cortex coiffe la base des pyramides de Malpighi et s'insinue entre les pyramides constituant les colonnes de Bertin.

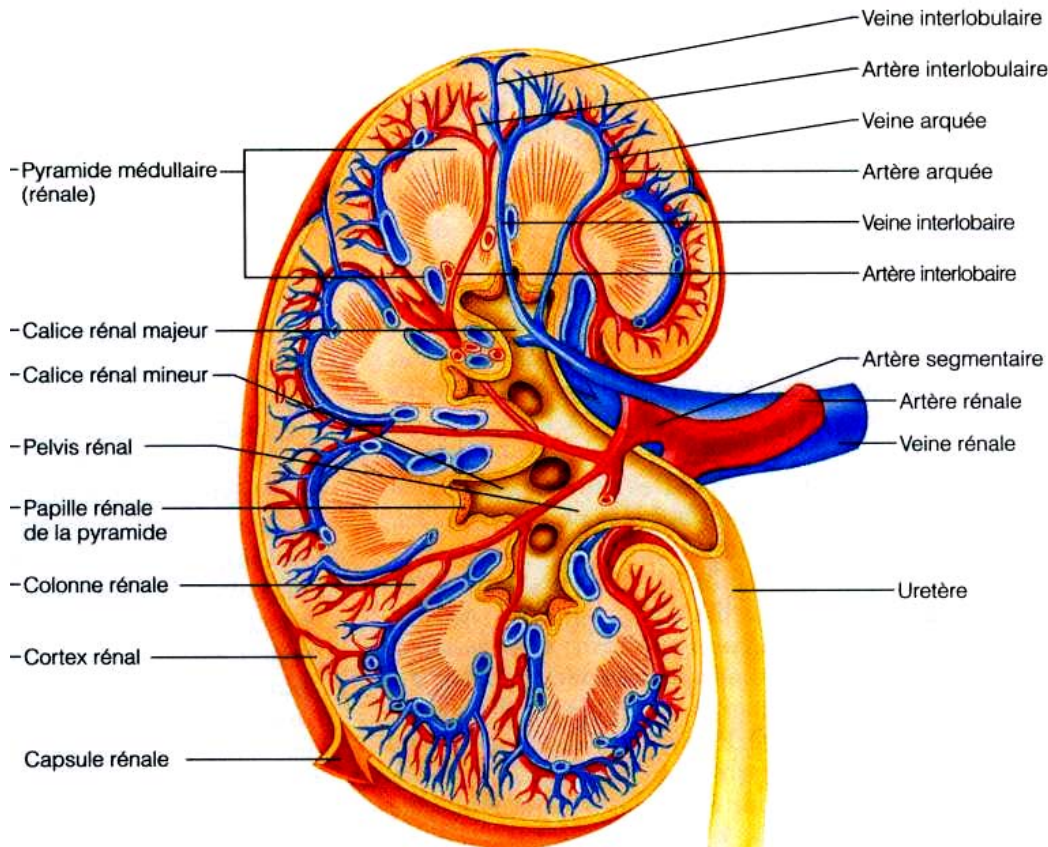


Figure 1: Coupe longitudinale du rein [20]

La vascularisation rénale est organisée comme suit ;

Au repos, les grosses artères rénales acheminent aux reins $\approx 1/4$ du débit cardiaque total (environ 1200 mL de sang/ min).

L'ordre d'enchaînement des différents types **artériels** pour chaque *rein* est le suivant : artère rénale \rightarrow artères segmentaires \rightarrow artères interlobaires \rightarrow artères arquées \rightarrow artères interlobulaires \rightarrow artérioles afférentes.

L'ordre d'enchaînement des différents types **veineux** pour chaque *rein* est le suivant : artérioles efférentes \rightarrow capillaires péri-tubulaires et vasa recta \rightarrow veines interlobulaires \rightarrow veines arquées \rightarrow veines interlobaires \rightarrow veine rénale.

I.2 - Microscopie : le néphron

Le néphron est l'unité fonctionnelle du rein. Chaque rein comporte au moins un million (1 000 000) de néphrons.

Chaque néphron comporte deux grandes parties (figure 2) :

- le corpuscule rénale ou corpuscule de malpighi
- le tubule rénal

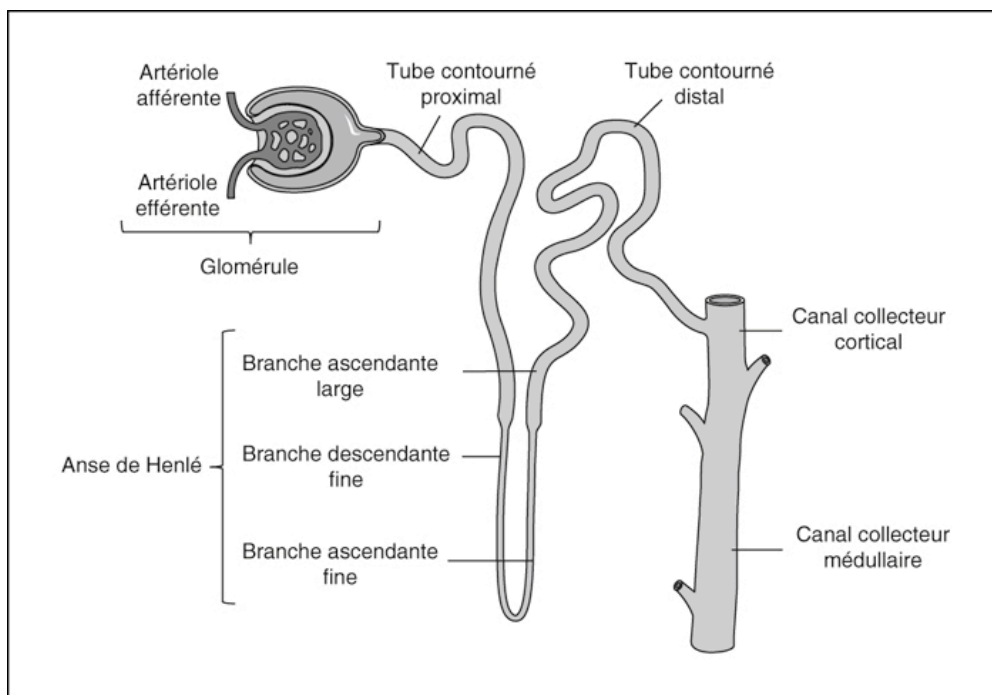


Figure 2: Structure schématique d'un néphron [21]

- Le corpuscule rénal correspond au segment initial du néphron, au niveau duquel s'effectue la filtration plasmatique qui permet la formation d'urine primitive. Il est constitué :
 - de la capsule de Bowman (ou capsule glomérulaire rénale)
 - du glomérule (ou glomérule de Malpighi) qui correspond à un bouquet de capillaires artériels maintenus par un tissu lâche, le mésangium. L'endothélium des capillaires glomérulaires est fenêtré permettant le

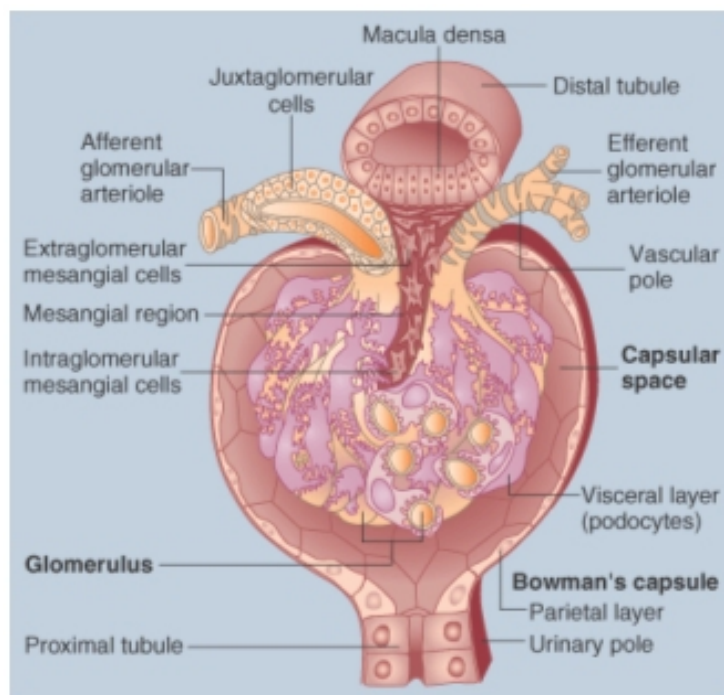
passage de grandes quantités de liquides et de solutés (mais une imperméabilité aux macromolécules supérieures à 68 Kdaldons).

Deux pôles peuvent donc être distingués dans le corpuscule de Malpighi (figure 3) :

- un pôle vasculaire : au niveau de la zone d'entrée de l'artère afférente et de sortie de l'artère efférente.
- un pôle urinaire à l'opposé du pôle vasculaire, où s'insère le tube contourné proximal.

L'appareil juxta-glomérulaire est la zone comprenant l'artériole afférente dans sa portion pré glomérulaire entourée du mésangium extra glomérulaire, l'artériole efférente, la macula densa (partie intégrante du tube contourné distal) de nombreuses terminaisons nerveuses orthosympathiques.

Pôle vasculaire



Pôle urinaire

Figure 3: Coupe détaillée d'un glomérule[22]

Le tubule rénal est constitué de 3 parties :

- le tubule contourné proximal (TCP) où débouche la capsule de Bowman,
- l'anse de Henlé,
- le tubule contourné distal (TCD) qui se jette dans un tubule rénal collecteur de Bellini.

II – ASPECTS PHYSIOLOGIQUES DU REIN

II.1 - Les fonctions du rein [23–26]

Les reins assurent aussi bien une fonction endocrine qu'une fonction exocrine.

II.1.1 - Fonction endocrine

Le rein assure une fonction endocrine et est le site de formation de plusieurs hormones :

- l'érythropoïétine (Epo)
- la forme active de la vitamine D
- la rénine partie du Système Rénine Angiotensine
- la prostaglandine et le système kinine kallikréine.

La sécrétion d'érythropoïétine (Epo) stimule la production des hématies par la moelle osseuse. L'activation de la vitamine D intervient dans la croissance ; la sécrétion de rénine intervient dans la régulation de la pression artérielle.

II.1.2 – Fonction exocrine

Le rein a pour fonction essentielle la formation de l'urine avec élimination des déchets et le maintien de l'équilibre ionique.

La formation de l'urine passe par deux étapes successives :

a) *La filtration glomérulaire qui* réalise un transfert par ultrafiltration d'une grande quantité de liquide plasmatique dépourvue de protéine de haut poids moléculaire depuis le compartiment capillaire des glomérules vers leur espace urinaire. L'ultrafiltrat obtenu constitue l'urine primitive.

b) *Les ajustements tubulaires* par des transferts bidirectionnels qui s'effectuent tout le long du tube urinifère sur l'urine primitive et déterminent la composition de l'urine finalement excrétée. Ces transferts passifs ou actifs s'effectuent dans 2 sens :

- De la lumière tubulaire vers le tissu interstitiel et les capillaires péri-tubulaires : ces transferts sont appelés réabsorption.
- Des capillaires péri-tubulaires vers la lumière tubulaire. Ces transferts sont appelés sécrétion.

Chez l'homme les phénomènes de réabsorption sont nettement plus importants que les phénomènes de sécrétion.

Nous ne détaillerons dans la suite, que la filtration glomérulaire.

II.2 - La filtration glomérulaire [21]

II.2.1 - Définition

La filtration glomérulaire correspond à un transfert unidirectionnel par ultrafiltration des capillaires vers la chambre urinaire aboutissant à la formation d'un ultrafiltrat constituant l'urine primitive. La surface et la perméabilité du filtre glomérulaire déterminent l'amplitude et la qualité du transfert.

Le débit de filtration glomérulaire est en moyenne situé entre 100 et 120 ml/min et de ce fait le volume filtré par 24 h est considérable, de l'ordre de 180 l/24h.

L'urine primitive a une composition ionique identique à celle du plasma quasiment dépourvu de protéine et sans macromolécule.

Le transfert glomérulaire est un processus passif d'ultrafiltration. La pression de filtration est la résultante algébrique des pressions hydrostatiques et oncotiques qui s'exercent de part et d'autre du filtre glomérulaire. La force motrice principale de ce transfert résulte de l'activité cardiaque.

II.2.2 - Forces impliquées

Les forces impliquées dans cette filtration comportent :

- Des forces favorisant la filtration :

*La pression hydrostatique capillaire (P_{cg}) est de l'ordre de 50 mm Hg.

*La pression oncotique de la capsule de Bowman (Π_{cB}) voisine de 0 compte tenu de l'absence de protéine dans la chambre urinaire.

- Des forces s'opposant à la filtration :

*La pression hydrostatique de la capsule de Bowman (P_{cB}) de l'ordre de 10 mm Hg.

*La pression oncotique des capillaires glomérulaires Π_{cg} de l'ordre de 30 mm Hg.

La pression efficace de filtration (PEF) est donc la résultante :

$$PEF = (P_{cg} + \Pi_{cB}) - (P_{cB} + \Pi_{cg})$$

Π_{cB} étant voisine de zéro :

$$PEF = P_{cg} - (P_{cB} + \Pi_{cg})$$

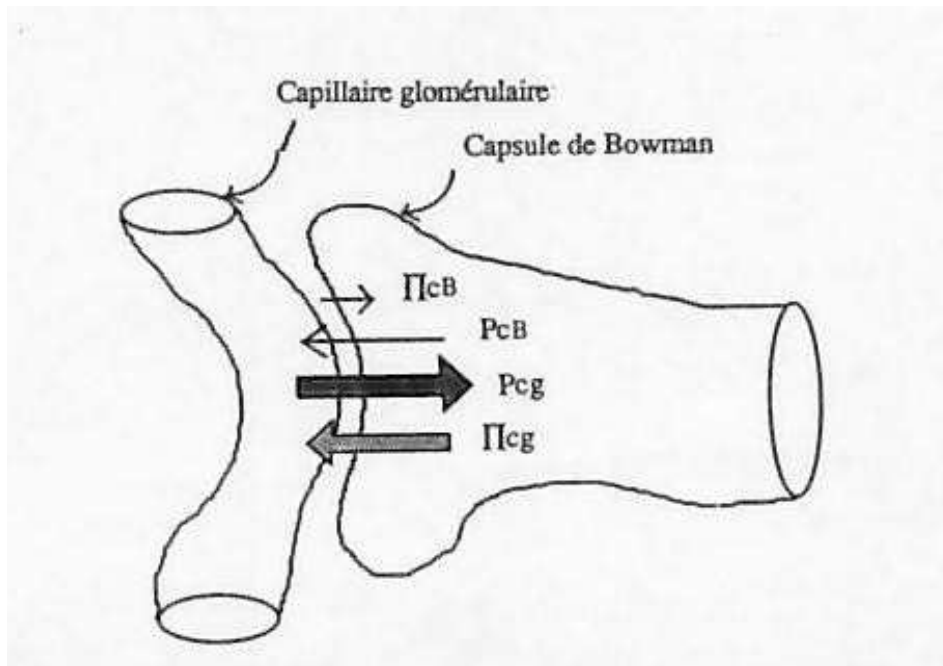


Figure 4: : Déterminants hémodynamiques de la filtration glomérulaire

Pcg : pression hydrostatique dans le capillaire ; PcB : pression hydrostatique dans la capsule de Bowman ; Π cg : pression oncotique dans le capillaire ; Π cB : pression oncotique dans la capsule de Bowman

II.2.3 - Régulation [27]

On distingue 2 niveaux de régulation du débit sanguin rénal et de la filtration glomérulaire :

- une régulation intrinsèque avec une autorégulation et une régulation hormonale
- une régulation extrinsèque de nature nerveuse sympathique et hormonale extra rénale.

II.2.3.1 - Régulation intrinsèque

a- Autorégulation

L'autorégulation répond à deux mécanismes que sont le tonus myogénique (phénomène physique de contraction artériolaire afférente en réponse à

l'augmentation de pression) et la balance tubuloglomérulaire (phénomène biologique conduisant à la contraction de l'artériole afférente lorsque le débit de Na^+ dans le tubule augmente).

b- Systèmes hormonaux :

Le rein synthétise plusieurs substances vaso-actives exerçant leurs effets sur la vascularisation intra rénale :

- le système rénine angiotensine (SRA) intra rénal ;
- le système des prostaglandines (PG) ;
- le système kinine kallibréine (KK).

- ***Système rénine angiotensine intra rénal***

La rénine est synthétisée par les cellules granulaires de l'artériole afférente, libérée dans l'interstitium permettant la formation d'angiotensine I convertie en angiotensine II en présence de l'enzyme de conversion. La circulation rénale est donc influencée par l'angiotensine circulante et par l'angiotensine II produite dans le parenchyme rénal. L'angiotensine II est un vasoconstricteur puissant agissant à 3 niveaux dans le parenchyme rénal :

- L'angiotensine agit préférentiellement au niveau de l'artériole efférente. Elle entraîne une vasoconstriction de l'artériole efférente provoquant une chute du débit sanguin glomérulaire avec une augmentation de la pression hydrostatique capillaire glomérulaire et une augmentation de la fraction de filtration.
- L'angiotensine II provoque également une contraction des cellules mésangiales glomérulaires qui comportent des récepteurs spécifiques entraînant une baisse du coefficient de filtration glomérulaire (Kf).
- L'angiotensine II a un rôle tonique vasoconstricteur sur la circulation médullaire grâce à la présence de nombreux récepteurs spécifiques de l'angiotensine dans la zone profonde de la médullaire externe.

- ***Système des prostaglandines***

Les prostaglandines sont synthétisées dans le cortex et la médullaire à partir de l'acide arachidonique par la voie de la cyclo-oxygénase :

- Prostaglandine E2
- Prostaglandine D2
- Prostaglandine I2 (prostacycline)
- Prostaglandine F2a
- La thromboxane A2

Les prostaglandines E2, D2, I2 sont vasodilatatrices (responsables d'une augmentation du débit sanguin glomérulaire et d'une augmentation du débit de filtration glomérulaire) ; la thromboxane A2 est vasoconstrictrice synthétisée à l'état normal en faible quantité ; la prostacycline F2a n'a pas de propriété vasomotrice importante.

- ***Système Kinine – kallicréine (KK)***

La kallicréine rénale synthétisée par les cellules tubulaires distales agit sur la kininogène pour aboutir à la formation de la bradykinine.

Les kinines sont vasodilatatrices, elles entraînent une augmentation du débit sanguin glomérulaire sans augmentation du débit de filtration glomérulaire, en raison d'une diminution du coefficient de perméabilité Kf par effet direct sur des récepteurs glomérulaires spécifiques ou par le biais du système rénine angiotensine (SRA).

II.2.3.2 - Régulation extrinsèque

a- Système nerveux sympathique

L'innervation rénale est exclusivement sympathique principalement noradrénergique mais également à un moindre degré dopaminergique.

Les effets vasoconstricteurs de la noradrénaline entraînent :

- une augmentation des résistances vasculaires rénales ;
- une diminution du débit sanguin rénal et du débit de filtration glomérulaire.

La stimulation des fibres dopaminergiques induit une vasodilatation artériolaire glomérulaire.

b-Hormones extra rénales

- ***Hormone anti-diurétique (ADH) ou vasopressine (AVP)***

L'hormone antidiurétique a des effets vasopresseurs d'où sa dénomination de vasopressine. La perfusion intra veineuse à forte dose d'AVP entraîne une élévation de la pression artérielle systémique, une augmentation des résistances vasculaires rénales et une diminution du débit sanguin rénal.

- ***Facteur atrial natriurétique (FAN)***

Le facteur atrial natriurétique est synthétisé et stocké par les myocytes auriculaires sous la forme d'un précurseur.

Les effets du FAN sur l'hémodynamique rénale et la filtration glomérulaire sont dissociés ; il entraîne augmentation du débit de filtration glomérulaire sans augmentation significative du débit sanguin.

II.3 - Notion de clairance et de clairance plasmatique [28]

II.3.1 - Définition

La clairance (Cl) d'une substance X donnée est définie comme le volume de plasma qui contenait cette substance, totalement épuré de cette substance par unité de temps. Pour une substance X d'élimination rénale, la clairance est définie par le rapport suivant :

$$Cl_X = U_X \times V/P_X$$

Cl_X est la clairance rénale de la substance X (exprimée en ml/min),

U_X et P_X sont les concentrations urinaires et plasmatiques respectivement de la substance X (en mg/l),

V est le débit urinaire (en ml/min).

L'excrétion rénale d'une substance X correspond à la somme de la filtration glomérulaire et de la sécrétion tubulaire diminuée de sa réabsorption tubulaire.

Pour une substance qui filtre librement à travers les glomérules et qui ne subit aucun transfert tubulaire (ni sécrétion ni réabsorption), son excrétion rénale ($U_X \times V$) ne dépend que du débit de filtration glomérulaire (DFG) et de sa concentration plasmatique :

$$U_X \times V = DFG \times P_X$$

Pour une telle substance, la clairance rénale est égale au DFG :

$$DFG = U_X \times V/P_X = Cl_X$$

Par conséquent, un marqueur idéal de la filtration glomérulaire doit être une substance libre non liée aux protéines, éliminée exclusivement par le rein, filtrée librement à travers la membrane glomérulaire sans subir de sécrétion ni de réabsorption au niveau du tubule rénal, non métabolisée et ne modifiant pas le débit de filtration glomérulaire (DFG).

Le DFG peut être déterminé selon deux types de clairances dépendant des types de prélèvements effectués et utilisés pour les calculs. On distingue donc les clairances rénales (ou urinaires) où sont prélevés des échantillons d'urine et de sang et les clairances plasmatiques où il est prélevé un ou plusieurs échantillons de sang.

Clairance plasmatique

Après l'injection intraveineuse d'un marqueur, sa concentration plasmatique évolue en deux phases : une décroissance rapide qui correspond à la distribution du marqueur dans l'organisme puis une décroissance plus lente qui correspond à son élimination par filtration glomérulaire.

La clairance plasmatique d'un marqueur (Cl_p) est calculée par le rapport de la dose du marqueur injectée (D) et l'aire sous la courbe (ASC) de décroissance du marqueur dans le plasma (figure 5):

$$Cl_p = D/ASC$$

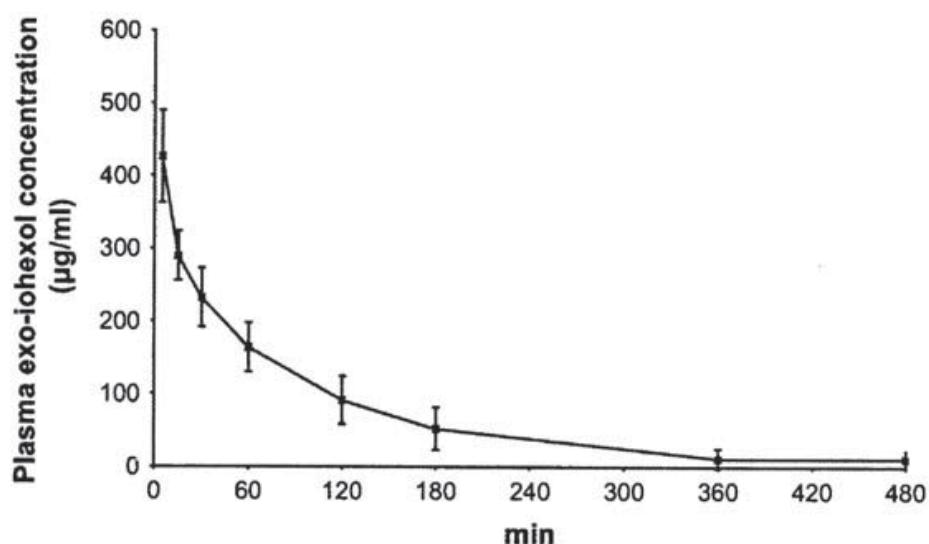


Figure 5 : Profil des concentrations plasmatiques du marqueur (exo-iohexol) en fonction du temps après administration intraveineuse (Le Garreres et coll 2007) [29].

Cette courbe est établie à partir de prélèvements sanguins échelonnés dans le temps. Le calcul de l'ASC de décroissance fait appel à divers modèles mathématiques de pharmacocinétique qui comportent un, deux ou trois compartiments. Le choix du modèle pharmacocinétique dépend de la biodisponibilité du marqueur utilisé. À noter qu'en cas de clairance plasmatique, il est particulièrement critique d'avoir recours à un marqueur n'ayant pas (ou très peu) de clairance extrarénale.

II.3.2 - Modèles pharmacocinétiques de mesure de l'aire sous la courbe

II.3.2.1 - Modèle à un compartiment (monocompartimental)

Dans ce modèle, le marqueur est injecté dans un seul compartiment (le plasma) et est éliminé sans échange avec d'autres compartiments. La concentration $c(t)$ du marqueur à un temps 't' donné dans ce compartiment après la fin de l'injection est égale à :

$$c(t) = I_1 e^{-b_1 t}$$

où I_1 : l'intercepte de la courbe sur l'axe des ordonnées (ce qui correspond à la concentration théorique du marqueur dans le compartiment à la fin de l'injection)

b_1 : le débit constant d'élimination.

L'intégrale de cette fonction correspond à l'aire sous la courbe (ASC)

$$ASC = I_1 / b_1$$

Dans ce modèle monoicompartmental (figure 6), le calcul de l'ASC ne tient donc pas compte de la première composante de distribution (les prélèvements sanguins sont effectués après un intervalle de temps suffisant pour s'affranchir de cette première composante de distribution) et est donc sous-estimé. La clairance plasmatique et le DFG (dose injectée/ASC) s'en trouvent donc surestimés et certains auteurs dont Bröchner Mortensen ont appliqué des facteurs de correction pour corriger cette surestimation [30,31].

Concentration plasmatique
(Unité arbitraire en Log)

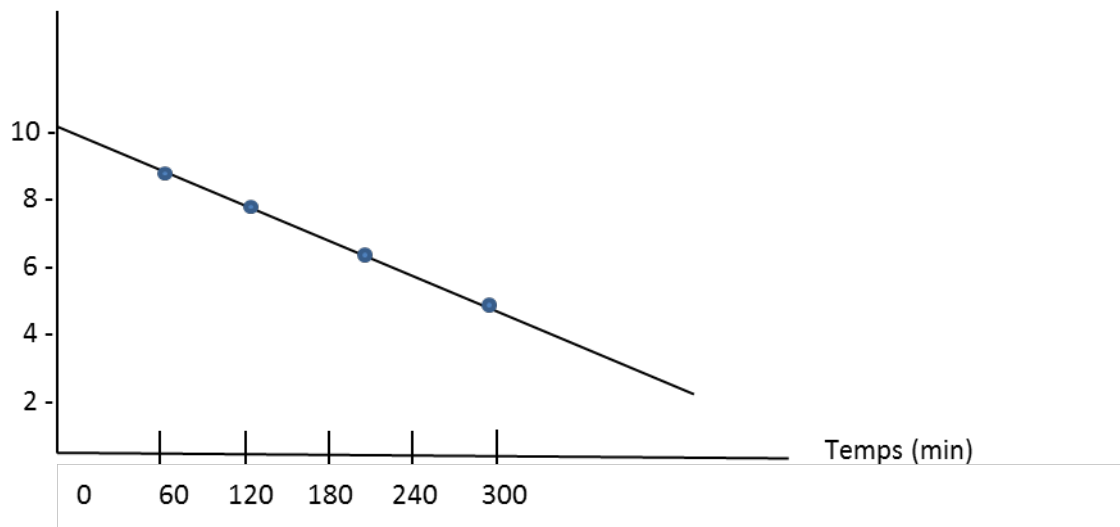


Figure 6: Exemple d'une courbe de décroissance plasmatique dans le modèle monocompartimental

II.3.2.2- Modèle à deux compartiments (bicompartimental)

Dans ce modèle, immédiatement après l'injection, le marqueur se distribue entre un compartiment central (le plasma) et un compartiment périphérique extracellulaire. L'élimination du marqueur se fait à partir du compartiment plasmatique. La concentration dans ce modèle est décrite comme la somme de deux fonctions exponentielles avec deux niveaux constants d'élimination distincts (b_1 et b_2) et deux interceptes différents (I_1 et I_2):

$$c(t) = I_1 e^{-b_1 t} + I_2 e^{-b_2 t}$$

L'ASC devient : $I_1/b_1 + I_2/b_2$ et le DFG correspond au rapport de la dose injectée sur l'ASC.

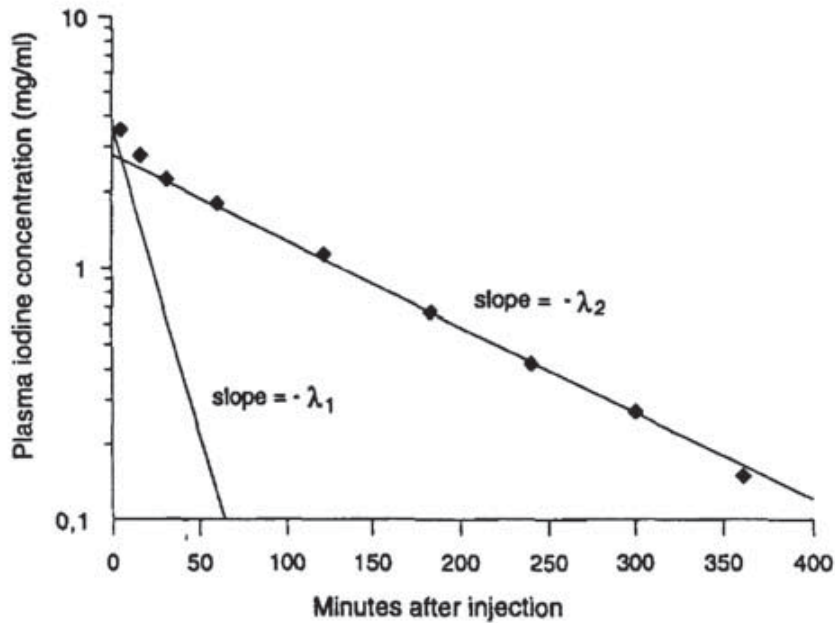


Figure 7: Représentation graphique de la courbe de décroissance plasmatique du marqueur dans le modèle bicompartimental [32]

II.3.2.3- Modèle à trois compartiments

Dans ce modèle, le marqueur se distribue entre le compartiment plasmatique et l'espace extracellulaire mais aussi entre l'espace extracellulaire et des compartiments plus profonds (tendons, tissu sous-cutané). L'élimination du marqueur se fait seulement à partir du plasma. Dans ce cas, la concentration du marqueur est décrite mathématiquement par la somme de trois fonctions exponentielles qui comportent trois niveaux constants d'élimination distincts (b_1 , b_2 et b_3) et trois interceptes différents (I_1 , I_2 et I_3) :

$$c(t) = I_1 e^{-b_1 t} + I_2 e^{-b_2 t} + I_3 e^{-b_3 t}$$

L'ASC devient $I_1/b_1 + I_2/b_2 + I_3/b_3$ et le DFG le rapport de la dose injectée sur l'ASC. Que ce soit dans le modèle à un ou à plusieurs compartiments, plus le nombre et la durée des prélèvements sont grands et plus la méthode s'avère précise, notamment pour la mesure des DFG les plus bas.

II.3.2.4- Modèle pharmacocinétique simplifiés

Il s'agit de modèles mathématiques permettant d'estimer l'ASC à partir d'un nombre limité de prélèvements. Alors que, dans un modèle bicompartimental classique, la décroissance plasmatique du marqueur est habituellement décrite par deux courbes exponentielles obtenues par, au minimum, quatre prélèvements (par exemple, à 10 et 30 minutes pour la première composante – décroissance rapide – et 120 et 300 minutes pour la deuxième composante – décroissance lente), cette même clairance plasmatique peut être calculée seulement à partir de la courbe de décroissance plasmatique lente (modèle à un compartiment) corrigée ultérieurement par différentes méthodes mathématiques (méthode de Bröchner-Mortensen, méthode de Chantler [30,31]). Dans ce cas, deux prélèvements peuvent être suffisants: le premier prélevé classiquement 120 minutes après l'injection pour éviter une éventuelle participation de la composante rapide de décroissance plasmatique, le second prélevé à 300 minutes ou plus tard en cas d'insuffisance rénale sévère.

II.3.3 - Equation correctrice de Brochner-Mortensen [30]

Cette méthode est appliquée lors de l'utilisation du modèle monocompartimental qui assimile la courbe de décroissance plasmatique à une droite en coordonnées semi logarithmiques, en négligeant la phase initiale de distribution du traceur. Ce modèle permet l'estimation de l'ASC avec seulement 2 ou 3 prélèvements tardifs. L'estimation du DFG avec ce modèle peut être améliorée chez l'homme par l'emploi de la formule de correction de Bröchner-Mortensen (Bröchner-Mortensen 1972) afin de compenser la phase de distribution.

Cette formule de correction s'applique comme suit :

$$\text{Clp (corrigée)} = 0,990778 \times \text{Clp (mesurée)} - 0,001218 \times \text{Clp (mesurée)}^2$$

Clp : clairance plasmatique

III – METHODES DE MESURE DU DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE

III.1 – Méthodes de référence

III.1.1 - Clairances de l'inuline

L'inuline est un polymère de fructose (polyfructosan) avec un poids moléculaire de 5200 Da, qui est filtré librement au travers du glomérule. C'est une substance physiologiquement inerte, libre et non fixée aux protéines plasmatiques. Elle n'est ni métabolisée, ni sécrétée, ni réabsorbée par le rein et n'altère pas sa fonction. Bien que certains auteurs décrivent l'existence d'une élimination extrarénale [33,34], elle est considérée comme marqueur idéal de filtration glomérulaire et donc comme marqueur de référence pour l'étude du DFG par d'autres marqueurs.

III.1.1.1 - Dosage de l'inuline

L'inuline est généralement dosée par la méthode colorimétrique à l'antrone : chaque prélèvement est déprotéinisé avec de l'acide trichloroacétique, puis mélangé à la solution antrone (acide sulfurique + antrone + eau désionisé). Cette méthode est basée sur l'hydrolyse de l'inuline en fructose par l'acide sulfurique à chaud puis la condensation du fructose avec l'antrone qui produit une coloration verte mesurée par spectrophotométrie (620 nm). La concentration est déduite à partir d'une courbe étalon obtenue avec des solutions d'inuline de concentrations connues [35]. Les inconvénients de cette méthode sont l'usage de produits caustiques et l'existence d'interférences avec des sucres comme le glucose [28,36].

Une autre méthode, exclusivement enzymatique a été développée. Elle utilise une inulinase (au lieu de l'acide sulfurique) pour hydrolyser l'inuline en fructose. Ensuite une sorbitol déshydrogénase transforme le fructose en

sorbitol ; cette conversion consomme du NADH qui est mesurée par spectrophotométrie. Cette méthode donne des résultats équivalents à ceux de la méthode à l'antrone et présente l'avantage de limiter l'interférence avec les autres sucres [28].

Ces deux techniques (biochimiques ou enzymatiques) ont une reproductibilité inférieure à 5 % [37,38].

D'autres auteurs font appel à la chromatographie liquide haute performance (HPLC) pour le dosage du fructose après hydrolyse de l'inuline [39].

III.1.1.2 - Clairance urinaire de l'inuline

Elle est considérée comme la technique de référence ou gold standard. La technique classique décrite par Smith [40] comprend une injection intraveineuse d'inuline de charge, suivie d'une perfusion continue de façon à atteindre une concentration plasmatique constante en inuline. Après une période d'équilibration d'une heure environ, des échantillons sanguins et urinaires sont prélevés alternativement sur trois périodes de 10 à 20 minutes. Les échantillons urinaires sont prélevés par sondage vésical. Pour chaque période, la clairance urinaire de l'inuline est calculée par la formule UV/P et la clairance finale correspond à la moyenne des clairances de chaque période. Avec cette technique, le DFG chez les hommes et les femmes âgés de 20 à 30 ans en bonne santé a été évalué respectivement à 130 et 120 ml/min rapporté à $1,73 \text{ m}^2$ de surface corporelle. Le coefficient de variation était de 10 % entre les clairances des différentes périodes d'une même épreuve.

Cette technique évite le problème de l'équilibration entre les différents compartiments puisque l'inuline est régulièrement administrée en perfusion continue. De plus, pour éviter le sondage vésical, les périodes peuvent être plus longues (30 à 60 minutes) mais dans ce cas, il faut assurer une bonne hydratation (soit par voie orale soit par perfusion) pour maintenir un bon niveau de débit urinaire. Pour éviter la perfusion continue, l'inuline peut être

administrée en une seule injection intraveineuse ; mais cette méthode apparaît quelque peu moins précise et est, finalement, peu utilisée [41]. Comme pour la technique en perfusion continue, des prélèvements sanguins et urinaires sont réalisés après un intervalle de temps correspondant à la première composante de distribution. Dans le calcul, l'influence du temps de passage du marqueur dans le tractus urinaire est habituellement négligeable.

La principale limitation de la technique de clairance urinaire est la difficulté d'obtention de recueils urinaires minutés corrects sans avoir recours au sondage vésical. En effet, des recueils urinaires incomplets peuvent conduire à des résultats erronés. Pour remédier à ce problème, il est possible d'évaluer le volume d'urine résiduel dans la vessie par ultrasons (type BladderScan®) [42]. Le recours à des techniques de clairances plasmatiques permet d'éviter le problème des recueils urinaires.

III.1.1.3 - Clairance plasmatique de l'inuline après perfusion continue

Earle et Berliner [43] ont été les premiers à introduire cette technique basée sur la mesure de la clairance plasmatique de l'inuline à l'équilibre (concentration plasmatique du marqueur constante) avec volume de distribution saturé durant une perfusion continue plus ou moins longue pouvant couvrir toute une nuit [38]. Plusieurs auteurs ont montré que cette technique surestimait le DFG de 5 à 10 ml/min par rapport au DFG déterminé par la technique classique [33,38,39] ; Vu les contraintes inhérentes à la perfusion continue, cette technique n'est que très peu utilisée.

III.1.1.4 - Clairance plasmatique de l'inuline après injection intraveineuse unique

Un bolus d'inuline est administré par voie intraveineuse et les échantillons sanguins sont prélevés jusqu'à 240 minutes après l'injection. Cette technique a l'avantage de ne pas nécessiter de perfusion continue et d'être ainsi plus rapidement réalisée. Les concentrations d'inuline mesurées permettent la construction de la courbe de décroissance plasmatique en fonction du temps. La clairance correspond alors au ratio dose injectée/ASC. Les résultats des études comparant cette technique à la technique standard sont contradictoires : certains trouvent une surestimation systématique [44], d'autres montrent une bonne corrélation des résultats obtenus avec ceux de la technique standard de clairance rénale [45,46]. Toutefois le nombre de prélèvements est trop important pour qu'elle soit utilisée en pratique courante, surtout chez l'enfant.

III.1.2 - Clairances de produits radiomarqués

Ce sont des substances marquées par un corps radioactif. Les principaux composés utilisés comme marqueur de la filtration glomérulaire sont : le ^{51}Cr -acide éthylène diamine tétra acétique (EDTA), le $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -diéthylène-triamino-penta-acétate (DTPA) et le ^{125}I -iothalamate.

Ces composés sont de faible poids moléculaire par rapport à l'inuline. Ils répondent aux principaux critères de marqueur de filtration glomérulaire : ce sont des substances libres non liées aux protéines plasmatiques ; leur élimination extrarénale semble négligeable.

Les avantages de ces substances sont leur facilité d'administration, ainsi que la simplicité, l'exactitude et la précision de leur mesure. Leurs propriétés pharmacocinétiques permettent d'étudier facilement la courbe de décroissance plasmatique en fonction du temps après injection intraveineuse en bolus. De

cette courbe de décroissance plasmatique en fonction du temps, la clairance plasmatique du marqueur est calculée en utilisant des modèles pharmacocinétiques le plus souvent de type bicompartimental. L'irradiation entraînée par leur injection, même si elle est relativement faible (inférieure à une radiographie des poumons), contre-indique son utilisation chez la femme enceinte [36,42]. La seconde limitation d'utilisation est d'ordre réglementaire: En Europe, notamment en Belgique et en France, leur injection doit être réalisée dans un service agréé pour l'utilisation des isotopes in vivo. De plus, les déchets radioactifs nécessitent des circuits d'élimination très spécifiques et onéreux [36].

III.1.3 - Clairances de produits de contraste iodés

III.1.3.1 – l'iohexol

L'iohexol est un produit de contraste iodé hydrosoluble, non ionique utilisé comme marqueur de filtration glomérulaire. C'est un polyol aromatique tri-iodé répondant à la formule chimique $C_{19}H_{26}I_3N_3O_9$ et à la dénomination,

5-[acétyl (2,3-dihydroxypropyl) amino]-N,N'-bis (2,3-dihydroxypropyl)-2,4,6-triiodobenzène-1,3-dicarboxamide.

Il a un poids moléculaire de 821 Da, sa demi-vie d'élimination plasmatique est de 90 minutes. Il est distribué dans l'espace extracellulaire et seulement une infime partie se lie aux protéines plasmatiques. Il est éliminé par filtration glomérulaire et dans le cas de débit de filtration réduit, l'élimination extrarénale de l'iohexol est négligeable. Quand il est utilisé à fortes doses en imagerie médicale, il peut avoir des effets néphrotoxiques et conduire à une néphropathie, surtout chez des patients avec une insuffisance rénale préexistante [42]. En revanche, quand l'iohexol est utilisé comme marqueur du DFG, les doses administrées sont beaucoup plus faibles. Plusieurs études menées chez des patients avec des degrés divers d'insuffisance rénale ont montré l'absence d'effet néphrotoxique quand il était utilisé à de faibles doses (5 à 10 ml d'une solution à 240 ou 300 mg I/ml d'iohexol, (correspondant à 518 mg d'iohexol

par litre) [47,48] . Le dosage de l'iohexol dans le sérum après déprotéinisation et dans les urines par HPLC est bien validé sur le plan analytique et constitue la technique de référence [49]. C'est une technique de dosage spécifique et très sensible permettant de réduire les doses injectées à 5 ml d'iohexol (240 ou 300 mg/ml).

Deux études ont montré qu'à cette dose, l'iohexol pouvait être utilisé sans risque chez les enfants [50], chez le patient diabétique avec une atteinte rénale modérée [51,52]. Bien qu'aucun cas de réactions anaphylactiques ne soit décrit dans la littérature lors de la mesure du DFG par l'iohexol, il est déconseillé de l'utiliser chez le patient avec des antécédants d'allergie vraie aux produits de contraste. Les préparations commerciales contiennent deux isomères qui se distribuent dans le corps de la même manière. En pratique, seul le pic principal élué est utilisé pour déterminer les concentrations plasmatiques/sériques de l'iohexol [53].

La plupart des auteurs valident la mesure du DFG par la clairance plasmatique ou urinaire de l'iohexol par rapport à la clairance urinaire de l'inuline [37,42,46]. Par ailleurs, l'étude de Brändström et al. [54] montre une excellente corrélation entre la clairance plasmatique de l'iohexol et celle du $^{51}\text{Cr-EDTA}$ ainsi qu'une absence de différence entre les deux clairances par l'analyse de Bland-Altman.

III.1.3.2 – l'iothalamate

L'iothalamate est un produit de contraste ionique qui dérive de l'acide triiodobenzoïque. Son poids moléculaire est relativement faible (de 636 Da) et il est distribué librement dans le volume extracellulaire [50,55]. L'iothalamate est un bon marqueur de la fonction rénale; c'est un marqueur très utilisé aux États-Unis, notamment dans des essais ayant construit les équations basées sur la créatinine [9]. Il peut être utilisé marqué par l' ^{125}I ou dans des méthodes non-isotopiques "froides" ; c'est le seul marqueur qui offre cette double possibilité.

Quand il est marqué, sa période physique est de 60 jours, ce qui permet de différer le dosage. Son dosage peut se réaliser par HPLC, par LCSM, par comptage radioactif ou par électrophorèse [28,56]. L'iothalamate a fait l'objet de nombreuses études notamment en comparaison avec l'inuline. Plusieurs auteurs ont confirmé la bonne performance des clairances urinaires de l'iothalamate, en particulier chez les patients atteints de maladie rénale chronique [57,58]. Toutefois, chez les sujets sains, les résultats sont plus discutables et l'iothalamate semble surestimer l'inuline [58]. Les limitations de ce marqueur résident dans sa clairance extra-rénale non négligeable, la suspicion d'une sécrétion par les tubules rénaux et les risques d'intolérance chez les patients allergiques aux produits de contraste [28,55].

III.2 - Clairance de la créatinine sur recueil urinaire de 24 heures

La clairance de la créatinine calculée sur les urines de 24 heures présente de nombreuses limites pour estimer le DFG. En effet, la sécrétion tubulaire de créatinine entraîne une surestimation quasi systématique du DFG, surestimation qui augmente avec l'aggravation de l'insuffisance rénale [59–61]. Une variabilité intra-individuelle de 5 à 15% a été rapportée par plusieurs études aussi bien au niveau de la créatinine sérique [6] qu'au niveau de l'excrétion urinaire de la créatinine [5,59,62,63]. Par ailleurs, les erreurs liées à la récolte d'urines en pratique clinique, sont la source d'erreur la plus importante dans la mesure de la clairance de créatinine même lorsque le protocole de recueil est bien expliqué aux patients [5,64].

Toutes ces limitations expliquent pourquoi aujourd'hui, la clairance de créatinine sur récolte d'urines de 24 heures n'est pratiquement plus recommandée en première intention par les sociétés savantes ; elle reste recommandée que pour les patients présentant une masse musculaire

particulièrement diminuée (anorexie, paraplégie, amputation) ou dans des circonstances très particulières comme les soins intensifs [65].

IV – EQUATIONS D’ESTIMATION DU DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE CHEZ L’ADULTE

IV.1 - Formules basées sur la créatinine

IV.1.1 - Principales formules

Le débit de filtration glomérulaire (DFG) est donc une fonction de l’inverse de la créatininémie et toutes les formules d’estimation comprennent le module $1/\text{créatinine}$ ($\text{créatinine}^{-1,154}$ pour la formule MDRD abrégée). Les formules d’estimation intègrent par ailleurs, à différents degrés, des facteurs influençant directement la production de créatinine ou des facteurs influençant la masse musculaire (âge, sexe, poids, origine ethnique). Une multitude d’équations ont été développées au fil du temps. Le tableau I présente un aperçu de ces différentes formules.

Dans la suite du document, nous insisterons sur 3 d’entre elles qui sont précaunisées dans les recommandations internationales actuelles:

- La formule de Cockcroft-Gault [8]
- La formule MDRD [66]
- La formule CKD-Epi [10]

Tableau I: Principales équations d'estimation du débit de filtration glomérulaire (DFG) basées sur la créatinine sérique

Références	Formules
Cockcroft-Gault [8]	$[(140 - \text{âge}) / (72 \times \text{Cr})] \times \text{poids} \times (0,85 \text{ si femme})$ NB : Cr (mg/dL), Clairance (mL/min)
MDRD abrégée [66,67] (a : initiale ; b : corrigée pour Créatinine standardisée IDMS)	a : $186 \times \text{Cr}^{-1,154} \times \text{âge}^{-0,203} \times (0,742 \text{ si femme}) \times (1,21 \text{ si Afro-Américain})$ b : $175 \times \text{Cr}^{-1,154} \times \text{âge}^{-0,203} \times (0,742 \text{ si femme}) \times (1,21 \text{ si Afro-Américain})$
CKD-EPI [10] (créatinine standardisée)	DFG = $A \times (\text{Cr}/B)^C \times 0,993^{\text{âge}}$ Si Noir-Africain, femme et Cr $\leq 62 \mu\text{mol/l}$: A = 166 ; B = 0,7 ; C = -0,329 Si Noir-Africain, femme et Cr $> 62 \mu\text{mol/l}$: A = 166 ; B = 0,7 ; C = -1,209 Si Noir-Africain, homme et Cr $\leq 80 \mu\text{mol/l}$: A = 163 ; B = 0,9 ; C = -0,411 Si Noir-Africain, homme et Cr $> 80 \mu\text{mol/l}$: A = 163 ; B = 0,9 ; C = -1,209 Si Caucasien, femme et Cr $\leq 62 \mu\text{mol/l}$: A = 144 ; B = 0,7 ; C = -0,329 Si Caucasien, femme et Cr $> 62 \mu\text{mol/l}$: A = 144 ; B = 0,7 ; C = -1,209 Si Caucasien, homme et Cr $\leq 80 \mu\text{mol/l}$: A = 141 ; B = 0,9 ; C = -0,411 Si Caucasien, homme et Cr $> 80 \mu\text{mol/l}$: A = 141 ; B = 0,9 ; C = -1,209
Bjornsson [68]	Hommes : $(27 - 0,173 \times \text{âge}) \times \text{poids} \times 0,7/\text{Cr}$ Femmes : $(25 - 0,175 \times \text{âge}) \times \text{poids} \times 0,7/\text{Cr}$
Davis [69]	$(140 - \text{âge})/\text{Cr} \times (0,85 \text{ si femme})$
Edwards [70]	Hommes : $94,3/\text{Cr} - 1,8$ Femmes : $69,9/\text{Cr} + 2,2$
Gates [71]	Hommes : $89,4 \times \text{Cr}^{-1,2} + (55 - \text{âge}) \times 0,447 \times \text{Cr}^{-1,1}$ Femmes : $60 \times \text{Cr}^{-1,1} + (56 - \text{âge}) \times 0,3 \times \text{Cr}^{-1,1}$
Hull [72]	$(145 - \text{âge} - 3)/\text{Cr} \times (0,85 \text{ si femme})$
Jelliffe [73]	$98 - (0,8 \times [\text{âge} - 20])/\text{Cr} \times (0,9 \text{ si femme})$
Mawer [74]	Hommes : $\text{poids} \times (29,3 - [0,203 \times \text{âge}]) \times (1 - 0,03 \times \text{Cr}) / (14,4 \times \text{Cr}) \times (70/\text{poids})$ Femmes : $\text{poids} \times (59,3 - [0,175 \times \text{âge}]) \times (1 - 0,03 \times \text{Cr}) / (14,4 \times \text{Cr}) \times (70/\text{poids})$
Nankivell [75]	$6700 / (\text{Cr} \times 88,4) + \text{poids}/4 - \text{urée}/2 - (100/\text{taille}^2) + 35$ $6700 / (\text{Cr} \times 88,4) + \text{poids}/4 - \text{urée}/2 - (100/\text{taille}^2) + 25$
Walser [76]	Hommes : $7,57 / (\text{Cr} \times 0,0884) - 1 - 0,103 \times \text{âge} + 0,096 \times \text{poids} - 6,66$ Femmes : $6,05 / (\text{Cr} \times 0,0884) - 1 - 0,08 \times \text{âge} + 0,08 \times \text{poids} - 4,81$
Salazar [77]	Hommes : $([137 - \text{âge}] \times 0,285 \times \text{poids} + [12,1 \times \text{taille}^2]) / (51 \times \text{Cr})$ Femmes : $([140 - \text{âge}] \times 0,285 \times \text{poids} + [12,1 \times \text{taille}^2]) / (60 \times \text{Cr})$
MDRD7 [66]	$170 \times \text{Cr}^{-0,999} \times \text{âge}^{-0,176} \times \text{urée}^{-0,170} \times \text{albuminémie}^{0,318} \times (0,762 \text{ si femme}) \times (1,18 \text{ si Afro-Américain})$
BIS-1 [78]	$3.736 \times \text{PCr}^{-0,87} \times \text{âge}^{-0,95} \times [0,82 \text{ si femme}]$
revised Lund Malmo [79]	$e^{X-0.0158 \times \text{Age} + 0.438 \times \ln(\text{Age})}$ Where X = $2.50 + 0.0121 \times (150 - \text{Scr})$ for females with Scr $< 150 \mu\text{mol/L}$ X = $2.50 - 0.926 \times \ln(\text{Scr}/150)$ for females with Scr $\geq 150 \mu\text{mol/L}$ X = $2.56 + 0.00968 \times (180 - \text{Scr})$ for males with Scr $< 180 \mu\text{mol/L}$ X = $2.56 + 0.926 \times \ln(\text{Scr}/180)$ for males with Scr $\geq 180 \mu\text{mol/L}$
FAS equation [80]	$107.3/\text{Scr}/Q$ si $2 \leq \text{âge} \leq 40$ ans $(107.3/\text{Scr}/Q) \times 0.988 (\text{Age}-40)$ si $2 > 40$ ans Qcrea = 0,90 mg/dL (si homme) et 0,70 mg/dL (si femme)

IV.1.2 – Formule de Cockcroft et Gault [8]

Longtemps restée leader des formules d'estimation du DFG, la formule de Cockcroft et Gault (CG) a été développée dans l'esprit d'estimer la clairance de la créatinine en s'affranchissant du recueil urinaire, fastidieux et imprécis. Cette formule donne donc une approximation de la clairance de la créatinine et non du DFG tel que mesuré par les méthodes de référence précédemment décrites. Elle tend donc en théorie à surestimer le DFG réel si l'on considère la sécrétion tubulaire de créatinine. La publication initiale date de 1976 et était basée sur une population initiale de 505 patients réduite à 249 en raison du manque de reproductibilité de la récolte urinaire. Ces sujets âgés de 18 à 92 ans ne comprenant que 4 % de femmes. Cette formule prend en compte plusieurs paramètres à savoir le poids, l'âge, le sexe et la créatinine. Par ailleurs, la méthode utilisée pour le dosage de la créatinine (après déprotéinisation) n'est pas standardisée et est aujourd'hui abandonnée [8].

IV.1.3 - Formules MDRD (Modification of Diet in Renal Disease)

La méthode de dérivation des formules MDRD était complètement différente de celle de CG. L'objectif était cette fois-ci de prédire le DFG mesuré par une méthode de référence. L'échantillon de population utilisé comprenait 1 070 patients sur la totalité des 1 628 sujets inclus dans l'étude MDRD au cours de laquelle une détermination du DFG par clairance urinaire de l'iothalamate normalisée à la surface corporelle (rapportée à 1,73 m²) était réalisée. La population était caractérisée par un âge moyen de 50,6 ans, un indice de masse corporelle de 28 kg/m², comprenait 60 % d'hommes et 12 % d'Afro-Américains. Le DFG moyen était de 40 ml/min/1,73m². La réalisation d'une régression multiple intégrant un grand nombre de variables a permis la dérivation de plusieurs formules de complexité croissante. La formule initialement recommandée prend le nom de MDRD7 [66]. En 2000, l'équipe de Levey publie une nouvelle formule simplifiée dite « abrégée » et comprenant

quatre variables : la créatinine sérique, l'âge, le sexe et l'origine ethnique [66]. Plus récemment, une dernière modification a été réalisée permettant d'utiliser cette formule avec une créatinine standardisée sur la méthode de référence de dosage de créatinine (isotope dilution mass spectrometry [IDMS]) [67]. Cette dernière étape est particulièrement importante dans la mesure où elle permet l'usage de la nouvelle formule MDRD à partir des différentes trousse de dosage de créatinine IDMS traçable. Toutefois, l'équation MDRD présente la limite de sous-estimer systématiquement les DFG haut ($> 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$) [81–87] .

IV.1.4 – Formule CKD-Epi (Chronic kidney disease epidemiology collaboration)

La formule CKD-Epi est une formule relativement nouvelle, destinée à améliorer les performances prédictives de la formule MDRD au-dessus de $60 \text{ ml/min/1,73m}^2$. Elle a été dérivée d'un échantillon beaucoup plus important (5504 patients) d'âge moyen de 47 ans, d'indice de masse corporelle moyen 28 kg/m^2 , avec 32 % de Afro-Américains et ayant un DFG moyen de $68 \text{ ml/min/1,73m}^2$ [10]. Cette formule est plus complexe que les précédentes mais a l'avantage de prendre en compte la variation de la relation entre le DFG et la créatinine selon le niveau de DFG ; En effet l'exposant à la créatinine varie en fonction de la concentration de celle-ci. Par ailleurs, contrairement à l'équation MDRD, l'âge est un facteur exponentiel, et non plus une valeur à laquelle est appliqué un exposant. Avec ces modifications, l'équation CKD-Epi a montré des performances globalement meilleures que celles de l'équation MDRD, particulièrement pour les $\text{DFG} > 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$ [10,88–90]. Cette plus value de la formule CKD-Epi réside essentiellement dans l'amélioration du biais alors que la précision reste comparable à celle de MDRD.

Par ailleurs, la capacité pour l'équation CKD-Epi de classer les sujets en fonction du stade de MRC reste relativement décevante [81,91].

IV.2- Formules basées sur la cystatine

IV.2.1 – Rappels physiologiques sur la cystatine C [92]

La cystatine C (CysC), autrefois appelée gamma-trace protein, est une protéine de la famille des cystatines qui sont des inhibiteurs naturels des cystéines protéinases. Le gène codant pour la protéine fait partie des gènes de ménage ou housekeeping gene (un gène exprimé de façon constitutive et non régulée), dont l'expression est continue. Elle est produite par toutes les cellules nucléées et ne subit pas de variation nyctémérale de sa concentration sanguine. Elle exerce un rôle dans le catabolisme intracellulaire des peptides et protéines, au niveau de la destruction du collagène. C'est une protéine de faible poids moléculaire (13 260 Da), non liée aux protéines et qui est filtrée librement au niveau du glomérule. Elle est ensuite entièrement réabsorbée par les tubules proximaux, où elle est presque totalement catabolisée [93,94]. C'est ce comportement rénal qui a suscité l'intérêt potentiel de la CysC comme marqueur biologique du DFG dans les années 1980 [95]. Parmi les facteurs extrarénaux pouvant influencer les valeurs de CysC chez des sujets sains, les travaux les plus récents ont montré que chez les adultes de moins de 60 ans, les concentrations de CysC sont plus faibles chez les femmes que chez les hommes, cette différence disparaissant au-delà de 60 ans [96,97]. Chez l'adulte, la plupart des études montrent une influence significative de l'âge sur les concentrations de CysC, impliquant des valeurs de référence différentes pour les sujets de plus de 50-60 ans [96,98].

Par ailleurs, il faut noter la mise en évidence par plusieurs études, d'autres facteurs de variation du niveau de production de la cystatine C parmi lesquels l'inflammation et l'hyperthyroïdie [99–102]. Des études épidémiologiques, basées sur de grandes cohortes de patients ont clairement identifié des valeurs élevées de CysC (au-dessus de 1,30 mg/L) comme un facteur de risque indépendant de maladies cardiovasculaires [99,103–108].

Au niveau analytique, les méthodes de mesure de la cystatine C se sont progressivement améliorées (plus précises, rapides et automatisées). Actuellement, le dosage de cette molécule se fait par la technique PETIA (Particle-enhanced turbidimetric immunoassay) ou PENIA (Particle-enhanced nephelometric immunoassay). Pendant longtemps, un inconvénient majeur du dosage de la cystatine C a été l'absence de standardisation et l'utilisation de différents calibrateurs non commutables, conduisant à l'établissement de nombreuses équations plus ou moins spécifiques au dosage utilisé dans les laboratoires où elles ont été développées. Depuis 2010, un standard international est disponible et a permis aux fournisseurs de calibrer leurs méthodes de dosage, par rapport à ce standard [109–113]. Des études récentes ont montré une meilleure concordance des valeurs de cystatine C dosées par différentes méthodes depuis la standardisation [113].

IV.2.2 – Principales formules basées sur la cystatine C

Suite à la description de ses propriétés, la cystatine C a fait l'objet de nombreuses équations visant à estimer le DFG à partir de sa concentration sérique ; les principales sont répertoriées dans le tableau II.

Tableau II: Principales formules d'estimation du débit de filtration glomérulaire (DFG) basées sur la cystatine C plasmatique (CysC).

Références	n	Formules
Bokenkamp [114]	83	$(162/\text{CysC}) - 30$
Tan [115]	40	$(87,1/\text{CysC}) - 6,87$
Hoek [98]	47	$(80,35/\text{CysC}) - 4,32$
Larsson [116]	100	$77,24 \times \text{CysC}^{-1,2623}$ $99,43 \times \text{CysC}^{-1,5837}$
Filler [117]	536	$91,62 \times (1/\text{CysC})^{1,123}$
Le Bricon [118]	25	$(78 \times [1/\text{CysC}]) + 4$
Sjostrom [119]	381	$(124/\text{CysC}) - 22,3$
Grubb [120]	536	(n = 85) $84,69 \times \text{CysC}^{-1,68} \times 1,384$ si moins de 14 ans
Rule [121]	204	- $66,8 \times \text{CysC}^{-1,3}$ - $([66,8 \times \text{CysC}^{-1,3}] \times [273 \times \text{Cr}^{-1,22} \times \text{âge}^{-0,299} \times 0,738$ si femme]) 0,5
Rule [121]	206	$76,6 \times \text{CysC}^{-1,16}$
MacIsaac [122]	125	$(84,6/\text{CysC}) - 3,2$
Bouvet [123]	67	$63,2 \times (\text{Cr}/96)^{-0,35} \times (\text{CysC}/1,2)^{-0,56} \times (\text{poids}/45)^{0,3} \times (\text{âge}/14)^{0,4}$
Zappitelli [124]	103	- $75,94/(\text{CysC}^{1,17}) \times 1,2$ si greffé rénal - $(43,82 \times e^{0,003 \times \text{taille}})/(\text{CysC}^{0,635} \times \text{Cr}^{0,547})$
Ma [125]	376	$169 \times \text{PCr}^{-0,608} \times \text{CysC}^{-0,63} \times \text{âge}^{-0,157}$ ($\times 0,83$ pour sexe féminin)
Stevens [126]	3 418	CKD-EPI-CysC1 = $76,7 \times \text{CysC}^{-1,19}$ - CKD-EPI-CystC2 = $127,7 \times \text{CysC}^{-1,17} \times \text{âge}^{-0,13} \times (0,91$ pour sexe féminin) $\times (1,06$ pour Noir Africain) - CKD-EPI mixte = $177,6 \times \text{Cr}^{-0,65} \times \text{CysC}^{-0,57} \times \text{âge}^{-0,20} \times (0,82$ pour sexe féminin) $\times (1,11$ pour Noir Africain)
BIS-2 [78]	570	$767 \times \text{PCys}^{-0,61} \times \text{PCr}^{-0,40} \times \text{âge}^{-0,57} \times [0,87$ si femme]
CAPA [120]	3495	$e\text{GFR} = 130 \text{ cystatin C}^{-1,069} \text{ âge}^{-1,17} - 7$
FAS [127]	6132	$107.3/\text{Scys}/\text{Qcys}$ si $2 \leq \text{âge} \leq 40$ ans $(107.3/\text{Scys}/\text{Qcys}) \times 0.988 (\text{Age}-40)$ si $2 > 40$ ans $\text{Qcys} = 0,82$ mg/L (si < 70 ans) et $0,95$ mg/L (si ≥ 70 ans)

IV.3 - Formules combinées

Certains auteurs ont suggéré l'intérêt d'une formule combinant la créatinine et la Cys C. Ainsi, en 2012 la formule CKD-Epi créatinine-cystatine C (CKD-Epi créat-cyst) a été développée par Inker et al. [128] dans une cohorte de 5352 patients, puis validée à partir d'une autre cohorte de 1119 participants. Outre l'effectif important, cette étude a également l'avantage d'avoir utilisé des dosages standardisés pour la créatinine et pour la cystatine. Les auteurs ont montré que l'équation combinée est plus performante que les équations utilisant les paramètres créatinine et cystatine sériques pris séparément. L'équation qui combine la créatinine et la cystatine C fournit une estimation plus précise et plus exacte du DFG dans la gamme des DFG et dans les sous-groupes basés sur les caractéristiques démographiques et cliniques. Cette amélioration est vraie même chez les sujets avec un indice de masse corporelle inférieur à 20 Kg/m^2 , un sous groupe dans lequel les estimations de DFG basés sur la créatinine sont moins précises [128,129].

PARTIE II :
ETUDE EXPERIMENTALE

Chapitre 1 : MATERIEL ET METHODES

I- MATERIEL

I.1- Population étudiée

La population d'étude est composée de sujets en bonne santé, sans affection rénale, ni pathologies chroniques apparentes telles que le diabète sucré et l'hypertension artérielle ;

L'étude a été approuvée par le comité national d'éthique de Côte d'Ivoire le 13 mai 2014, sous le N°039/MSLS/CNER-dkn. Chaque participant a donné son consentement éclairé pour participer à l'étude et a signé une fiche de consentement individuelle.

La population de ces sujets présumés sains est composée de 254 adultes ouest-africains de race noire dont 120 femmes et 134 hommes, donneurs réguliers de sang recrutés au Centre National de Transfusion Sanguine d'Abidjan (Côte d'Ivoire) ; Ce centre reçoit l'ensemble des donneurs volontaires de sang de la ville cosmopolite d'Abidjan et de ses banlieues. La cohorte a été constituée par un recrutement successif de sujets consentant à participer à l'étude sur la période de Juillet 2014 à Juillet 2015. La sélection des patients s'est faite sur la base de critères cliniques et biologiques.

Au plan clinique, l'état de bonne santé a été évalué par une visite médicale au niveau dudit centre durant laquelle une prise de la tension artérielle a été effectuée. Les sujets déclarés 'inaptes' pour pathologies chroniques ou aiguës apparentes n'ont pas été retenus pour l'étude. De même, les sujets âgés de moins de 18 ans et les femmes enceintes ont été exclus.

Au niveau biologique, outre la sérologie négative pour le VIH, la syphilis, les hépatites B et C, la sélection a concerné, une numération formule sanguine normale, une urémie et une créatinémie normales selon les valeurs précédemment établies chez l'ivoirien présumé sain par YAPO et al. [130,131]

et l'absence de stigmates urinaires de néphropathie (protéinurie, hématurie, leucocyturie) évaluée par bandelette réactive sur des urines de miction le jour du prélèvement.

Les données anthropométriques que sont l'âge, le sexe, le poids et la taille ont été relevées sur une fiche d'enquête individuelle .

L'index de masse corporelle (IMC) a été calculé selon la formule :

$$\text{IMC (kg/m}^2\text{)} = \frac{\text{Masse (kg)}}{\text{(Taille}^2\text{ (m}^2\text{))}}$$

La surface corporelle (BSA) a été déterminée en utilisant la formule de Du Bois [132] :

$$\text{BSA (m}^2\text{)} = 0,007184 \times (\text{poids kg})^{0,425} \times (\text{taille cm})^{0,725}$$

Tableau III: Caractéristiques de la population d'étude

	Total	Masculin	Féminin
	n = 254	n= 134	n = 120
Age (ans)	34 +/- 10 (33)	33 +/- 9 (33)	35 +/- 11 (33)
Masse (kg)	68 +/- 13 (66)	68 +/- 12 (66)	69 +/- 14 (66)
IMC (kg/m²)	24 +/- 5 (23)	23 +/- 3 (22)	26 +/- 5 (25)
Surface corporelle (m²)	1,77 +/- 0,17 (1,76)	1,81 +/- 0,17 (1,77)	1,73 +/- 0,16 (1,73)

* *Présentation des résultats : moyenne ± écart type (médiane)*

I.2 - Réactifs et appareillage

I.2.1 - Dosage de l'iohexol

I.2.1.1- Le produit

Le traceur exogène utilisé pour la mesure du DFG est l'iohexol. Il provient de la spécialité Omnipaque® dont les caractéristiques sont les suivantes :

- Dénomination : Omnipaque®, 240 mg I/mL (240 mg d'iode/ml), solution injectable, soit 518 mg d'iohexol/mL ;
- Laboratoire: GE Healthcare ;
- Référence : 1175918 BEL ;
- Classification: Produit de contraste radiologique.

I.2.1.2 - Appareillage et disponible

Le dosage de l'iohexol s'est fait sur une chaîne HPLC à détection UV de marque Agilent® (Chaîne HPLC HP 1100 séries, Agilent®) correspondant au schéma décrit à la figure 8.

Les caractéristiques des disposables et petits matériels nécessaires à cette manipulation sont précisés ci-dessous.

- Colonne : Merk, LiChroCART 250-4, Réf : 1.50833.0001
- Pré-colonne : Merk, LiChroCART 4-4, Réf : 1.50957.0001
- Fritté : Agilent, Réf : 01018-22707
- Vial : Agilent, Réf : 5181-3375
- Insert : Agilent, Réf : 5183-2085
- Bouchon : Agilent, Réf : 5182-0552
- Une microcentrifugeuse réfrigérée (Eppendorf®), permettant 13000 tours/minute
- Une centrifugeuse (Hettich®) permettant de centrifuger à 4000 tours/minute.

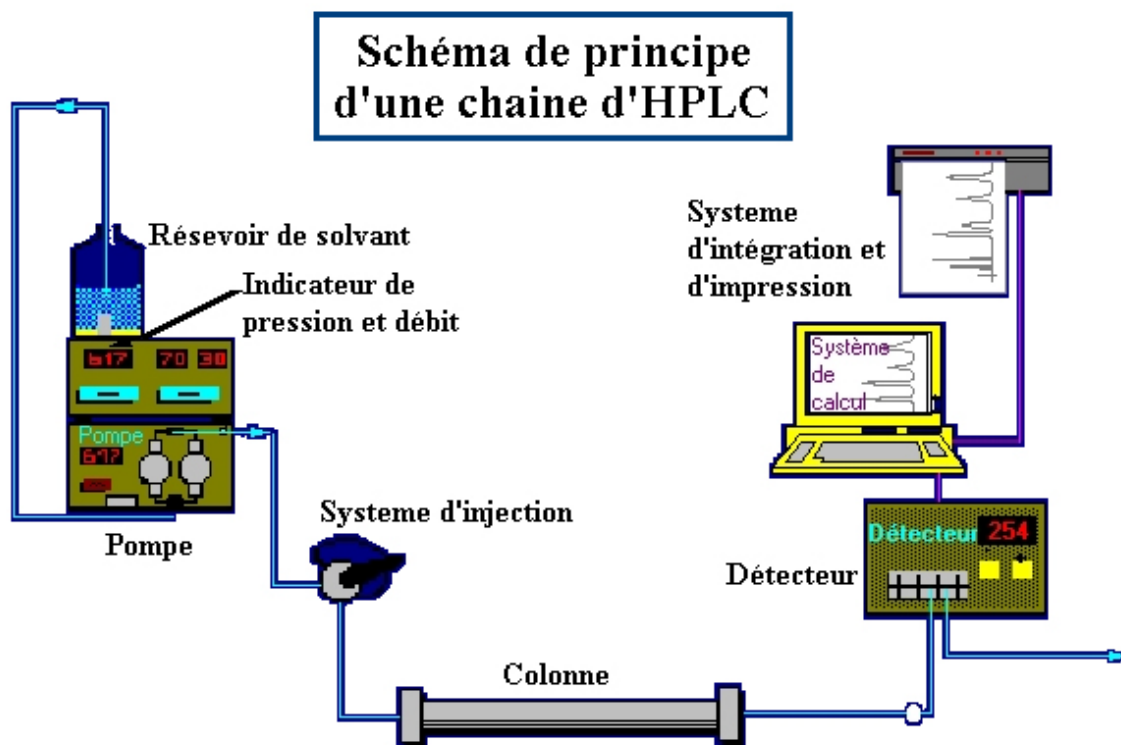


Figure 8: Schéma de principe d'une chaîne HPLC[133]

1.2.1.3 - Réactifs

Les réactifs utilisés pour le dosage de l'iohexol sont :

- Tampon acétonitrile 5% (ACN) ; Merck, Réf : 1.00029.2500

Il est préparé par un mélange de 95 volumes d'eau bidistillée et 5 volumes d'ACN ; puis est ajusté à un pH 3 avec de l'acide orthophosphorique

- Acide perchlorique 5% (HClO₄) ;

Il est préparé par un mélange de 65 volumes d'eau bidistillée et 5 volumes de HClO₄ 70%

Les réactifs ainsi préparés, sont maintenus à température ambiante dans des flacons bruns.

1.2.1.4 - Etalons et contrôles

Pour réaliser la calibration du dosage de l'iohexol, deux solutions étalons ont été d'abord préparées par dilutions en cascade d'une solution mère d'Omnipaque® contenant 518 mg d'iohexol par millilitre pour aboutir à :

- une solution étalon à 2,590 mg/mL (facteur de dilution total de 1/200)
- une solution étalon à 1,295 mg/mL (facteur de dilution total de 1/400)

Ensuite, trois points de calibration de concentrations connues sont préparés selon le mode opératoire suivant :

- un point de calibration à 61,67 µg/mL : 5µL d'étalon 1,295 mg/mL + 100 µl d'un sérum sans iohexol
- un point de calibration à 123,33 µg/mL : 5µL d'étalon 2,590 mg/mL + 100 µl d'un sérum sans iohexol
- un point de calibration à 235,45 µg/mL : 10µL d'étalon 2,590 mg/mL + 100 µl d'un sérum sans iohexol.

Deux contrôles internes notés C₁ et C₂, de concentrations connues sont préparés par dilution des solutions étalons de 1,295 et 2,590 mg/mL. Ils sont aliquotés et conservés à -80°C.

I.2.2 - Dosage de la créatinine

1.2.2.1 - Appareillage

Le dosage de la créatinine sérique a été réalisé sur analyseur automatique, Cobas Intégra 400 plus (Roche Diagnostic).

1.2.2.2 - Réactifs :

Les réactifs utilisés répondent aux spécifications suivantes :

- *Dénomination et référence*

Roche diagnostic/Cobas/Creatinine plus ver.2 (CREP2); Référence 03263991 190. Il s'agit de réactifs prêts à l'emploi.

- *Composition et concentrations*

R1 Tampon TAPSb: 30 mmol/L, pH 8.1;

- créatinase (de microorganismes): $\geq 332 \mu\text{kat/L}$;
- sarcosine oxydase (de microorganismes): $\geq 132 \mu\text{kat/L}$;
- ascorbate oxydase (de microorganismes): $\geq 33 \mu\text{kat/L}$;
- catalase (de microorganismes): $\geq 1.67 \mu\text{kat/L}$; HTIB: 1.2 g/L;
- détergents; conservateur

SR Tampon TAPSb: 50 mmol/L, pH 8.0;

- créatininase (de microorganismes): $\geq 498 \mu\text{kat/L}$;
- peroxydase (de raifort): $\geq 16.6 \mu\text{kat/L}$;
- amino-4 phénazone: 0.5 g/L;
- ferrocyanure de potassium (II): 60 mg/L;
- détergent; conservateur

I.2.3 - Dosage de la cystatine C

I.2.3.1 - Appareillage

Le dosage de la cystatine sérique a été réalisé sur Analyseur automatique, Cobas Intégra 6000 (Roche Diagnostic).

I.2.3.2 - Réactifs

Les réactifs utilisés sont prêts à l'emploi et répondent aux spécifications suivantes : Roche/Cobas/Tine-quantR reagents Cystatin C (Référence : 04975723 190)

II- METHODES

La présente étude est le fruit d'une collaboration Ivoir-Belge entre l'Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan (Côte d'Ivoire) et l'Université de Liège (Belgique).

Suite à l'approbation du comité national d'éthique de Côte d'Ivoire, nous avons mené une étude transversale par recrutement successif des participants selon les critères décrits au chapitre I.1.

Le recrutement des patients, la collecte des spécimens ainsi que le dosage de la créatinine ont été réalisés à Abidjan ; Le dosage de la cystatine sérique et de l'iohexol ont été réalisés à Liège.

La collecte des spécimens et la détermination des différents paramètres biologiques ont été faites selon les protocoles décrits ci-dessous.

II.1 - Préparation des spécimens / Détermination de la clairance plasmatique de l'iohexol

Ces deux étapes ont été effectuées selon un protocole prédéfini, validé au sein de notre laboratoire et ayant fait l'objet de publication [49].

II-1-1 Prélèvement initial

Les échantillons de sang veineux ont été prélevés chez chacun des sujets à jeun, généralement au pli du coude à l'aide d'un système de ponction vacutainer. Le sang a été recueilli d'une part dans un tube avec EDTA pour la réalisation de la numération formule sanguine, et d'autre part dans un tube avec gel sans anticoagulant pour le dosage de la créatinine, de la cystatine C et de l'iohexol.

Ce prélèvement initial a été identifié t_0 .

Une urine de miction a également été recueillie le jour du prélèvement dans un réceptacle approprié (pot urinaire stérile de 30 ml) pour objectiver l'absence de

stigmates urinaires de néphropathie particulièrement la protéinurie, la leucocyturie, l'hématurie à partir d'une bandelette urinaire de 10 paramètres.

II.1.2 - L'injection d'iohexol

Dans une seringue stérile à usage unique, ont été prélevés, 5 ml d'iohexol. Après le prélèvement initial (t_0), chaque participant a fait l'objet d'une injection intra-veineuse directe de 5 ml d'iohexol. Les seringues ont été pesées (à l'aide d'une balance de précision de marque SARTORIUS^R) avant (seringue pleine), et après (seringue vide) l'injection d'iohexol pour déterminer le poids exact de produit injecté et en déduire sa quantité.

II.1.3- Prélèvements sanguins après l'injection d'iohexol

Une série de 4 prélèvements sanguins dans des tubes sous vide, sans anticoagulant avec gel, a été réalisée à intervalles de temps prédéfinis par rapport à l'injection de l'iohexol : 120 min, 180 min, 240 min, et 300 min. Les horaires exacts d'injection et de prélèvement de sang ont été relevés. Durant l'épreuve (après le prélèvement initial), le sujet pouvait se déplacer ou s'alimenter, exception faite de substances susceptibles d'interférer avec le dosage d'iohexol, notamment le café et l'alcool.

II.2 - Traitement et conservation des spécimens

Les prélèvements sanguins ont été centrifugés à 3500 tr/min pendant 5 minutes dans une centrifugeuse non réfrigérée. Aucun des sérums de notre série n'était trouble ni ictérique.

Les sérums ont été répartis en aliquotes de 1 ml dans des cônes Eppendorf^R puis congelés à -20°C. Le délai de conservation maximal a été de 1 mois.

L'acheminement des spécimens entre Abidjan et Liège a été fait avec un transporteur spécialisé selon la norme UN3373 [135].

II.3 - Méthode de dosage de l'iohexol

Le dosage de l'iohexol s'est fait sur les prélèvements initiaux à jeun (t_0), avant l'injection ainsi que sur les prélèvements réalisés à 120 min, 180 min, 240 min et 300 min après l'injection et notés respectivement t_{120} , t_{180} , t_{240} et t_{300} .

Les concentrations plasmatiques d'iohexol, ont été mesurées par chromatographie liquide haute pression (HPLC) selon la méthode de Krutzen [136].

II.3.1 - Principe de la HPLC [133]

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans la colonne chromatographique.

La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique.

Le mélange à analyser est injecté puis transporté au travers du système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire.

En sortie de colonne grâce à un détecteur approprié les différents solutés sont caractérisés par un pic grâce à un système de détection UV à 254 nm. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme.

II.3.2 - Mode opératoire

II.3.2.1 - Préparation des échantillons sanguins

Avant le dosage, les spécimens à analyser sont préparés selon le protocole suivant :

- Décongeler les échantillons sériques à analyser, les sérums de contrôle ainsi qu'un sérum ne contenant pas d'iohexol ;
- Ranger les échantillons sériques à analyser dans l'ordre selon lequel ils apparaissent sur la liste de travail ;
- Homogénéiser et centrifuger les échantillons sériques à 4000 tours/minute pendant 5 minutes ;
- Numéroter les microtubes coniques avec les numéros correspondant au plan de travail.

II.3.2.2 - Réalisation du dosage

Le dosage des échantillons préparés suit les étapes suivantes :

- Mettre 100 µl d'échantillon (solutions étalon, contrôles, sérums) dans les tubes coniques identifiés ;
- Ajouter 100 µl de HClO₄ 5% ;
- Homogénéiser au vortex ;
- Centrifuger à 13000 tours/minute pendant 5 minutes ;
- Prélever 100 µl du surnageant et l'introduire dans les vials correspondant puis sceller les vials ;
- Créer la liste de travail dans le menu de l'analyseur ;
- Disposer les vials dans l'analyseur ;
- Démarrer l'analyse.

Paramètres de la méthode de Krutzen

Les paramètres ci-dessous ont été appliqués à l'analyse chromatographique :

- Débit : 1ml /min ;
- Pression : < 100 bars ;
- Température : 40°C ;
- Solvant : Mélange eau bidistillée /acétonitrile (5%) / acide orthophosphorique (pH 3) ;
- pH : 3 ;
- Volume injecté : 20µl ;
- Longueur d'onde de mesure : 254 nm ;
- Colonne C18.

II.3.3 - Lecture et compilation des résultats

A la fin de l'analyse, la compilation des résultats consiste à :

- Sélectionner le pic dans la zone de migration de l'iohexol (Temps de rétention «3,5 min) ;
- Déterminer l'aire sous la courbe ;
- A partir des étalons, tracer la courbe d'étalonnage (surface des pics en fonction des concentrations connues d'étalon);
- Déterminer l'équation de la courbe d'étalonnage de la forme : $Y = aX + b$
- A partir des aires de chaque pic d'échantillon (X), calculer les concentrations d'iohexol (Y) correspondantes ;
- Les concentrations sont exprimées en µg/mL.

II.3.4 - Contrôle de qualité

Contrôles internes

Deux contrôles internes (C₁ et C₂) ont été intégrés dans chaque série de dosage en début et en fin de série.

Les valeurs des séries de contrôles utilisés sont relevées dans le tableau suivant.

Tableau IV: Contrôles interne de dosage de l'iohexol

	N° de lot /Date	M +/- ET	M+/- 2 ET	M+/- 3 ET
Contrôle C1 (µg/mL)	12080190/1	89-93.6	86.7 – 95.9	84.4 – 98.2
Contrôle C2 (µg/mL)	12080190/2	159.3 – 162.7	157.6 – 164.4	155.9 – 166.1

Contrôles externes

Un contrôle externe de qualité est réalisé sur le dosage de l'iohexol par HPLC dans le programme Equalis : 4 enquêtes par an (QCE.EQU.GES).

II.3.5 - Paramètres de validation

Le coefficient de variation (CV) analytique de la mesure de l'iohexol est <5%, pour des concentrations allant de 13 à 1300 µg/mL [49].

II.4 - Méthode de dosage de la créatininémie

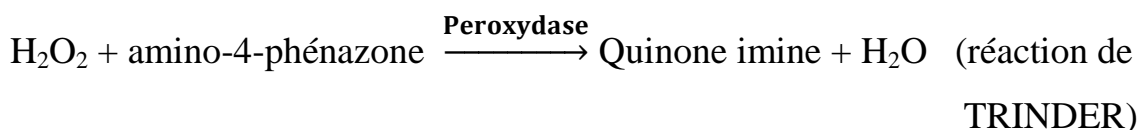
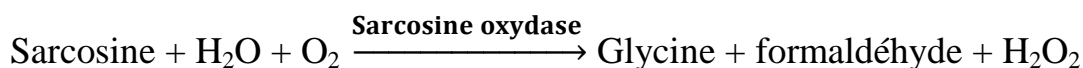
Le dosage de la créatininémie a été réalisé sur les prélèvements initiaux à jeun (T0), avant l'injection d'iohexol.

La créatininémie a été mesurée par une méthode enzymatique (à la créatininase avec peroxydase) calibrée sur la spectrométrie de masse, sur l'analyseur Cobas Intégra à longueur 505 nm (Roche diagnostic).

II.4.1 - Principe

La méthode de dosage enzymatique de la créatinine repose sur le dosage de la Sarcosine obtenue après transformation de la créatinine à l'aide de créatininase et de créatinase. L'action de la Sarcosine-oxydase sur la sarcosine conduit à la

formation d'eau oxygénée qui est mesurée à l'aide d'une réaction de Trinder modifiée.



(incolore)

rose / lecture à 505 nm

L'intensité de la coloration développée est directement proportionnelle à la concentration en créatinine.

II.5 - Méthode de dosage de la Cystatine C

Le dosage de la cystatinémie s'est fait sur les prélèvements initiaux à jeun (T0), avant l'injection d'iohexol.

La cystatine C a été déterminée par la méthode immunoturbidimétrique, technique de dosage immunologique de particules amélioré (PETIA). Nous avons utilisé l'analyseur automatique Cobas Integra 400 plus (Roche Laboratories) avec les réactifs et le principe décrits ci-dessous.

Les interférences décrites à ce jour avec la technique PETIA sont une sous-estimation de la cystatine C dans les sérums ictériques avec bilirubine supérieure à 100 mg / L ou des sérums avec une triglycéridémie supérieure à 15 g/L. Ces conditions étaient les critères d'exclusion de notre cohorte.

II.5.1 - Principe : Test immunoturbidimétrique sur particules de latex

Les particules améliorées de latex recouvertes d'anticorps anti-cystatine C de lapin agglutinent avec la cystatine C humaine pour former un complexe antigène-anticorps. Le degré de turbidimétrie causé par l'agglutinat est déterminé à 546 nm et est proportionnel à la concentration de cystatine C dans l'échantillon (figure 9).

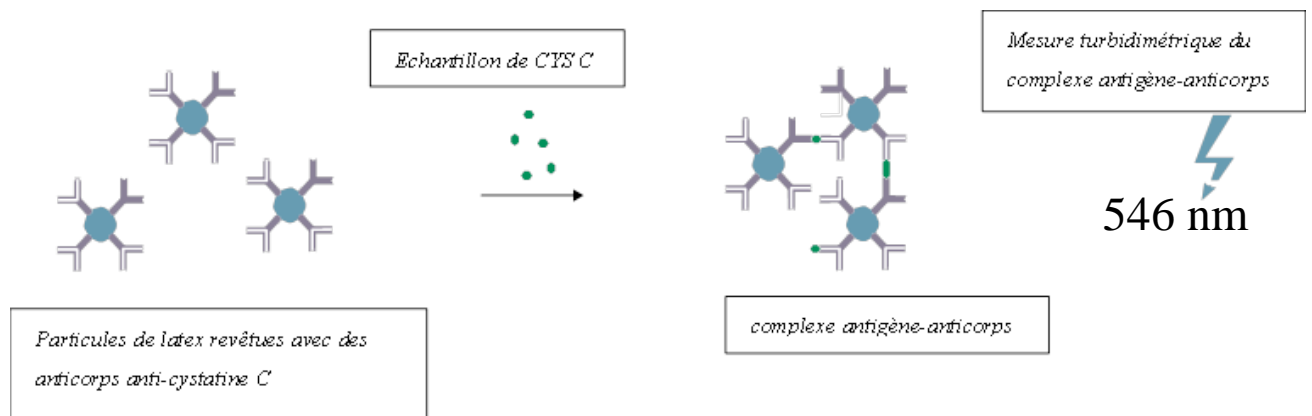


Figure 9: Schéma du principe de dosage immunoturbidimétrique de la cystatine C

II.5.2 - Caractéristiques de la méthode

Les caractéristiques de cette méthode immunoturbidimétrique sont :

- Temps de réaction : 10 min
- Calibration : 6 points
- Répétabilité : CV= 2,7% pour une concentration de 0,52 mg/L
et CV = 0,6% pour une concentration de 6,30 mg/L
- Intervalle de mesure : 0,4 – 8 mg/L

II.6 - Les différents DFG déterminés

II.6.1 - Détermination du DFG mesuré (DFG_m) ou clairance plasmatique

Nous avons utilisé le modèle pharmacocinétique monocompartimental dans lequel l'organisme est assimilé à un compartiment unique (le plasma) où se répartit la substance injectée (le marqueur). Dans ce modèle, La concentration $c(t)$ du marqueur à un temps « t » donné dans ce compartiment après la fin de l'injection est égale à l'exponentielle d « t ».

$$c(t) = I_1 e^{-b_1 t}$$

où I_1 est l'intercepte de la courbe sur l'axe des ordonnées, ce qui correspond à la concentration théorique du marqueur dans le compartiment à la fin de l'injection et b_1 le débit constant d'élimination.

L'intégrale de cette fonction correspond à l'ASC et est égale à I_1/b_1 . Dans ce modèle unicompartimental, le calcul de l'ASC ne tient donc pas compte de la première composante de distribution (car les prélèvements sanguins sont effectués après un intervalle de temps suffisant pour s'affranchir de cette première composante de distribution) et est donc sous-estimé. La clairance plasmatique et le DFG (dose injectée/ASC) s'en trouvent donc surestimés.

Afin de compenser la phase de distribution, la mesure du DFG a été corrigée par la formule de Brochner-Mortensen [30] publiée en 1972 (cf partie I).

Les résultats ont ensuite été normalisés à la surface corporelle (BSA) en utilisant la formule de Du Bois [137].

II.6.2 - Détermination des DFG estimés (DFG_e) par formules de calcul

Les DFG estimés ont été calculés à partir des formules MDRD et CKD-EPI exprimés en mL/min/1,73m² comme suit :

MDRD créatinine [138,139]

DFG estimé (mL/min/1,73 m²) = 175 × {[créatinine sérique (μmol/L) / 88.4]^{-1.154}} × âge (année)^{-0.203} × 0.742 (si femme) × 1.212 (facteur ethnique pour les Afro-Américains)

CKD-EPI créatinine [140]

DFG estimé (mL/min/1,73 m²) = 141 × min (Scr/k, 1)^α × max(Scr / k, 1)^{-1.209} × 0.993^{Age} × 1.018 (si femme) × 1.159 (facteur ethnique pour les Afro-Américains),

Scr = créatinine sérique, k = 0.7 pour femme et 0.9 pour homme, α = -0.329 pour femme et -0.411 pour homme, min = le minimum de Scr/k ou 1, max = le maximum de Scr/k ou 1.

CKD-EPI cystatine (Inker)[140]

DFG estimé (mL/min/1,73 m²) = 133 x min (Scys/0.8, 1)^{-0.499} x max (Scys/0.8,1) - 1.328 x 0.996 Age x 0.932 [si femme]

Scys (standardized serum cystatin C) = mg/l

min : indique le minimum de Scys / 0,8 ou 1

max : indique le maximum de Scys / 0,8 ou 1

Age : année

CKD-EPI combinée créatinine-cystatine (Inker)[140]

Chez les femmes:

DFG estimé = 130 × (SCreat/0.7)^a × (CysC/0.8)^b × 0.995Age [×1.08 si noir]

si SCreat ≤0.7 et CysC ≤0.8: a = -0.248 et b = -0.375;

Si SCreat ≤0.7 et CysC >0.8: a = -0.248 et b = -0.711;

si SCreat >0.7 et CysC ≤0.8: a = -0.601 et b = -0.375;

si SCreat >0.7 et CysC >0.8: a = -0.601 et b = -0.711

Chez les hommes

DFGestimé = $130 \times (\text{SCreat}/0.9)^a \times (\text{CysC}/0.8)^b \times 0.995^{\text{Age}}$ [$\times 1.08$ si noir]

si SCreat \leq 0.9 et CysC \leq 0.8: a = -0.207 et b = -0.375;

si SCreat \leq 0.9 et CysC >0.8: a = -0.207 et b = -0.711;

si SCreat >0.9 et CysC \leq 0.8: a = -0.601 et b = -0.375;

si SCreat >0.9 et CysC >0.8: a = -0.601 et b = -0.711

SCreat est exprimée en mg/dL, CysC en mg/L et l'âge en année.

II.7 - Analyse statistique

Nous avons utilisé les logiciels XLSTAT 2014, MedCalc et SPSS 21 pour le traitement statistique des données. La normalité des résultats a été appréciée par le test de Shapiro-Wilk. Les résultats sont exprimés en moyenne +/- écart-type ou médiane (interquartile). La performance des équations MDRD et CKD-EPI, avec et sans leur facteur ethnique, a été étudiée par le calcul du biais, de la précision et de l'exactitude à 30% (P30) par rapport à la méthode de référence à l'iohexol. Le biais est la moyenne des différences entre le DFG estimé et le DFG mesuré et la précision est l'écart type autour de cette différence. Le biais relatif est calculé par rapport au DFG mesuré. La P30 est le pourcentage de résultats estimés se trouvant dans $\pm 30\%$ des valeurs mesurées. Les P30 ont été comparées à partir du test de McNemar en utilisant alpha = 0,05 comme seuil de significativité. Les limites de concordance entre les DFG estimés et DFG mesurés ont été présentées par le graphique de Bland-Altman [141].

Chapitre 2 : RESULTATS ET COMMENTAIRES

Nos résultats sont organisés autour de 5 chapitres successifs imbriqués les uns aux autres.

La mesure du débit de filtration glomérulaire par la clairance plasmatique de l'iohexol a constitué la première articulation de nos travaux (chapitre I). Notre stratégie a été d'abord, de mesurer au sein d'une population de sujets sains, les « valeurs vraies » du DFG par une méthode de référence. Ensuite nous en avons déterminé « les valeurs estimées » par les équations en vigueur à travers les chapitres II (détermination des marqueurs sériques impliqués dans l'estimation du DFG) et chapitre III (estimation du débit de filtration glomérulaire à partir des équations). Cette approche nous a permis d'une part, d'apprécier la pertinence de l'application du facteur ethnique afro-américain chez les noirs africains (chapitre IV), et d'autre part de comparer les performances des différentes équations d'estimation du DFG (chapitre V), afin d'en tirer la plus adaptée au noir Africain.

I- MESURE DU DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE PAR LA CLAIRANCE PLASMATIQUE DE L'IOHEXOL

Cette première phase de l'étude a consisté à déterminer à partir d'une méthode de référence validée, la valeur mesurée du débit de filtration glomérulaire (DFGm) des participants. Les résultats sont présentés pour l'ensemble de la population saine ainsi que pour des sous-groupes repartis selon l'âge et le sexe.

I.1 - Distribution des valeurs du DFGm mesuré

Les valeurs de DFGm déterminées par iohexol dans la population de sujets sains sont présentées dans le **tableau V**. Les sujets sains concernés sont constitués de 120 femmes et 134 hommes adultes noirs Africains, recrutés selon des critères cliniques et biologiques comme décrits au chapitre matériel et méthodes. Le DFGm moyen est 103 ml/mn/1,73m² avec une médiane de 102 ml/mn/1,73m². La distribution des DFGm a montré une allure gaussienne avec une amplitude de 63 ml/mn/1,73m² à 169 ml/mn/1,73m² (**figure 10**).

Le test de SHAPIRO-WILK a permis d'attester la normalité de la distribution des valeurs de DFGm.

Tableau V: Valeurs moyennes des DFGm par iohexol dans la population d'étude

DFGm (ml/min/1,73m ²)	Moyenne +/- Ecart type	Médiane (p2,5 ; p97,5)	Valeurs extrêmes
Sujets sains (n= 254)	103+/-17	102 (76 ; 137)	63-169

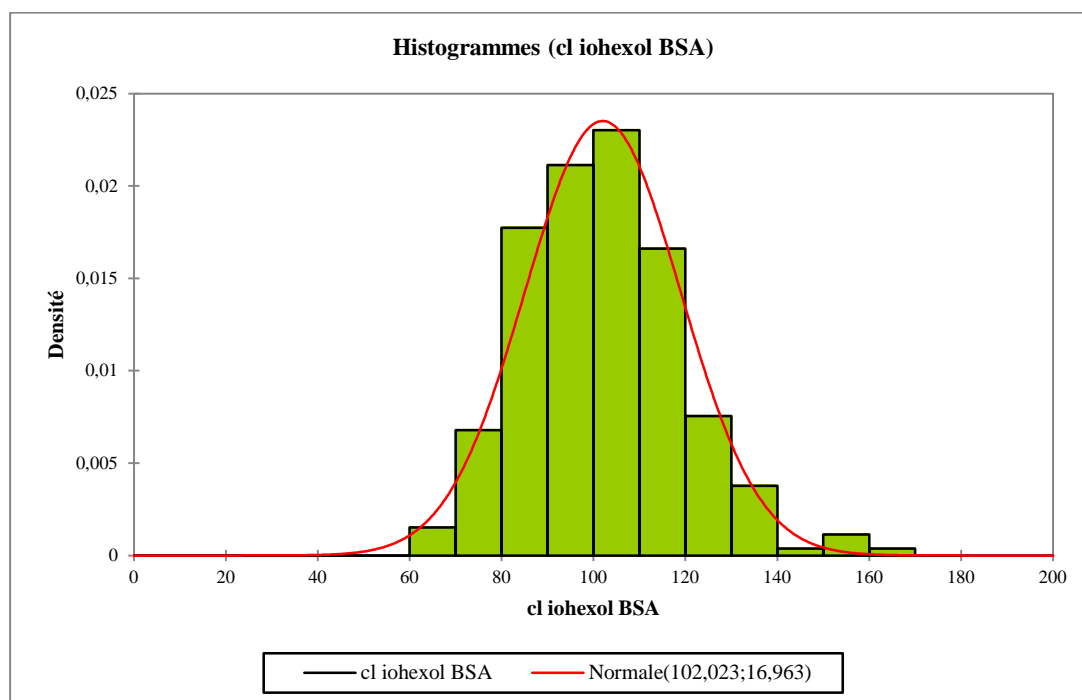


Figure 10: Distribution des DFGm par iohexol dans la population d'étude

I.3.2 DFGm mesurés selon l'âge et le sexe

Nous avons étudié les valeurs de DFG au sein de notre échantillon après une répartition en classe d'âge tout genre confondu (tableau VI), puis respectivement chez les sujets féminins (tableau VII) et masculins (tableau VIII).

Tableau VI: DFGm par iohexol en fonction de l'âge dans l'ensemble de la population

Classe d'âge	DFG (ml/mn/1,73 m ²)				Test t
	Moy +/- ET		IC 95%		
< 30 ans (n= 99)	107 +/- 15	105+/-16	103-109	103-107	NS
[30-40 ans [(n= 93)	103+/-18		100-107		
>= 40 ans (n= 62)	96 +/-16		92-100		<0,001

*Moy : Moyenne ET : Ecart-type IC : Intervalle de confiance

Tableau VII: DFGm par iohexol en fonction de l'âge dans la population de sexe féminin

Classe d'âge	DFG (ml/mn/1,73 m ²)		Test t
	Moy +/- ET	IC 95%	
< 40 ans (n= 87)	106+/-17	103 - 110	<0,001
>= 40 ans (n= 33)	94 +/- 16	88 - 99	

Tableau VIII: DFGm par iohexol en fonction de l'âge dans la population de sexe masculin

Classe d'âge	DFG (ml/mn/1,73 m ²)		Test t
	Moy +/- ET	IC 95%	
< 40 ans (n= 105)	104+/-16	101 - 107	0,113
>= 40 ans (n= 29)	98 +/- 17	92- 105	

L'étude en fonction des classes d'âge a montré l'absence de variations significatives du DFGm jusqu'à 40 ans (DFG moyen de 104 mL/min/1,73 m²) et une régression à partir de 40 ans ($p < 0,001$).

Concernant le sexe, nous n'avons pas trouvé de différence significative entre les hommes et les femmes.

II- DETERMINATION DES MARQUEURS SERIQUES IMPLIQUES DANS L'ESTIMATION DU DFG

Les formules d'estimation du DFG établies, impliquent toutes, l'utilisation d'au moins un marqueur endogène de la fonction rénale. Les marqueurs endogènes sériques admis à ce jour dans toutes les recommandations sont la créatinine et la cystatine utilisés seuls ou en combinaison.

Aussi, ce chapitre a visé à doser les concentrations sériques de créatinine et de cystatine C chez les participants à l'étude à partir de méthodes validées et standardisées.

II.2 – Créatinine sérique chez les sujets sains

Les résultats sont exprimés en mg/dL et présentés pour l'échantillon total d'une part et en fonction de l'âge et du genre d'autre part (Tableaux IX, X, XI).

La figure 11 montre la distribution de la créatinine sérique sur l'ensemble de la population saine.

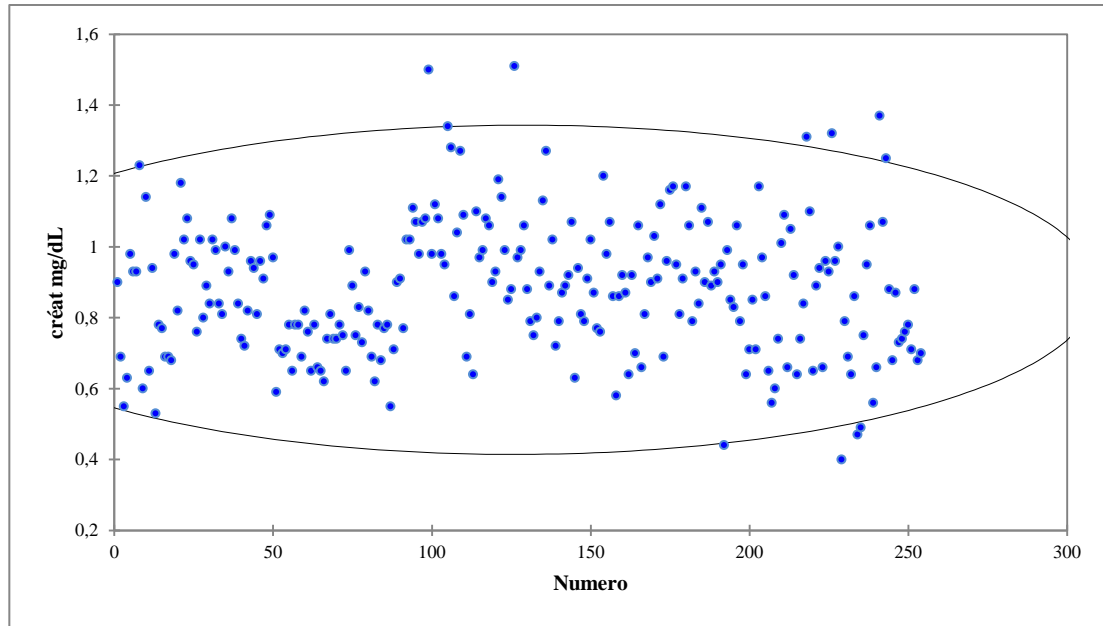


Figure 11: Distribution de la créatininémie dans l'ensemble de la population

Tableau IX: Concentrations sériques de la créatinine dans l'ensemble de la population

Paramètres	Moyenne	Ecart type	Médiane (p 2,5 – p 97,5)	(min- max)
Créatinine (mg/dL)	0,88	0,19	0,88 (0,55 – 1,28)	0,40 – 1,51

p 2,5 : 2,5^e centille

p 97,5 = 97,5^e centille

Tableau X: Concentrations sériques de la créatinine en fonction du genre

Paramètres	Créatinine (mg/dL)		Test t
	Moy +/- ET	Médiane (p 2,5 – p 97,5)	
Hommes (n =134)	0,98 +/- 0,15	0,97 (0,71 – 1,32)	<0,001
Femmes (n =120)	0,76 +/- 0,15	0,75 (0,53 - 1,07)	

Tableau XI: Concentrations sériques de la créatinine (mg/dL) en fonction de l'âge et du genre

	< 40 ans (n =192)	>= 40 ans (n = 62)
	Moy +/- ET Médiane (p 2,5- p 97,5)	Moy +/- ET Médiane (p 2,5- p 97,5)
Pop. Totale	0,88 +/- 0,18 0,89 (0,56 – 1,23)	0,88 +/- 0,21 0,86 (0,59-0,96)
Masculin	0,98 +/- 0,13 0,98 (0,72-1,25)	1,01 +/- 0,22 0,93 (0,71-1,50)
Féminin	0,77 +/- 0,16 0,75 (0,48-1,13)	0,76 +/- 0,11 0,74 (0,61-0,97)

L'étude selon le genre a montré une différence significative des valeurs entre hommes et femmes (tableau X). Par contre, nous n'avons pas noté de variations de créatininémie selon l'âge (tableau XI).

II.3 – Cystatine sérique

La cystatine sérique dosée par turbidimétrie est exprimée en mg/L et présentée pour l'échantillon total d'une part et en fonction de l'âge et du sexe d'autre part (tableaux XII à XIV). La figure 12 montre la distribution de la cystatinémie sur l'ensemble de la population d'étude.

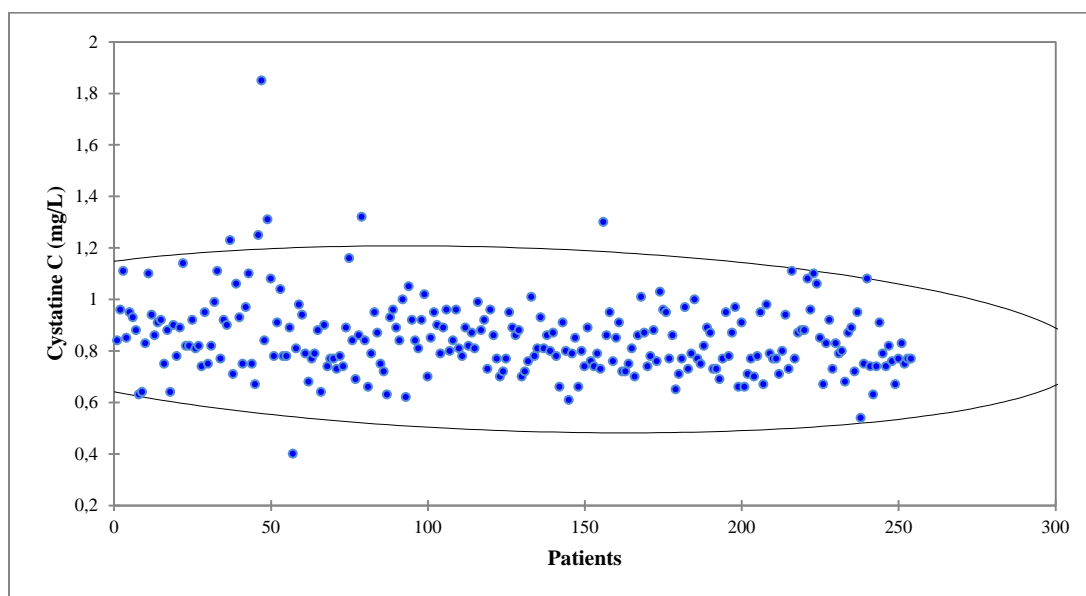


Figure 12: Distribution de la cystatine C dans l'ensemble de la population

Tableau XII: Concentrations sériques de la cystatine C dans l'ensemble de la population

Paramètres	Moyenne +/- Ecart type	Médiane (p 2,5 – p 97,5)	(min-max)
Cystatine C (mg/L)	0,85 +/- 0,15	0,82 (0,63 – 1,15)	0,40 – 1,85

Tableau XIII: Concentrations sériques de la cystatine C en fonction du genre

Paramètres	Cystatine C (mg/L)		p
	Moy +/- ET	Médiane (p 2,5 – p 97,5)	
Hommes (n =134)	0,87 +/- 0,15	0,86 (0,66 – 1,24)	0,307
Femmes (n =120)	0,82 +/- 0,14	0,79 (0,63 – 1,11)	

Tableau XIV: Concentrations sériques de la cystatine C en fonction de l'âge

	=< 50 ans (n = 233)	> 50 ans (n = 21)	p
Moy +/- ET	0,84 +/- 0,15	0,89 +/- 0,13	0,114
Médiane (p2,5 – p97,5)	0,81 (0,63 – 1,17)	0,89 (0,67 – 1,09)	-

La concentration moyenne de cystatine C dans la population d'étude était de $0,85 \pm 0,15$ mg/L avec une médiane à 0,82 mg/L et des percentiles respectifs de 0,63 et 1,15 mg/L (p 2,5 et p 97,5)

III- ESTIMATION DU DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE A PARTIR DES EQUATIONS

A la suite du dosage sérique de la créatinine et de la cystatine C, nous avons calculé les débits de filtration glomérulaire estimés (DFGe) des sujets à partir des équations de Crockroft et Gault, MDRD, et CKD-Epi.

Le présent chapitre est structuré en 2 parties en fonction du paramètre endogène utilisé dans l'équation d'estimation du DFG. Les équations retenues pour l'estimation du DFG de nos échantillons sont CG, MDRD à 4 variables et CKD-Epi (créatinine, cystatine et combinée) décrites dans le chapitre matériel et méthodes. Le choix de ces formules s'est fait sur la base des recommandations KDIGO 2013.

III.1 - DFGe estimés à partir des formules basées sur la créatinine

Les moyennes de DFGe des équations CG, MDRD et CKD-EPI consignées dans le tableau XV et la figure 13 sont toutes supérieures à 100 ml/min/1,73 m². De plus elles sont proches de la valeur de DFGm mesurée par la clairance plasmatique de l'iohexol et les écart-types sont relativement peu importants.

Tableau XV: DFGe par calcul à partir de la créatinine dans l'ensemble de la population

DFGe	Moyenne	Ecart type	Médiane	Valeurs extrêmes
CG (ml/min/1,73m ²)	106	22	104 (92-120)	54-197
MDRD (ml/min/1,73m ²)	111	25	108 (97-121)	56-224
CKD-Epi créat (ml/min/1,73m ²)	118	19	118 (107-130)	63-163
DFGm (ml/min/1,73m ²)	103	17	102 (76-137)	63-169

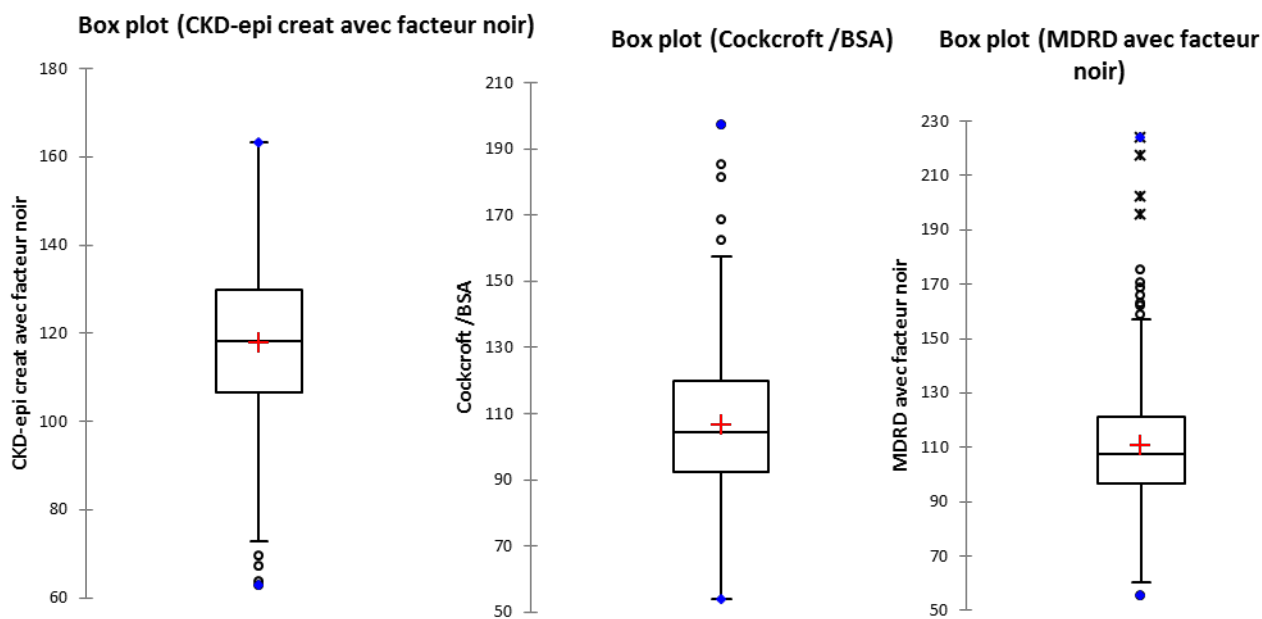


Figure 13: Box plot des DFGe estimés dans l'ensemble de la population

III.2 - DFGe à partir des formules basées sur la cystatine C

Les valeurs de DFGe estimés par les formules CKD-Epi cystatine et CKD-Epi combinée (cystatine – créatinine) sont consignées dans le tableau XVI.

Les DFGe moyens sont supérieurs à 100 ml/min/1,73 m² pour les 2 formules.

Tableau XVI: DFGe estimés par calcul à partir de la cystatine dans l'ensemble de la population

DFGe	Moyenne	Ecart type	Médiane	Valeurs extrêmes
CKD-Epi cys (ml/min/1,73m²)	104	17	107	41-143
CKD-Epi cys + créat (ml/min/1,73m²)	102	14	104	66-141
DFGm (ml/min/1,73m²)	103	17	102 (76-137)	63-169

L'ensemble des formules utilisées pour l'estimation du DFG au sein de notre population de sujets adultes noirs Africains sains, donne des valeurs moyennes supérieures à 100 ml/min/1,73 m² et des écart-types inférieurs ou égaux à 25 ml/min/1,73 m². Ces observations reflètent le caractère sain de la population d'étude et témoignent d'une homogénéité relative de la distribution de DFGe.

IV- PERTINENCE DE L'APPLICATION DU FACTEUR ETHNIQUE AFRO-AMERICAIN CHEZ LES NOIRS AFRICAINS

En réponse à l'absence de validation en population noire Africaine, des coefficients ethniques en vigueur dans les équations MDRD et CKD-Epi, le présent volet de notre travail a consisté à évaluer la pertinence de ces coefficients ethniques en population ouest-africaine.

Ainsi, les performances des équations avec et sans facteur ethnique, ont été comparées à partir de la mesure du DFG par la clairance plasmatique de l'iohexol.

La performance des équations MDRD et CKD-EPI, avec et sans facteur ethnique, a été étudiée par le calcul du biais, de la précision et de l'exactitude à 30 % (P30) par rapport à la méthode de référence.

Les résultats exprimés en moyenne +/- écart-type et médiane (interquartile) sont présentés dans le tableau XVII.

Les courbes de Bland-Altman (Figure 15) illustrent les limites de concordance entre les différentes formules.

Tableau XVII: Indicateurs de performance des formules d'estimation du DFG avec et sans le facteur ethnique afro-américain dans l'ensemble de la population saine

DFGe (ml/min/1,73m²)	Biais moyen +/-E.T	Biais médian (Q1 ; Q3)	Exactitude 30% (P30)	IC (95%)	P (Mc Nemar)	
MDRD	Avec facteur	8 +/- 24	6 (-6 ; 21)	82	3 – 5	0,659
	Sans facteur	-11 +/- 21	-13 (-23;1)	83	3 – -14	
CKD- Epi créat	Avec facteur	15+/-20	15 (3; 29)	76	2 – 13	< 0,001
	Sans facteur	-1 +/- 18	-1 (-12 – 11)	91	2 – -3	

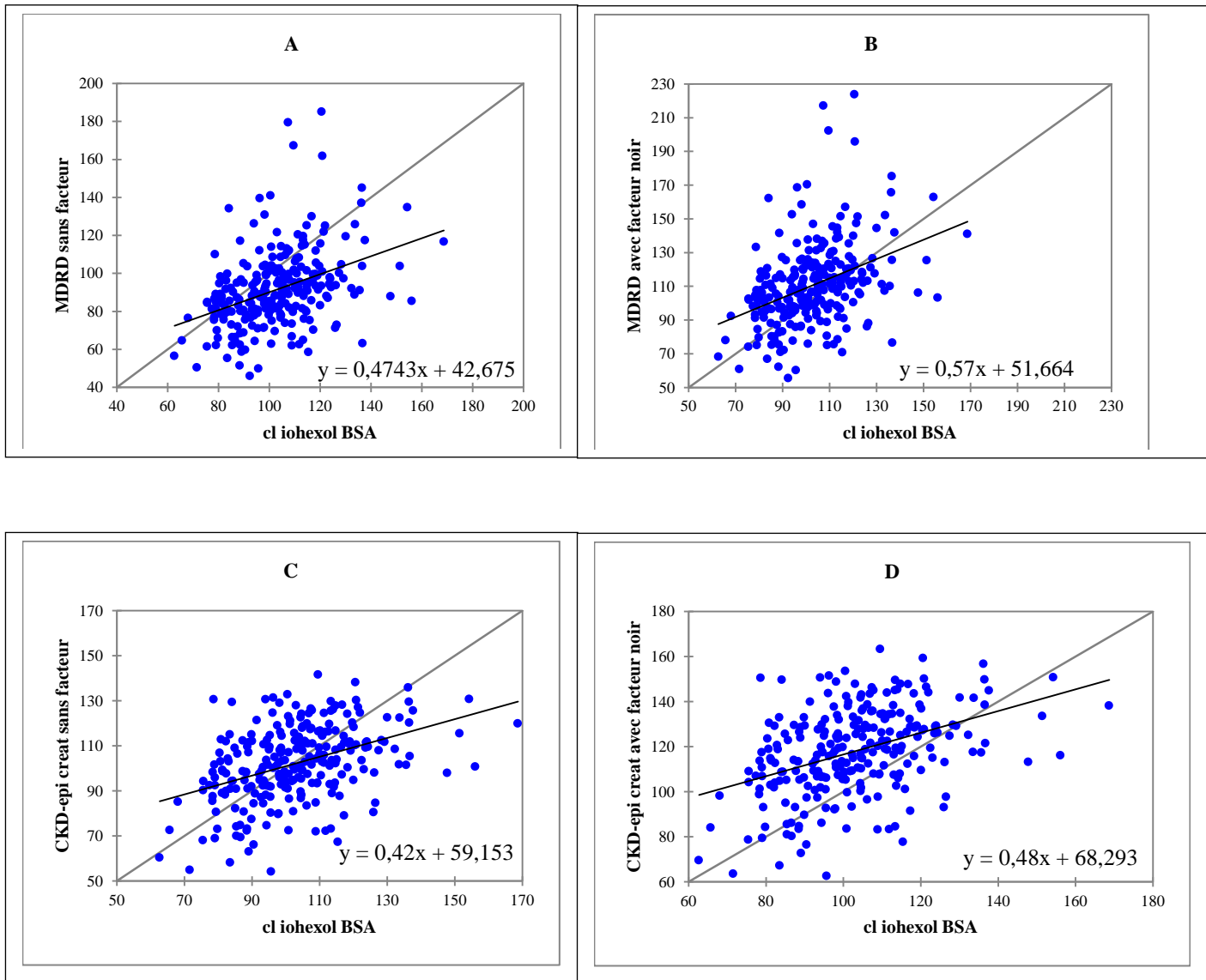


Figure 14: Courbes de régression linéaire de la clairance de l'iohexol avec les équations MDRD sans facteur (A), MDRD avec facteur (B), CKD-Epi créat sans facteur (C), CKD-Epi créat avec facteur (D)

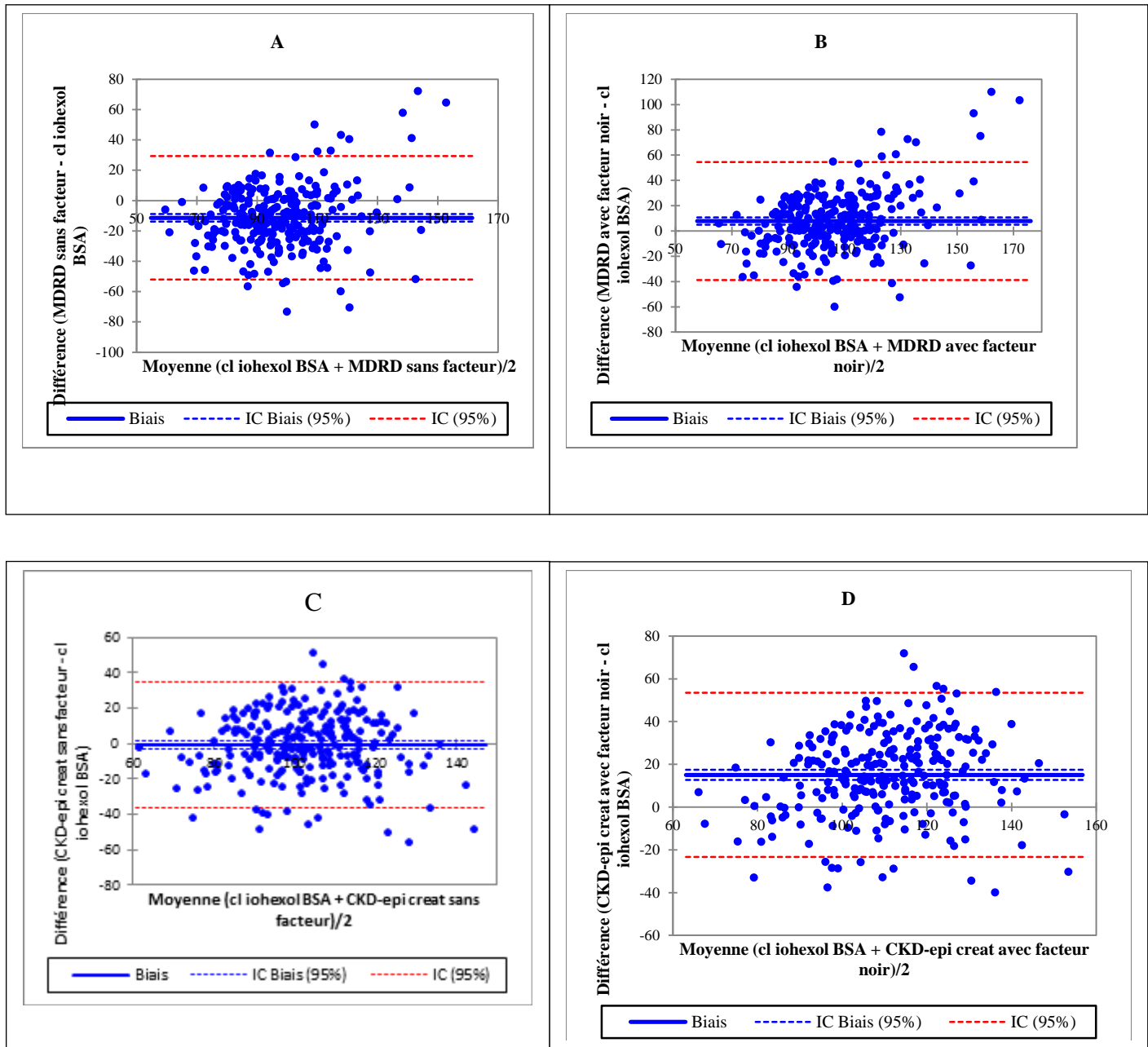


Figure 15: Courbes de Bland-Altman comparaison de la clairance de l'iohexol avec les équations MDRD sans facteur (A), MDRD avec facteur (B), CKD-Epi créat sans facteur (C), CKD-Epi créat avec facteur (D)

Les résultats obtenus montrent que la formule MDRD sans facteur ethnique sous-estime le DFGm de -11 ± 21 mL/min/1,73 m² avec une P30 de 83 %. A l'inverse, MDRD avec le facteur ethnique surestime le DFGm de $+8 \pm 24$ mL/min/1,73 m² avec une P30 de 82 %. A propos de l'équation CKD-EPI, l'exactitude est significativement meilleure pour l'équation sans facteur ethnique ($p < 0,0001$). Concernant l'équation MDRD, les biais observés dans notre population en l'absence du facteur ethnique Africain-Américain (AA) sont ceux attendus chez des sujets sains, à savoir une sous-estimation du DFG mesuré, contrairement à l'équation avec le facteur.

Il ressort de ce chapitre que les formules MDRD et CKD-Epi, se sont avérées plus performantes en absence du facteur AA au sein de notre population de sujets adultes noirs Africains.

Aussi, dans le chapitre suivant portant sur la comparaison des formules, les équations MDRD et CKD-Epi seront utilisées sans facteur Africain-Américain.

V- COMPARAISON DES PERFORMANCES DES EQUATIONS D'ESTIMATION DU DFG

Suite à la détermination des DFG_e estimés à partir des formules, nous avons recherché lesquelles concordaient le plus au DFG_m mesuré au sein de notre population de sujets noirs Africains. Pour ce faire, nous avons :

- D'abord, comparé les performances de chaque équation par rapport à la méthode de référence (clairance plasmatique de l'iohexol, préalablement mesurée). Cette comparaison a porté d'une part sur l'échantillon total, et d'autre part sur les sous groupes répartis en fonction de l'âge, du sexe et de l'indice de masse corporelle (IMC).
- Ensuite nous avons recherché la valeur ajoutée de la cystatine dans les équations chez le noir Africain.

V.1 – Performances des équations d'estimation à base de créatinine dans l'ensemble de la population

Les performances des différentes équations étudiées ont été comparées et sont présentées dans le tableau XVIII.

Les biais les plus faibles et les P30 les plus élevés sont en gras.

Pour toutes les équations, l'analyse de Bland et Altman a montré de grandes limites d'accord (figure 17).

L'étude des biais montre que l'équation CG surestime le DFG de 4 ml/min/1,73m² tandis que MDRD et CKD-Epi le sous-estiment respectivement de -11+/- 21 et -1 +/-8 ml/min/1,73m². La précision est similaire pour les trois équations (P> 0,05).

Les exactitudes à 30% sont respectivement de 86%, 83% et 91% pour les CG, MDRD et CKD-EPI.

Il en ressort que, des 3 formules, la formule CKD-Epi estime le mieux le DFG aussi bien au niveau du biais, de la précision que de l'exactitude.

Par contre, l'équation MDRD présente les plus mauvais critères de performance derrière la formule de CG, jugée obsolète par les guidelines.

V.2 – Performances des équations à base de cystatine versus à base de créatinine

Contrairement aux travaux de nombreux auteurs relatant une supériorité des formules basées sur la cystatine en population caucasienne, la comparaison des formules CKD-Epi créat et CKD-Epi cys dans notre échantillon, ne montre pas de plus value liée à l'usage de la cystatine C, avec des biais de -1 ± 18 versus 1 ± 20 ml/min/1,73 m²; L'exactitude à 30% est même supérieure avec la formule à base créatinine, même si la différence n'est pas significative. En outre, la formule combinée n'améliore pas significativement les performances de la formule CKD-créat : les biais sont égaux (-1 ml/min/1,73m² pour chacune) et les P30 sont similaires (91% versus 93%).

Tableau XVIII: Indicateurs de performance des formules du DFGe basées sur la créatinine et/ou la cystatine dans l'ensemble de la population

DFGe (ml/min/1,73 m ²)	Biais	Précision*	Exactitude 30%	Exactitude 20%	Exactitude 10%	P (Mc Nemar)
CG	4	22	86	66	41	-
MDRD (sans facteur AA)	-11	21	83	65	35	-
CKD-Epi créat (sans facteur AA)	-1	18	91	75	37	-
CKD-Epi cys	1	20	87	74	42	0,114**
CKD-Epi combiné	-1	17	93	80	51	0,711***

Précision = E.T du biais*

*** : comparaison P30 CKD-Epi créat vs CKD-Epi cys*

**** : comparaison P30 CKD-Epi créat vs CKD-Epi combiné*

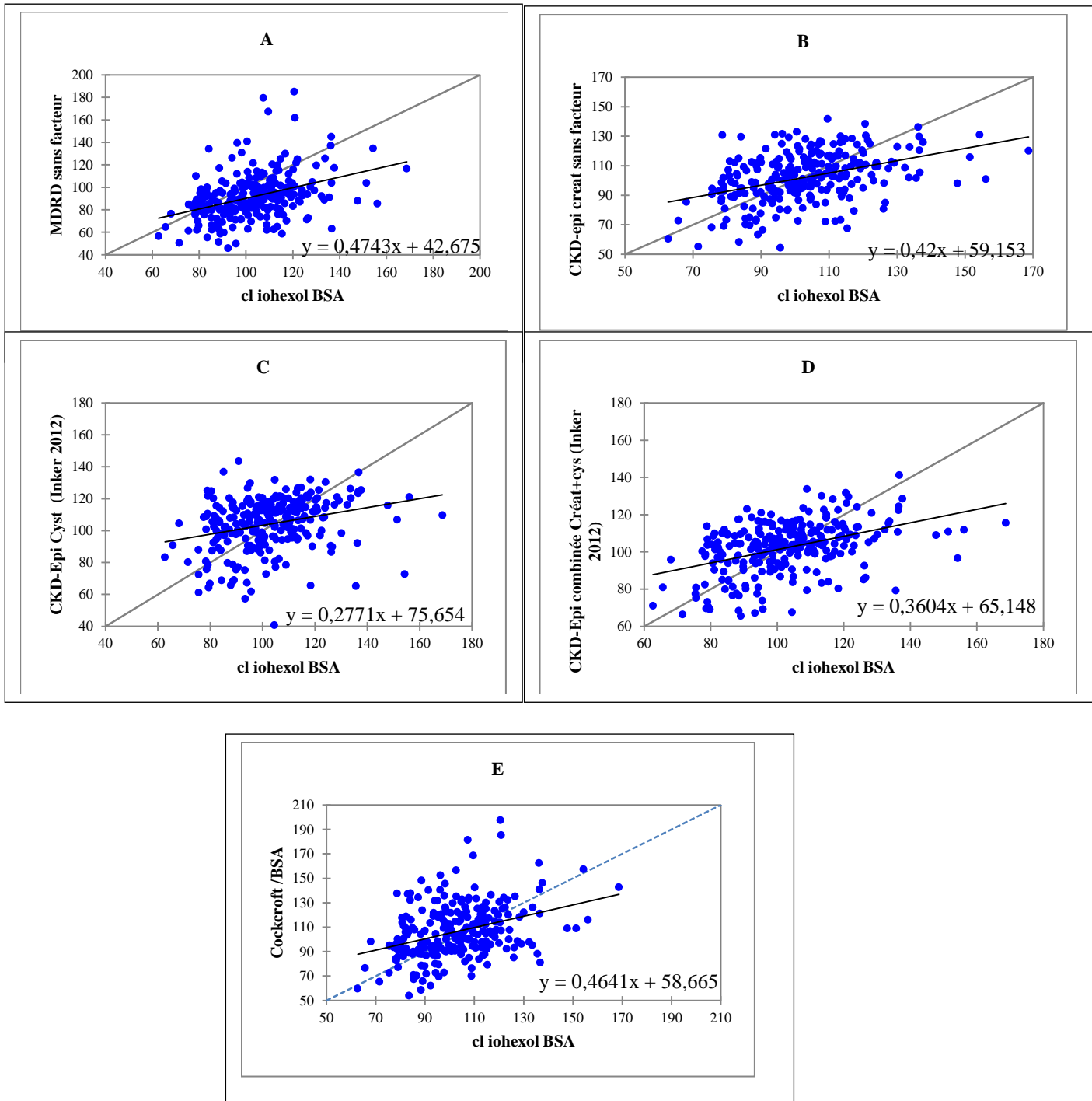


Figure 16: Courbes de régression linéaire ; comparaison de la clairance de l'iohexol avec les équations MDRD sans facteur (A), CKD-Epi créat sans facteur (B), CKD-Epi cys (C), CKD-Epi cys combinée (D),Cockcroft (E)

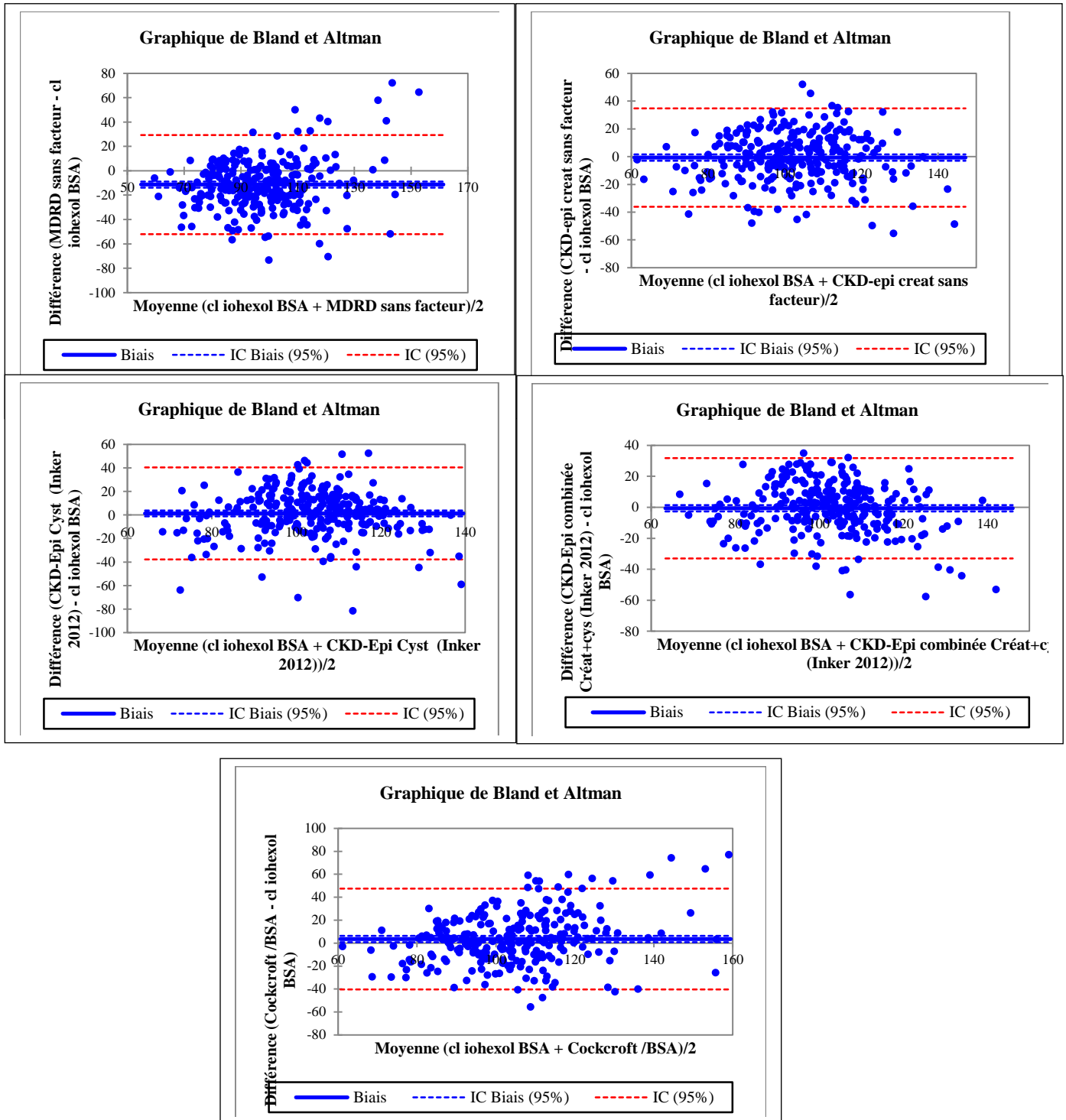


Figure 17: Courbes de Bland-Altman, comparaison de la clairance de l'iohexol avec les équations MDRD sans facteur (A), CKD-Epi créat sans facteur (B), CKD-Epi cys (C), CKD-Epi cys combinée (D), Cockcroft (E)

V.3 – Performances des équations en fonction du sexe, de l'âge et de l'IMC

Aussi bien chez les hommes que chez les femmes, la classification des formules à partir des critères de performance reste identique à celle de l'ensemble de la population (Tableau XIX). En premier rang la formule CKD-Epi, avec des biais n'excédant pas 2 ml/min/1,73m^2 et des P30 de l'ordre de 90%. Ensuite vient l'équation de CG suivi du MDRD.

Par ailleurs, les critères de performance sont meilleurs chez l'homme comparativement à la femme pour les formules CG et MDRD.

L'étude en fonction de l'âge est présentée dans le tableau XX. Elle montre d'une part, une supériorité de la formule CKD-Epi à l'intérieur de chaque classe d'âge et d'autre part une similitude des critères avant et au-delà de 40 ans pour chaque formule.

Les résultats en fonction de l'IMC sont consignés dans le tableau XXI. Chez les sujets à IMC normal, les performances des formules CKD-Epi créat et CG sont les meilleures et elles sont similaires avec des biais moyens de $1 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ et des P30 respectifs 93 et 92%. La formule MDRD apparaît la moins performante avec un biais de $-9 \text{ ml/min/1,73 m}^2$. Chez les sujets maigres et en surpoids, seule la formule CKD-Epi donne des exactitudes (P30) supérieure à 85%.

Tableau XIX: Indicateurs de performance des formules du DFGe basées sur la créatinine et/ou la cystatine C en fonction du genre

DFGe (ml/min/1,73m²)		Biais	Précision*	IC	Exactitude 30%
CG	M	-3	18	-13 - 7	95
	F	11	25	-5 - 26	76
MDRD (sans facteur AA)	M	-12	19	-15 - -8	88
	F	-11	23	-15 - -7	78
CKD-Epi créat (sans facteur AA)	M	-2	17	-5 - 1	91
	F	1	19	-3 - 4	92
CKD-Epi cys	M	2	20	-1 - 6	86
	F	-1	20	-4 - 3	88
CKD-Epi combiné	M	-1	16	-4 - 1	93
	F	-1	18	-4 - 3	93

M= masculin F= féminin

Précision* = E.T du biais

Tableau XX: Indicateurs de performance des formules du DFGe basées sur la créatinine et/ou la cystatine C en fonction de l'âge

DFGe (ml/min/1,73m²)	Age (Ans)	Biais	Précision*	IC	Exactitude 30%
CG	<40	4	22	1 - 7	86
	>= 40	2	23	-4 - 8	85
MDRD (sans facteur AA)	<40	-11	21	-14 - -8	82
	>= 40	-12	19	-16 - -7	87
CKD-Epi créat (sans facteur AA)	<40	1	18	-2 - 3	91
	>= 40	-4	17	-8 - 1	92
CKD-Epi Cys C	<40	1	21	-2 - 4	87
	>= 40	1	19	-4 - 6	87
CKD-Epi combinée	<40	0	17	-3 - 2	93
	>= 40	-3	15	-6 - 1	92

Précision* = E.T du biais

Tableau XXI: Indicateurs de performance des formules du DFGe basées sur la créatinine et/ou la cystatine C en fonction de l'IMC (kg/m²)

DFGe (ml/min/1,73m²)	IMC (kg/m²)	Biais	Précision *	IC	Exactitude 30%
CG	=< 18,5 (n=14)	-3	29	-18 - 13	71
	18,5-25 (n=153)	1	21	-3 - 4	92
	>25 (87)	10	23	5 - 15	77
MDRD (sans facteur AA)	=< 18,5	-4	31	-20 - 13	50
	18,5-25	-9	19	-12 - -6	89
	>25	-16	20	-20 - -12	79
CKD-Epi créat (sans facteur AA)	=< 18,5	6	22	-5 - 18	86
	18,5-25	1	16	-1 - 4	93
	>25	-5	19	-9 - -1	89
CKD - Epi Cys C	=< 18,5	-5	21	16 - 6	93
	18,5-25	3	20	-1 - 6	83
	>25	-1	19	-5 - 3	93
CKD - Epi combinée	=< 18,5	0	20	-10 - 10	93
	18,5-25	1	16	-2 - 3	93
	>25	-4	17	-7 - 0	92

Précision* = E.T du biais

Chapitre 3 : DISCUSSION

I- MESURE DU DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE PAR LA CLAIRANCE PLASMATIQUE DE L'IOHEXOL

I.1 - Introduction

La clairance plasmatique de l'iohexol a constitué la méthode de référence utilisée pour la mesure du débit de filtration glomérulaire dans notre population d'étude [51,142,143]. Le but de cette phase de l'étude a consisté à déterminer à partir d'une méthode de référence validée, la « valeur vraie » ou la « valeur mesurée » du débit de filtration glomérulaire des participants dénommée DFGm. Cette valeur mesurée (DFGm) a permis secondairement d'évaluer les estimations du DFG (DFGe) établies à partir des équations recommandées par les guidelines internationaux (KDIGO).

Le modèle utilisé est un modèle monocompartimental corrigé par la formule de Brochner-mortensen, après injection unique d'iohexol et prélèvements plasmatiques multiples (cf chapitre matériel et méthodes). Le dosage de l'iohexol a été réalisé par chromatographie liquide haute performance selon la méthode de Krutzen décrite au chapitre matériel et méthodes.

I.2 – Choix de la méthode

Les méthodes de référence de mesure du DFG font appel à des traceurs exogènes excrétés par le rein et présentant certains critères notamment une élimination rénale exclusive avec filtration libre au niveau du glomérule sans absorption ni sécrétion tubulaire. Parmi elles, la gold standard reste la clairance urinaire de l'inuline, mais celle-ci est relativement onéreuse et fastidieuse à mettre en œuvre en routine [51,54]. De même les traceurs radiomarqués développés pour l'étude du DFG (l'acide éthylènediaminetétra-acétique ⁵¹Cr (EDTA) ou ⁹⁹Tc-diéthylènetriaminepentaacétique (DTPA) sont coûteux et présentent en plus, la contrainte d'une manipulation délicate, rigoureusement réglementée [51,144] et donc peu assessible surtout dans des pays en voie de

développement. L'iothalamate, bien que préférentielement utilisé aux Etats Unis, a été décrit comme possédant un transport tubulaire gradient-dépendant [142,145,146].

Par contre l'iohexol, marqueur iodé non-ionique, allie à la fois les caractéristiques d'un bon traceur exogène et une méthode de dosage par HPLC bien validée, relativement facile à mettre en œuvre dans des laboratoires de biologie [142,147,148]. En effet, moins de 2% d'iohexol se lie aux protéines plasmatiques et son excretion est presque exclusivement urinaire avec une clairance extra-rénale comprise entre 0 et 6 ml/min/1,73m² [136,147,149,150]. De plus il n'est ni sécrété, ni réabsorbé par le rein. L'iohexol est un marqueur de faible osmolalité, largement utilisé en radiologie clinique et considéré exempt d'effets secondaires aux doses utilisées pour la détermination du DFG même chez les diabétiques et les patients ayant une atteinte rénale modérée [35,48,51,52]. Il a même été utilisé par certains auteurs, avec satisfaction chez des enfants et des femmes enceintes [151]. Aucun événement indésirable grave et en particulier aucune réaction anaphylactique n'est rapporté dans l'ensemble des pays où il est utilisé depuis les années 1980 [148,152]. Ce potentiel sécurité, relève en partie des faibles doses injectées, nécessaire pour son dosage [136,153].

En effet, au plan analytique, l'iohexol présente de véritables atouts ; d'abord son dosage par HPLC-UV dans le sérum après déprotéinisation est sensible, précis, spécifique, et reproductible permettant l'usage de faibles doses d'iohexol [49,154–161]. Ensuite, la mesure du DFG par clairance plasmatique ou urinaire de l'iohexol a fait l'objet d'un protocole rigoureux, approfondi et validé ayant fait l'objet de publication [51]. La méthode a également été validée au cours de plusieurs études aussi bien par rapport à la clairance de l'inuline [46,134,162] que par rapport à celle de ⁵¹Cr-EDTA [142,160,163–166]. C'est pourquoi, l'iohexol est actuellement admis comme un marqueur de référence de mesure du DFG et largement utilisé pour les études d'évaluations de formule d'estimation

du DFG [115,116,119,120,143]; c'est la méthode la plus utilisée en Europe [167]. Un autre atout important à relever est que l'iohexol est le seul marqueur de référence de mesure du DFG qui fait l'objet de contrôle de qualité externe interlaboratoire au niveau international (CQE Equalis).

De plus, c'est un marqueur remarquablement stable aussi bien à température ambiante qu'à -20 ou -80°C et possédant un coût faible. Avec tout ces avantages, l'iohexol s'est avéré être le meilleur marqueur de référence pour la conduite de notre étude.

I.3 – Débit de filtration glomérulaire mesuré (DFGm)

Publication 1 : Measured (and estimated) glomerular filtration rate:reference values in West Africa, Nephrol Dial Transplant (2017) 1–5, doi: 10.1093/ndt/gfx244

De notre étude, nous retenons la valeur de 103 +/- 17 ml/min/1,73m² comme valeur normale de DFGm chez les adultes noirs Africains. Cette valeur est nettement plus basse que celles publiées par Smith [40] et Wesson [19] chez les caucasiens avant les années soixante dix qui étaient de l'ordre de 130 ml/min/1,73m². Toutefois des études publiées plus récemment [87,168–175] ont présenté des valeurs normales proches des nôtres variant de 100-110 ml/min/1,73m² selon les études. Plusieurs raisons sont avancées pour expliquer l'écart entre ces deux groupes de valeurs. La principale est l'indexation du DFG à la surface corporelle; en effet Poggio et al. ont montré dans la population générale, une augmentation depuis les 3 dernières décénies, du poids, de l'indice de masse corporelle et donc la surface corporelle [168,176] ; cette observation est d'autant plus pertinente que l'écart n'a pas été observé lorsque la comparaison portait sur les DFG non indexés. Secondairement, la différence de méthodes utilisées pour la mesure du DFG peut être évoquée. Les anciennes études ont utilisé la clairance de l'inuline alors que les récentes études ont plutôt préféré l'iohexol, l'iothalamate ou le ⁵¹Cr-EDTA ; or il est admis que de petites

différences de DFG puissent être observées selon la méthode de mesure utilisée [145,169,170,176–178].

Concernant une influence potentielle de l'ethnie, nous avons procédé à une approche indirecte, vue la composition exclusive de notre cohorte par des noirs Africains. Le DFGm moyen observé chez les hommes dans notre série est très similaire aux résultats observés par Poggio et al. chez les hommes AA [168]. Dans cette même étude, Poggio et al. ont conclu à une différence non significative entre les DFGm des AA et des caucasiens. Ce résultat confirmait les conclusions préliminaires de Shock [179] qui suggérait en 1946 qu'il n'existe aucune différence significative entre les DFG des AA et des caucasiens. Par ailleurs dans une méta analyse relativement récente, Pottel et al. [180] rapportent plusieurs études s'accordant sur une valeur normale de DFGm autour de 107 ml/min/1,73m² avant 40 ans (donc proche de nos résultats). Ainsi sur la base des résultats de Pottel et de Poggio et al. et des méta-analyses récentes [168,180,181], nous suggérons que les valeurs normales de DFG sont similaires dans les populations AA, Caucasiennes et ouest- Africaines.

* DFGm mesurés selon l'âge et le sexe

L'étude en fonction des classes d'âge a montré l'absence de variations significatives du DFGm jusqu'à 40 ans (DFG moyen de 104 mL/min/1,73 m²) et une régression statistiquement significative à partir de 40 ans. La diminution physiologique du DFGm avec l'âge est une chose établie et confirmée par la plupart des études [176,182–188]. Par, contre les avis sont partagés quant à l'âge et l'ordre de grandeur de ce déclin physiologique du DFGm. Ainsi plusieurs auteurs ont publié une diminution continue de DFGm évaluées entre 6 et 12 ml /min /1,73m² par décennie selon les études [185,188]. Selon l'étude de Davies et Shock publiée en 1950 [185], cette diminution débute dès la décennie de 20 à 29 ans ; cette observation également rapportée par certaines études plusieurs années plus tard [87,175,189], diffère de notre assertion selon laquelle, la baisse

du DFGm liée au vieillissement n'apparaît qu'après l'âge de 40 ans. Cette stabilité du DFGm avant 40 ans est rapportée par plusieurs études récentes aussi bien en Europe qu'en Asie [169,171,173]. La méta-analyse de Pottel et al. sur les donneurs vivants de reins en donne une belle illustration [180]. Aussi, le déclin du DFGm à partir de 40 ans a servi de base de modélisation dans la construction mathématique de la récente équation FAS (Full Age Spectrum) [80].

Concernant le genre, nous n'avons pas trouvé de différence significative de DFG entre hommes et femmes. Les méta-analyses de Delanaye [176] et de Pottel [180] rapportent de nombreuses études en accord avec une absence de variation du DFGm selon le genre, au moins avant l'âge de 50 ans [168–170,180,183,184,190]. Les observations contraires (variations selon le genre) relèvent d'études relativement anciennes [19,40], ou portant sur des populations de plus de 50 ans [168]. Il faut toute fois rappeler que notre cohorte est constituée majoritairement de sujets relativement jeunes, avec un effectif de seulement 21 participants chez les plus de 50 ans.

I.4 – Conclusion

Pour la première fois, des valeurs de référence pour le DFGm ont été établies dans une population saine vivant en Afrique noire. Les données antérieures portaient uniquement sur les Africain-Américains. Nos résultats contribuent à combler le manque de données relatives aux valeurs normales de DFG chez les noirs Africains en général et chez les ouest-Africains en particulier.

Au total, il ressort que les valeurs normales de DFGm ne varient ni avec la race ni avec le genre, mais décroissent avec l'âge au-delà de 40 ans. En d'autres termes les valeurs de DFGm sont superposables chez les Africain-Américains, les Caucasiens et les noirs Africains (au moins avant l'âge de 40 ans).

II- DETERMINATION DES MARQUEURS SERIQUES IMPLIQUES DANS L'ESTIMATION DU DFG

II.1 – Créatinine sérique

Comme rapporté dans les études antérieures aussi bien en population caucasienne [191] que Africaine [130,166] , nous n'avons pas noté de variations de créatininémie selon l'âge au niveau de notre population adulte (entre 18 et 67 ans), mais nous avons observé une variation liée au sexe. Chez les sujets de sexe masculin, les percentils 2,5 et 97,5 sont respectivement de 0,71 mg/dl et 1,32 mg/dl, versus 0,53 et 1,07 mg/dl chez les sujets de sexe féminin. Ces valeurs sont comprises dans les intervalles de référence précédemment établis par plusieurs auteurs chez des sujets noirs Africains, notamment Yapo et al. en Côte d'Ivoire [130] et Sakandé et al. au Burkina Faso [192]. Les intervalles de référence beaucoup moins larges retrouvés par rapport à ces 2 études pourraient s'expliquer par les critères plus stricts dans la sélection des patients de notre cohorte et par la différence des méthodes de dosage. En effet, notre population d'étude a été recrutée parmi les donneurs de sang à la suite d'une sélection clinique et biologique tandis que Yapo et Sakandé ont travaillé avec des patients tout-venants sélectionnés sur la base d'un questionnaire; Au niveau analytique, contrairement à notre étude utilisant un dosage enzymatique de la créatinine, Yapo et Sakandé ont eu recours à des méthodes de dosage non IDMS, et il est admis que la méthode de dosage peut influencer les valeurs de créatinine sérique. Par ailleurs, comparativement aux valeurs de références Européennes [193] établies à partir des mêmes méthodes de dosage que nous, nos résultats ne présentent pas de différence significative. De même, lors des études précédentes sur des populations saines noires Africaines, réalisées notamment par Yapo et al. en Côte d'Ivoire, Sakandé et al. au Burkina Faso ainsi que Boum et al. au Cameroun [166], ces auteurs avaient rapporté l'absence de variation de la créatinine sérique en comparaison aux valeurs occidentales.

Il faut noter qu'à notre connaissance, les travaux ayant étudié à la fois la créatininémie de populations caucasiennes et populations noires, concernaient les noirs Américains [90,194,195]. Ces travaux ont conclu à des valeurs plus élevées de créatinine sérique chez les Afro-Américains comparativement aux caucasiens. Ainsi, on pourrait de façon indirecte, déduire que la créatinine sérique des populations noires Africaines est semblable à celle des caucasiens mais plus basse que celle des noirs Américains.

II.2 – Cystatine C sérique

Publication 2 : Yayo et al.; Cystatin C, Age and Gender in Healthy African Black Adults: Ivorian Exemple. International Journal of Biochemistry Research & Review (IJBCRR), 2016, 10(3): 1-6

La concentration moyenne de cystatine C dans la population d'étude était de $0,85 \pm 0,15$ mg/L avec une médiane à 0,82 mg/L et des percentiles respectifs de 0,63 et 1,15 mg/L (p 2,5 et p 97,5). Ce résultat est superposable à celui de Okowonko [196] dans sa série Nigériane de sujets sains noir-Africains (intervalle de référence de 0,64 – 1,12 mg/L) et est inclut dans l'intervalle de référence plus large de 0,56 à 1,27 mg/l rapporté par Wei et al. [182] chez des populations asiatiques de moins de 60 ans.

Plusieurs études ont rapporté une augmentation des concentrations de cystatine C avec l'âge notamment autour de 50 à 60 ans selon les études [98,182,196–199]. Aussi, nous avons réparti notre population en 2 sous groupes selon l'âge et la variation de cystatine selon l'âge a été étudiée dans les tranches de moins de 50 ans et de plus de 50 ans. Bien que la variation ne soit pas significative, les valeurs moyennes ont été plus élevées au-delà de 50 ans. L'effectif faible des plus de 50 ans dans notre cohorte (seulement 8%) pourrait expliquer ce résultat et nous pensons que des études ultérieures incluant un nombre plus important de personnes âgées s'avèrent nécessaires pour tirer une conclusion.

La concentration moyenne chez les hommes est supérieure à celle des femmes mais sans que la différence ne soit significative. La majorité des études aussi bien en population Africaine que Caucasienne ne rapportent pas de différence selon le sexe [97,98,200–205].

III- PERTINENCE DE L'APPLICATION DU FACTEUR ETHNIQUE AFRO-AMERICAIN CHEZ LES NOIRS AFRICAINS

Publication 3 : Yayo et al.; Inadéquation du facteur ethnique pour l'estimation du débit de filtration glomérulaire en population générale noire-africaine : résultats en Côte d'Ivoire. Néphrologie & Thérapeutique 2016 (12) : 454-459

III.1 - Introduction

Dans les chapitres précédents, nous avons largement montré l'intérêt de l'évaluation de la fonction rénale à partir du DFG, et la nécessité de disposer de méthodes pratiques, fiables et accessibles à cet effet. Cet intérêt a suscité depuis plusieurs décennies, de nombreuses études qui ont permis d'établir différentes équations dont les plus recommandées dans les directives actuelles sont la Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) et la Chronic Kidney Disease-Epidemiology Collaboration (CKD-EPI); deux équations qui tiennent compte d'un facteur ethnique pour les populations de race noire. Seulement, ces facteurs découlant d'études réalisées sur des populations noires Afro-Américaines (AA), n'ont pas été validés chez des populations noires Africaines (vivant de surcroît en Afrique). Dès lors le bien-fondé de leur application chez ces populations Africaines méritait d'être élucidé.

Le présent volet de notre travail a consisté à évaluer la pertinence de ces coefficients ethniques en population ouest-africaine, à partir de la mesure du DFG préalablement réalisée par une méthode de référence à savoir la clairance plasmatique de l'iohexol (chapitre 1).

III.2 – Etude du facteur AA (Afro-Américain)

Dans ce travail, nous démontrons, pour la première fois dans une population africaine « locale » et en utilisant une méthode de référence pour la mesure du DFG, que la performance des équations CKD-EPI ou MDRD est significativement meilleure, en population générale, sans le facteur AA habituellement proposé. Cette inadéquation est d'autant plus évidente que notre

population est sélectionnée sur des critères de bonne santé. En effet, l'usage du facteur ethnique dans cette population saine, entraîne une surestimation du DFG mesuré, ce qui va à l'encontre des connaissances actuelles sur l'estimation de la fonction rénale. En effet, il est bien connu que la formule CKD-EPI présente un biais acceptable alors que la formule MDRD, quant à elle, sous-estime clairement le DFG des sujets sains [10,82,206]. En l'absence du facteur ethnique AA, les biais observés dans notre population, sont ceux attendus à savoir une sous-estimation du DFG mesuré avec MDRD et un biais acceptable pour CKD-EPI. Ces résultats et cette interprétation renforcent la meilleure performance, en termes de P30, qui sont observés lorsque les formules MDRD et CKD-EPI sont utilisées sans facteur ethnique. Il faut rappeler que certains auteurs ont, dans le passé, déjà critiqué le facteur AA en lui-même, accusé d'être trop élevé surtout lorsqu'il est appliqué, à des sujets sans insuffisance rénale [11,207]. En effet, ce facteur ethnique AA a été déterminé à partir de sujets AA qui, pour l'immense majorité, provenaient de l'étude African-American Study of Hypertension and Kidney Disease (AASK) et présentaient un DFG diminué [208]. Or, plusieurs études montrent que la relation entre créatinine sérique et DFG n'est pas toujours la même chez le patient avec une MRC et chez le patient sain [10,11,83,121,209]. La formule de l'équation CKD-EPI en est la meilleure illustration. Le facteur AA semble adéquat dans la population AA avec MRC [90], mais il existe des preuves, certes indirectes, que ce coefficient sur-corrige le DFG en population saine [11]. Cette observation pourrait en partie expliquer un grand paradoxe épidémiologique observé aux États-Unis. En effet, la prévalence de la MRC terminale chez l'AA est beaucoup plus élevée comparativement à l'américain Caucasiens alors que la MRC précoce est moindre chez l'AA [210]. Dans le cadre de cette étude, il est important de vérifier qu'un facteur « ethnique » est bien applicable universellement. À ce stade de la discussion, il nous semble intéressant de revoir quelles sont les origines de ce facteur AA. Il trouve sa justification dans le fait que l'ethnie

influence l'estimation du DFG basée sur la créatinine sérique. En d'autres termes, pour un même niveau de DFG, la créatininémie est plus élevée chez des sujets AA [208], comparativement à leurs homologues d'ethnie caucasienne. Ces différences sont également observées chez le sujet africain vivant en Europe [12] mais toujours en population avec maladie rénale chronique. Deux hypothèses sont avancées pour expliquer ces différences: soit la sécrétion tubulaire de créatinine est plus faible chez les sujets noirs soit la production de créatinine est plus élevée chez ces sujets, en relation, notamment, avec une masse musculaire plus importante. Il existe peu d'arguments pour la première hypothèse. Flamant et al. [12] et Goldwasser et al. [211] rapportent plutôt des observations contraires dans leurs cohortes respectives de sujets africains vivant en Europe et de sujets AA. La seconde hypothèse apparaît donc plus crédible et peut s'expliquer par la différence de régime alimentaire, de composition corporelle ou de métabolisme musculaire [212]. Le métabolisme musculaire, c'est-à-dire la vitesse de conversion de la créatine en créatinine reste très difficile à étudier [212,213]. La production de créatinine potentiellement plus importante chez le sujet noir Américain, de par sa plus grande masse musculaire, peut être abordée, certes de manière approximative, par un paramètre simple comme la surface corporelle (SC) ou l'indice de masse corporelle (IMC). Les différences observées entre les cohortes expliquent en partie l'inadéquation des coefficients AA quand ils sont appliqués aux sujets de notre cohorte. Ainsi, dans l'étude AASK, qui est une étude fondamentale dans l'élaboration du facteur AA, l'IMC moyen était supérieur à 30 kg/m^2 contre 24 kg/m^2 dans notre série. De même, dans l'étude AASK, les SC des AA étaient dans l'ordre de $1,96 \text{ m}^2$ à $2,02 \text{ m}^2$ [208], alors que dans notre série en Afrique de l'ouest, la SC moyenne était de $1,77 \text{ m}^2$, une valeur proche de celle rapportée par d'autres auteurs au Ghana, en Afrique du sud, ou encore en République démocratique du Congo [2,13,214]. S'il est vrai que l'apport alimentaire est difficile à quantifier, il demeure très probable qu'en raison de circonstances socio-économiques moins favorables, les

populations africaines consomment aussi moins d'aliments générateurs de créatinine, comme les repas riches en viande, que les AA [215,216]. Finalement, la surestimation du DFG par les formules classiques basées sur la créatinine et utilisant le facteur AA s'avère explicable par les probables différences de régimes et de masse musculaire.

Il en ressort donc que la performance des équations CKD-EPI et MDRD sont significativement meilleures, en population saine sans le facteur AA habituellement proposé ; autrement dit, pour ces deux équations (CKD-EPI et MDRD) à base de créatinine, l'estimation du DFG chez les populations ouest Africaines est plus proche de celle des caucasiens que de celle des Américains noirs. Ce constat pourrait au moins en partie s'expliquer sur la même base argumentaire développée plus haut portant sur la créatinine sérique et l'estimation de la masse musculaire. En effet, les travaux disponibles portant sur des populations saines ont conclu à une similitude de la créatinine sérique entre population saine (non-MRC) Africaine et Caucasienne [130,192]. Nos résultats sur la créatininémie corroborent ces observations. Il est vrai que ces comparaisons sont indirectes mais à notre connaissance, aucune étude n'a comparé directement la créatinine des sujets sains noirs Africains aux noirs Américains d'une part, ni aux caucasiens d'autre part. Par ailleurs, la récente étude de Barcelos [217] au Brésil conclut également à une différence non significative entre brésiliens noirs et brésiliens blancs.

III.3 - Conclusion

Il ressort de ce chapitre que les formules MDRD et CKD-Epi, se sont avérées plus performantes en absence du facteur AA au sein de notre population et que ce dernier ne doit pas être utilisé dans l'estimation du DFG chez les sujets noirs d'Afrique de l'ouest. Aussi, dans le chapitre suivant portant sur la comparaison des formules, les équations MDRD et CKD-Epi ont été utilisées sans facteur AA.

IV- COMPARAISON DES PERFORMANCES DES EQUATIONS D'ESTIMATION DU DFG

IV.1 – Performances des équations d'estimation à base de créatinine dans l'ensemble de la population saine

Nous avons évalué les 3 critères utilisés pour apprécier les performances des équations d'estimation du DFG en population saine (biais, précision et exactitude P30). Sur l'ensemble de la population, CG surestime le DFG tandis que MDRD et CKD-Epi le sous-estiment à des degrés variables (tableau XVIII). Concernant le biais, la supériorité de la formule CKD-Epi sur le MDRD retrouvée dans notre cohorte a été relevée par plusieurs études antérieures [81,218–220]. En effet, ces auteurs avaient relevé que l'équation CKD-Epi sous-estime moins le DFG que MDRD. Ce résultat attendu apparaît d'autant plus logique que notre population d'étude a été sélectionnée parmi des sujets « rénalement sains », et qu'il est connu que l'équation MDRD sous-estime systématiquement et largement les DFG hauts, supérieurs à 60 ml/min/1,73m² [81,82,84,87,221] eu égard à la population utilisée pour sa mise au point (patients avec DFG diminué). C'est d'ailleurs pourquoi l'objectif principal de la CKD-Epi était d'améliorer les performances d'estimation dans les DFG supérieurs à 60 ml/min/1,73m² [10,81]. Vu la chronologie d'apparition des formules (CG 1976, MDRD 1999, CKD-Epi 2009), rares sont les études qui comparent CKD-Epi et CG ; il est plutôt fréquemment rapporté les comparaisons CG versus MDRD et MDRD versus CKD-Epi. Ainsi de manière indirecte, il est admis une supériorité de CKD-Epi sur CG, vu que la majorité des travaux publiés montrent globalement de meilleures performances de CKD-Epi par rapport à MDRD d'une part [222–226] et de MDRD par rapport à CG d'autre part [82]. Il faut toutefois souligner que dans notre étude, le biais obtenu avec CG est moins important que celui obtenu avec MDRD. Cette observation à priori surprenante pourrait s'expliquer par le fait que la population d'étude est à

majorité jeune et comprend peu d'obèses et de sujets maigres, alors que les principales faiblesses de l'équation CG (en dehors de l'absence de standardisation du dosage de la créatinine), relèvent de l'âge avancé des sujets et des variations extrêmes de masse musculaire.

Pour ce qui est de la précision, nous avons trouvé des valeurs similaires pour les 3 formules variant entre 18 et 22 ($P > 0,05$). Ce résultat corrobore les conclusions de plusieurs auteurs selon lesquels l'amélioration des performances de CKD-Epi par rapport à MDRD ne concerne pas la précision qui reste comparable pour les 2 formules notamment dans les DFG hauts [81,91]. Deux raisons ont été avancées pour expliquer le défaut de meilleure précision dans la CKD-Epi ; premièrement le fait que la précision d'une formule d'estimation dépend fortement de la précision de la mesure de la variable biologique principale (la créatinine sérique dans ce cas). Or dans la majorité des études ayant servi à l'élaboration de l'équation CKD-Epi, la créatinine sérique a été dosée par les méthodes Jaffé qui bien qu'étant traçables IDMS (dilution isotopique spectrométrie de masse) restent moins précises que les méthodes enzymatiques [218,227,228]. L'imprécision de ces méthodes de dosage influe sur la précision globale de l'équation [227–229]. Secondairement, le caractère plus hétérogène de la population de développement de l'équation CKD-Epi par rapport à MDRD a été incriminé dans ce manque de précision [129,230].

Concernant l'exactitude (P30), l'équation CKD-Epi est nettement supérieure aux deux autres. Nos résultats sont proches de ceux rapportés dans la cohorte de validation externe de l'équation CKD-Epi portant sur DFG hauts, soit respectivement 85 versus 83% pour MDRD et 88 versus 91% pour CKD-Epi.

Il en ressort que, des 3 formules, la formule CKD-Epi estime globalement le mieux le DFG conformément à la grande majorité des données de la littérature [222–226].

IV.2 – Performances des équations à base de cystatine versus à base de créatinine

Vu que la cystatine C est moins affectée par la masse musculaire et le régime que la créatinine [231–233], il était attendu que la cystatine C fournirait une estimation plus précise de la DFG que la créatinine. La comparaison des formules CKD-Epi créat et CKD-Epi cys dans notre échantillon, ne montre pas de valeur ajoutée significative en faveur de l'usage de la cystatine C. Ce résultat est en accord avec les études récentes publiées sur le sujet [234–237]. En effet comme rapporté par ces auteurs notamment Levey [234] les biais et les exactitudes à 30% entre les deux formules sont similaires dans notre cohorte également. Ainsi, à défaut d'être une révolution, l'introduction de la cystatine C dans les formules d'estimation du DFG présentait l'avantage d'être moins soumise à la race [235] d'où l'absence de facteur ethnique dans les équations à base de cystatine. Cet avantage nous paraît cependant moins considérable en population ouest-Africaine puisque nos résultats prônent de meilleures performances des formules à base de créatinine simplement en n'appliquant pas les facteurs ethniques AA actuellement recommandés.

Concernant l'équation combinée, nous n'avons pas retrouvé d'amélioration significative des performances par rapport à la formule CKD-créat (sans facteur) : les biais sont égaux ($-1 \text{ ml/min/1,73m}^2$ pour chacune) et les P30 sont similaires (91% versus 93%). Cette observation est contraire aux conclusions de Levey et al. [234], qui notaient que la combinaison de la créatinine et de la cystatine C fournit des estimations de DFG plus précises que les marqueurs utilisés isolément. Ces auteurs expliquent cette amélioration de la précision par le fait que les erreurs dues aux déterminants non-DFG de la créatinine et de la cystatine C sont indépendantes et plus petites dans une équation qui utilise les deux marqueurs que dans une équation qui utilise un seul marqueur. Aussi, ils proposent que l'addition de cystatine C soit utilisée comme test de confirmation pour le diagnostic de la maladie rénale chronique chez les

patients présentant une diminution de la GFR estimée à partir de la créatinine; Sur la base de nos résultats et du coût très élevé de la cystatine C par rapport à la créatinine (10 fois plus), nous ne pouvons en l'état actuel soutenir cette proposition sans pour autant la rejeter. En effet, cette proposition pour l'instant inopportune dans les pays Africains avec des populations relativement peu nanties, pourrait à l'avenir s'avérer utile si la cystatine devient financièrement plus accessible et si des études sur des cohortes plus grandes mettent en évidence une amélioration des performances de la formule combinée par rapport à nos résultats; De gros efforts restent à entreprendre dans ce sens.

CONCLUSION

Il apparaît évident qu'une pathologie ne peut être correctement diagnostiquée ou prévenue que si les critères de normalité sont, eux-mêmes, bien définis. Pourtant, force était de constater que les valeurs normales et les formules d'estimation de débit de filtration glomérulaire (DFG) étaient très peu connues et explorées dans la population noire africaine. Ainsi, l'objectif de notre étude a été de déterminer la valeur de référence du DFG chez l'adulte Ivoirien présumé sain et de proposer l'équation d'estimation du DFG la plus performante à travers notamment l'évaluation du facteur racial afro-Américain en vigueur. L'étude a porté sur 254 Ivoiriens adultes présumé sains dont 120 femmes et 134 hommes. La mesure de la clairance plasmatique de l'iohexol a constitué la méthode de référence de la mesure du DFG. Les formules d'estimation évaluées ont été celles préconisées actuellement par les recommandations internationales (KDIGO) à savoir la formule de Crockroft et Gault, la formule MDRD ainsi que l'équation CKD-Epi à base de créatinine et/ou de cystatine.

A l'issue de nos travaux, les valeurs de référence de DFG ont été établies pour la première fois en population noire Africaine à partir d'une méthode de référence. Elles sont de l'ordre de $104 \text{ ml/min/1,73m}^2$, superposables à celles des caucasiens. Elles ne varient pas avec le genre, mais décroissent avec l'âge au-delà de 40 ans.

Concernant les formules d'estimation, nous avons démontré dans ce travail que le facteur AA appliqué dans les formules MDRD et CKD-EPI basées sur la créatinine ne doit pas être utilisé chez le patient noir en Afrique de l'ouest. En effet, l'usage du facteur actuel donne une surestimation systématique des résultats du DFG estimé qui sont de ce fait, faussement rassurants dans des pays où, face aux moyens et infrastructures relativement limités, la prévention demeure la première stratégie.

Par ailleurs, il ressort de nos résultats que la formule CKD-Epi sans facteur AA présente les meilleures performances pour l'estimation du DFG chez l'adulte noir Africain sain quels que soient l'âge, le sexe et l'IMC. Ainsi, nous soutenons

que celle-ci soit recommandée et vulgarisée pour estimer le DFG chez les sujets adultes noirs ouest-Africains.

Enfin, l'introduction de la cystatine C dans les différentes équations d'estimation n'a pas apporté de valeur ajoutée significative par rapport à la créatinine dans notre cohorte. Aussi, vu le cout encore élevé de ce paramètre nous ne saurions recommander son usage en routine chez les populations noires Africaines sujettes aux conditions économiques déjà très modestes.

Ce travail constitue une avancée importante pour l'épidémiologie de la maladie rénale chronique en Afrique, puisqu'il vient combler des lacunes préexistantes et présente des applications précieuses directes et immédiates.

PERSPECTIVES

Nos résultats ouvrent de nombreuses perspectives quant à l'exploration du DFG en population noire Africaine.

En effet, ces résultats appellent une application aux patients ayant une fonction rénale altérée connue, afin d'en dégager d'éventuelles particularités en fonction des niveaux d'atteinte rénale.

En outre, s'il est vrai que notre étude a le mérite d'avoir mis en évidence l'inadéquation des facteurs ethniques actuellement en vigueur, elle n'a pas proposé un nouveau coefficient ethnique qui serait propre à l'Africain noir. C'est pourquoi, des études ultérieures avec d'une part une cohorte pour développer le coefficient et d'autre part une cohorte pour le valider pourraient s'avérer nécessaires.

Par ailleurs, il faut signaler que notre recommandation de ne pas utiliser le facteur AA dans la population ivoirienne, et plus largement dans la population en Afrique de l'ouest, n'est peut-être pas généralisable à tout le continent et nécessiterait d'être confirmée dans d'autres régions africaines avec d'autres caractéristiques anthropométriques notamment en Afrique centrale et Afrique de l'est.

Au plan purement analytique, la validation de protocoles de mesures de DFG en prélèvement unique par rapport aux prélèvements multiples devrait permettre de faciliter la réalisation de la clairance plasmatique de l'iohexol dans les cas nécessitant une mesure précise du DFG.

De grands chantiers à explorer dans le Temps et avec le Temps.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Levey AS, Atkins R, Coresh J, Cohen EP, Collins AJ, Eckardt K-U, Nahas ME, Jaber BL, Jadoul M, Levin A, Powe NR, Rossert J, Wheeler DC, Lameire N, Eknoyan G. Chronic kidney disease as a global public health problem: Approaches and initiatives – a position statement from Kidney Disease Improving Global Outcomes. *Kidney Int.* 2007;72(3):247-59.
2. Sumaili EK, Krzesinski J-M, Zinga CV, Cohen EP, Delanaye P, Munyanga SM, Nseka NM. Prevalence of chronic kidney disease in Kinshasa: results of a pilot study from the Democratic Republic of Congo. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 2009;24(1):117-22.
3. Stanifer JW, Jing B, Tolan S, Helmke N, Mukerjee R, Naicker S, Patel U. The epidemiology of chronic kidney disease in sub-Saharan Africa: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health.* 2014;2(3):174-81.
4. BOUKEI G.H. Facteurs de morbidité et de mortalité chez le noir africain insuffisant rénal chronique traité par hémodialyse : Abidjan; 1995. Disponible sur: 1626
5. Walser M. Assessing renal function from creatinine measurements in adults with chronic renal failure. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 1998;32(1):23-31.
6. Morgan DB, Dillon S, Payne RB. The assessment of glomerular function: creatinine clearance or plasma creatinine? *Postgrad Med J.* 1978;54(631):302-10.
7. KDIGO_2012_CKD_GL.pdf [Internet]. [cité 8 oct 2017]. Disponible sur: http://www.kdigo.org/clinical_practice_guidelines/pdf/CKD/KDIGO_2012_CKD_GL.pdf
8. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron.* 1976;16(1):31-41.
9. Levey AS. A More Accurate Method To Estimate Glomerular Filtration Rate from Serum Creatinine: A New Prediction Equation. *Ann Intern Med.* 1999;130(6):461.
10. 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(9):604-12.
11. Delanaye P, Mariat C, Maillard N, Krzesinski J-M, Cavalier E. Are the Creatinine-Based Equations Accurate to Estimate Glomerular Filtration Rate in African American Populations? *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011;6(4):906-12.
12. Flamant M, Vidal-Petiot E, Metzger M, Haymann J-P, Letavernier E, Delatour V, Karras A, Thervet E, Boffa J-J, Houillier P, Stengel B, Vrtovsnik F, Froissart M, NephroTest Study Group. Performance of GFR estimating equations in African Europeans: basis for a lower race-ethnicity factor than in African Americans. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 2013;62(1):182-4.

13. van Deventer HE, George JA, Paiker JE, Becker PJ, Katz IJ. Estimating glomerular filtration rate in black South Africans by use of the modification of diet in renal disease and Cockcroft-Gault equations. *Clin Chem*. 2008;54(7):1197-202.
14. Zuo L, Ma Y-C, Zhou Y-H, Wang M, Xu G-B, Wang H-Y. Application of GFR-estimating equations in Chinese patients with chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. 2005;45(3):463-72.
15. Matsuo S, Imai E, Horio M, Yasuda Y, Tomita K, Nitta K, Yamagata K, Tomino Y, Yokoyama H, Hishida A, Collaborators developing the Japanese equation for estimated GFR. Revised equations for estimated GFR from serum creatinine in Japan. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. 2009;53(6):982-92.
16. Imai E, Horio M, Nitta K, Yamagata K, Iseki K, Tsukamoto Y, Ito S, Makino H, Hishida A, Matsuo S. Modification of the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study equation for Japan. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. 2007;50(6):927-37.
17. Rule AD, Teo BW. GFR Estimation in Japan and China: What Accounts for the Difference? *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. 2009;53(6):932-5.
18. Masson E. Anatomie des reins et de la voie excrétrice supérieure [Internet]. EM-Consulte. [cité 13 nov 2017]. Disponible sur: <http://www.em-consulte.com/article/179610/anatomie-des-reins-et-de-la-voie-excretrice-superi>
19. Wesson LG Jr. *Physiology of the Human Kidney*. First Printing edition. W.B. Saunders Company; 1969. 736 p.
20. harlé jerome. Le rein [Internet]. Le blog de jerome harlé. [cité 13 nov 2017]. Disponible sur: <http://app-asap.over-blog.com/article-le-rein-40512558.html>
21. Gueutin V, Deray G, Isnard-Bagnis C, Janus N. La physiologie rénale. *J Pharm Clin*. 2011;30(4):209-14.
22. Cecil RL, Goldman L, Ausiello DA, éditeurs. *Cecil textbook of medicine*. 22nd ed. Philadelphia, Pa: Saunders; 2004. 2506 p.
23. Koeppen BM, Stanton BA. *Berne & Levy Physiology, Updated Edition E-Book*. Elsevier Health Sciences; 2009. 852 p.
24. 10_item_258_nephropathies_glomerulaires_ellipses_7e_ed.pdf [Internet]. [cité 13 nov 2017]. Disponible sur: http://cuen.fr/umvf/IMG/pdf/10_item_258_nephropathies_glomerulaires_ellipses_7e_ed.pdf
25. Masson E. Physiologie rénale [Internet]. EM-Consulte. [cité 13 nov 2017]. Disponible sur: <http://www.em-consulte.com/article/22589/physiologie-renale>
26. jpc-291289-la_physiologie_renale--WglpAX8AAQEAAAG8ETkIAAAAB-a.pdf [Internet]. [cité 13 nov 2017]. Disponible sur: http://www.jle.com/download/jpc-291289-la_physiologie_renale--WglpAX8AAQEAAAG8ETkIAAAAB-a.pdf

27. Collège universitaire des enseignants de néphrologie (France), Moulin B, Peraldi M-N. *Néphrologie*. Paris: Ellipses; 2014.
28. Delanaye P, Maillard N, Thibaudin L, Mariat C. Exploration de la fonction glomérulaire rénale (I). *Méthodes de référence et créatinine sérique*. EMC - Néphrologie. 2006;1(1):1-10.
29. Hoek I, P Lefebvre H, Kooistra H, Croubels S, Binst D, Peremans K, Daminet S. Plasma Clearance of Exogenous Creatinine, Exo-Iohexol, and Endo-Iohexol in Hyperthyroid Cats before and after Treatment with Radioiodine. *J Vet Intern Med Am Coll Vet Intern Med*. 2008;22:879-85.
30. Bröchner-Mortensen J. A simple method for the determination of glomerular filtration rate. *Scand J Clin Lab Invest*. 1972;30(3):271-4.
31. Chantler C, Garnett ES, Parsons V, Veall N. Glomerular filtration rate measurement in man by the single injection methods using ⁵¹Cr-EDTA. *Clin Sci*. 1969;37(1):169-80.
32. Heiene R, Moe L. Pharmacokinetic aspects of measurement of glomerular filtration rate in the dog: a review. *J Vet Intern Med*. 1998;12(6):401-14.
33. Van Acker BA, Koomen GC, Arisz L. Drawbacks of the constant-infusion technique for measurement of renal function. *Am J Physiol*. 1995;268(4 Pt 2):F543-552.
34. van Westen D, Almén T, Chai C, Frennby B, Månsson S, Sterner G. Biliary and total extrarenal clearance of inulin and iohexol in pigs. A source of error when determining gfr as body clearance. *Nephron*. 2002;91(2):300-7.
35. Rogers KS, Komkov A, Brown SA, Lees GE, Hightower D, Russo EA. Comparison of four methods of estimating glomerular filtration rate in cats. *Am J Vet Res*. 1991 ; 52 (6):961-4.
36. Miyamoto K. Evaluation of single-injection method of inulin and creatinine as a renal function test in normal cats. *J Vet Med Sci*. 1998;60(3):327-32.
37. Rahn KH, Heidenreich S, Brückner D. How to assess glomerular function and damage in humans. *J Hypertens*. 1999;17(3):309-17.
38. Hellerstein S, Berenbom M, Alon U, Warady BA. The renal clearance and infusion clearance of inulin are similar, but not identical. *Kidney Int*. 1993;44(5):1058-61.
39. Baccard N, Hoizey G, Frances C, Lamiable D, Trenque T, Millart H. Simultaneous determination of inulin and p-aminohippuric acid (PAH) in human plasma and urine by high-performance liquid chromatography. *The Analyst*. 1999;124(6):833-6.
40. *The Kidney: Structure and Function in Health and Disease*. *Postgrad Med J*. 1952;28(317):191-2.

41. Prescott LF, Freestone S, McAuslane JA. Reassessment of the single intravenous injection method with inulin for measurement of the glomerular filtration rate in man. *Clin Sci Lond Engl* 1979. 1991;80(2):167-76.
42. Bäck SE, Krutzén E, Nilsson-Ehle P. Contrast media as markers for glomerular filtration: a pharmacokinetic comparison of four agents. *Scand J Clin Lab Invest*. 1988;48(3):247-53.
43. Earle DP, Berliner RW. A simplified clinical procedure for measurement of glomerular filtration rate and renal plasma flow. *Proc Soc Exp Biol Med Soc Exp Biol Med N Y N*. 1946;62(2):262-4.
44. Florijn KW, Barendregt JN, Lentjes EG, van Dam W, Prodjosudjadi W, van Saase JL, van Es LA, Chang PC. Glomerular filtration rate measurement by « single-shot » injection of inulin. *Kidney Int*. 1994;46(1):252-9.
45. Orlando R, Floreani M, Padrini R, Palatini P. Determination of inulin clearance by bolus intravenous injection in healthy subjects and ascitic patients: equivalence of systemic and renal clearances as glomerular filtration markers. *Br J Clin Pharmacol*. 1998;46(6):605-9.
46. Sterner G, Frennby B, Mansson S, Nyman U, Van Westen D, Almén T. Determining « true » glomerular filtration rate in healthy adults using infusion of inulin and comparing it with values obtained using other clearance techniques or prediction equations. *Scand J Urol Nephrol*. 2008;42(3):278-85.
47. Frennby B, Sterner G, Almén T, Hagstam KE, Hultberg B, Jacobsson L. The use of iohexol clearance to determine GFR in patients with severe chronic renal failure--a comparison between different clearance techniques. *Clin Nephrol*. 1995;43(1):35-46.
48. Sterner G, Frennby B, Hultberg B, Almen T. Iohexol clearance for GFR-determination in renal failure--single or multiple plasma sampling? *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. 1996;11(3):521-5.
49. Cavalier E, Rozet E, Dubois N, Charlier C, Hubert P, Chapelle J-P, Krzesinski J-M, Delanaye P. Performance of iohexol determination in serum and urine by HPLC: validation, risk and uncertainty assessment. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2008 ; 396(1-2):80-5.
50. Schwartz GJ, Furth S, Cole SR, Warady B, Muñoz A. Glomerular filtration rate via plasma iohexol disappearance: pilot study for chronic kidney disease in children. *Kidney Int*. 2006;69 (11):2070-7.
51. Chowdhury TA, Dyer PH, Bartlett WA, Legge ES, Durbin SM, Barnett AH, Bain SC. Glomerular filtration rate determination in diabetic patients using iohexol clearance--comparison of single and multiple plasma sampling methods. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 1998;277(2):153-8.

52. Pucci L, Bandinelli S, Penno G, Nannipieri M, Rizzo L, Navalesi R. Iohexol plasma clearance in determining glomerular filtration rate in diabetic patients. *Ren Fail.* 1998; 20(2):277-84.
53. Schwartz GJ, Furth SL. Glomerular filtration rate measurement and estimation in chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol Berl Ger.* 2007;22(11):1839-48.
54. Brändström E, Grzegorzczak A, Jacobsson L, Friberg P, Lindahl A, Aurell M. GFR measurement with iohexol and ⁵¹Cr-EDTA. A comparison of the two favoured GFR markers in Europe. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 1998;13(5):1176-82.
55. Visser FW, Muntinga JHJ, Dierckx RA, Navis G. Feasibility and impact of the measurement of extracellular fluid volume simultaneous with GFR by ¹²⁵I-iothalamate. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN.* 2008;3(5):1308-15.
56. Nyssen L, Delanaye P, Le Goff C, Peeters S, Cavalier É. A simple LC-MS method for the determination of iohexol and iothalamate in serum, using ioversol as an internal standard. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem.* 2016;463:96-102.
57. Maher FT, Nolan NG, Elveback LR. Comparison of simultaneous clearances of ¹²⁵I-labeled sodium iothalamate (Glofil) and of inulin. *Mayo Clin Proc.* 1971;46(10):690-1.
58. Perrone RD, Steinman TI, Beck GJ, Skibinski CI, Royal HD, Lawlor M, Hunsicker LG. Utility of radioisotopic filtration markers in chronic renal insufficiency: simultaneous comparison of ¹²⁵I-iothalamate, ¹⁶⁹Yb-DTPA, ^{99m}Tc-DTPA, and inulin. *The Modification of Diet in Renal Disease Study. Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 1990;16(3):224-35.
59. Perrone RD, Madias NE, Levey AS. Serum creatinine as an index of renal function: new insights into old concepts. *Clin Chem.* 1992;38(10):1933-53.
60. Bauer JH, Brooks CS, Burch RN. Clinical appraisal of creatinine clearance as a measurement of glomerular filtration rate. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 1982;2(3):337-46.
61. Petri M, Bockenstedt L, Colman J, Whiting-O'Keefe Q, Fitz G, Sebastian A, Hellmann D. Serial assessment of glomerular filtration rate in lupus nephropathy. *Kidney Int.* 1988;34(6):832-9.
62. Coresh J, Toto RD, Kirk KA, Whelton PK, Massry S, Jones C, Agodoa L, Van Lente F. Creatinine clearance as a measure of GFR in screenees for the African-American Study of Kidney Disease and Hypertension pilot study. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 1998;32(1):32-42.
63. Greenblatt DJ, Ransil BJ, Harmatz JS, Smith TW, Duhme DW, Koch-Weser J. Variability of 24-hour urinary creatinine excretion by normal subjects. *J Clin Pharmacol.* 1976;16(7):321-8.

64. Toto RD, Kirk KA, Coresh J, Jones C, Appel L, Wright J, Campese V, Olutade B, Agodoa L. Evaluation of serum creatinine for estimating glomerular filtration rate in African Americans with hypertensive nephrosclerosis: results from the African-American Study of Kidney Disease and Hypertension (AASK) Pilot Study. *J Am Soc Nephrol JASN*. 1997;8(2):279-87.
65. National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. 2002;39(2 Suppl 1):S1-266.
66. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med*. 1999; 130 (6) : 461-70.
67. Levey AS, Coresh J, Greene T, Stevens LA, Zhang YL, Hendriksen S, Kusek JW, Van Lente F, Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration. Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate. *Ann Intern Med*. 2006;145(4):247-54.
68. Bjornsson TD, Cocchetto DM, McGowan FX, Verghese CP, Sedor F. Nomogram for estimating creatinine clearance. *Clin Pharmacokinet*. 1983;8(4):365-9.
69. Davis GA, Chandler MH. Comparison of creatinine clearance estimation methods in patients with trauma. *Am J Health-Syst Pharm AJHP Off J Am Soc Health-Syst Pharm*. 1996;53(9):1028-32.
70. Edwards KD, Whyte HM. Plasma creatinine level and creatinine clearance as tests of renal function. *Australas Ann Med*. 1959;8:218-24.
71. Gates GF. Creatinine clearance estimation from serum creatinine values: an analysis of three mathematical models of glomerular function. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. 1985;5(3):199-205.
72. Hull JH, Hak LJ, Koch GG, Wargin WA, Chi SL, Mattocks AM. Influence of range of renal function and liver disease on predictability of creatinine clearance. *Clin Pharmacol Ther*. 1981;29(4):516-21.
73. Jelliffe RW. Letter: Creatinine clearance: bedside estimate. *Ann Intern Med*. 1973; 79(4):604-5.
74. Mawer GE, Lucas SB, Knowles BR, Stirland RM. Computer-assisted prescribing of kanamycin for patients with renal insufficiency. *Lancet Lond Engl*. 1972;1(7740):12-5.
75. Nankivell BJ, Gruenewald SM, Allen RD, Chapman JR. Predicting glomerular filtration rate after kidney transplantation. *Transplantation*. 1995;59(12):1683-9.
76. Walser M, Drew HH, Guldan JL. Prediction of glomerular filtration rate from serum creatinine concentration in advanced chronic renal failure. *Kidney Int*. 1993; 44(5) : 1145-8.

77. Salazar DE, Corcoran GB. Predicting creatinine clearance and renal drug clearance in obese patients from estimated fat-free body mass. *Am J Med.* 1988;84(6):1053-60.
78. Schaeffner ES, Ebert N, Delanaye P, Frei U, Gaedeke J, Jakob O, Kuhlmann MK, Schuchardt M, Tölle M, Ziebig R, van der Giet M, Martus P. Two novel equations to estimate kidney function in persons aged 70 years or older. *Ann Intern Med.* 2012; 157(7):471-81.
79. Björk J, Grubb A, Sterner G, Nyman U. Revised equations for estimating glomerular filtration rate based on the Lund-Malmö Study cohort. *Scand J Clin Lab Invest.* 2011; 71(3):232-9.
80. Pottel H, Hoste L, Dubourg L, Ebert N, Schaeffner E, Eriksen BO, Melsom T, Lamb EJ, Rule AD, Turner ST, Glassock RJ, De Souza V, Selistre L, Mariat C, Martens F, Delanaye P. An estimated glomerular filtration rate equation for the full age spectrum. *Nephrol Dial Transplant.* 2016;31(5):798-806.
81. Delanaye P, Mariat C, Moranne O, Cavalier E, Flamant M. L'estimation du débit de filtration glomérulaire en 2012 : quelle valeur ajoutée pour la nouvelle équation CKD-EPI ? /data/revues/17697255/v8i4/S1769725512000375/ [Internet]. 27 juin 2012 [cité 12 oct 2017]; Disponible sur: <http://www.em-consulte.com/en/article/734757>
82. Froissart M, Rossert J, Jacquot C, Paillard M, Houillier P. Predictive performance of the modification of diet in renal disease and Cockcroft-Gault equations for estimating renal function. *J Am Soc Nephrol JASN.* 2005;16(3):763-73.
83. Poggio ED, Wang X, Greene T, Van Lente F, Hall PM. Performance of the modification of diet in renal disease and Cockcroft-Gault equations in the estimation of GFR in health and in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol JASN.* 2005; 16(2): 459-66.
84. Botev R, Mallié J-P, Wetzels JFM, Couchoud C, Schück O. The Clinician and Estimation of Glomerular Filtration Rate by Creatinine-based Formulas: Current Limitations and Quo Vadis. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011;6(4):937-50.
85. Ibrahim H, Mondress M, Tello A, Fan Y, Koopmeiners J, Thomas W. An alternative formula to the Cockcroft-Gault and the modification of diet in renal diseases formulas in predicting GFR in individuals with type 1 diabetes. *J Am Soc Nephrol JASN.* 2005; 16(4):1051-60.
86. Ibrahim HN, Rogers T, Tello A, Matas A. The performance of three serum creatinine-based formulas in estimating GFR in former kidney donors. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2006;6(6):1479-85.
87. Rule AD, Gussak HM, Pond GR, Bergstralh EJ, Stegall MD, Cosio FG, Larson TS. Measured and estimated GFR in healthy potential kidney donors. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 2004;43(1):112-9.
88. Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Coresh J, Manzi J, Landis R, Bakoush O, Contreras G, Genuth S, Klintmalm GB, Poggio E, Rossing P, Rule AD, Weir MR,

- Kusek J, Greene T, Levey AS. Development and validation of GFR-estimating equations using diabetes, transplant and weight. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 2010;25 (2):449-57.
89. Stevens LA, Schmid CH, Greene T, Zhang Y (Lucy), Beck GJ, Froissart M, Hamm LL, Lewis JB, Mauer M, Navis GJ, Steffes MW, Eggers PW, Coresh J, Levey AS. Comparative Performance of the CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) and the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study Equations for Estimating GFR Levels Above 60 mL/min/1.73 m². *Am J Kidney Dis.* 2010;56(3):486-95.
90. Stevens LA, Claybon MA, Schmid CH, Chen J, Horio M, Imai E, Nelson RG, Van Deventer M, Wang H-Y, Zuo L, Zhang YL, Levey AS. Evaluation of the Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration equation for estimating the glomerular filtration rate in multiple ethnicities. *Kidney Int.* 2011;79(5):555-62.
91. Delanaye P, Cavalier E, Mariat C, Maillard N, Krzesinski J-M. MDRD or CKD-EPI study equations for estimating prevalence of stage 3 CKD in epidemiological studies: which difference? Is this difference relevant? *BMC Nephrol.* 2010;11:8.
92. Grubb A, Löfberg H. Human gamma-trace, a basic microprotein: amino acid sequence and presence in the adenohypophysis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1982;79(9):3024-7.
93. Tenstad O, Roald AB, Grubb A, Aukland K. Renal handling of radiolabelled human cystatin C in the rat. *Scand J Clin Lab Invest.* 1996;56(5):409-14.
94. Jacobsson B, Lignelid H, Bergerheim US. Transthyretin and cystatin C are catabolized in proximal tubular epithelial cells and the proteins are not useful as markers for renal cell carcinomas. *Histopathology.* 1995;26(6):559-64.
95. Simonsen O, Grubb A, Thysell H. The blood serum concentration of cystatin C (gamma-trace) as a measure of the glomerular filtration rate. *Scand J Clin Lab Invest.* 1985;45(2):97-101.
96. Galteau MM, Guyon M, Gueguen R, Siest G. Determination of serum cystatin C: biological variation and reference values. *Clin Chem Lab Med.* 2001;39(9):850-7.
97. Knight EL, Verhave JC, Spiegelman D, Hillege HL, de Zeeuw D, Curhan GC, de Jong PE. Factors influencing serum cystatin C levels other than renal function and the impact on renal function measurement. *Kidney Int.* 2004;65(4):1416-21.
98. Finney H, Newman DJ, Price CP. Adult reference ranges for serum cystatin C, creatinine and predicted creatinine clearance. *Ann Clin Biochem.* 2000;37 (Pt 1):49-59.
99. Séronie-Vivien S, Delanaye P, Pieroni L, Mariat C, Froissart M, Cristol J-P. Cystatine C : point d'étape et perspectives. *Ann Biol Clin (Paris).* 2008;66(3):301-23.
100. Manetti L, Pardini E, Genovesi M, Campomori A, Grasso L, Morselli LL, Lupi I, Pellegrini G, Bartalena L, Bogazzi F, Martino E. Thyroid function differently affects serum cystatin C and creatinine concentrations. *J Endocrinol Invest.* 2005;28(4):346-9.

101. den Hollander JG. Is Cystatin C a Marker of Glomerular Filtration Rate in Thyroid Dysfunction? *Clin Chem*. 2003;49(9):1558-9.
102. Wasén E, Isoaho R, Mattila K, Vahlberg T, Kivelä S-L, Irjala K. Serum cystatin C in the aged: relationships with health status. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. 2003;42(1):36-43.
103. Shlipak MG, Sarnak MJ, Katz R, Fried LF, Seliger SL, Newman AB, Siscovick DS, Stehman-Breen C. Cystatin C and the risk of death and cardiovascular events among elderly persons. *N Engl J Med*. 2005;352(20):2049-60.
104. Shlipak MG, Sarnak MJ, Katz R, Fried L, Seliger S, Newman A, Siscovick D, Stehman-Breen C. Cystatin-C and mortality in elderly persons with heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2005;45(2):268-71.
105. Deo R, Fyr CLW, Fried LF, Newman AB, Harris TB, Angleman S, Green C, Kritchevsky SB, Chertow GM, Cummings SR, Shlipak MG, Health ABC study. Kidney dysfunction and fatal cardiovascular disease--an association independent of atherosclerotic events: results from the Health, Aging, and Body Composition (Health ABC) study. *Am Heart J*. 2008;155(1):62-8.
106. Jernberg T, Lindahl B, James S, Larsson A, Hansson L-O, Wallentin L. Cystatin C: a novel predictor of outcome in suspected or confirmed non-ST-elevation acute coronary syndrome. *Circulation*. 2004;110(16):2342-8.
107. Menon V, Shlipak MG, Wang X, Coresh J, Greene T, Stevens L, Kusek JW, Beck GJ, Collins AJ, Levey AS, Sarnak MJ. Cystatin C as a risk factor for outcomes in chronic kidney disease. *Ann Intern Med*. 2007;147(1):19-27.
108. Shlipak MG, Katz R, Sarnak MJ, Fried LF, Newman AB, Stehman-Breen C, Seliger SL, Kestenbaum B, Psaty B, Tracy RP, Siscovick DS. Cystatin C and prognosis for cardiovascular and kidney outcomes in elderly persons without chronic kidney disease. *Ann Intern Med*. 2006;145(4):237-46.
109. Björk J, Grubb A, Larsson A, Hansson L-O, Flodin M, Sterner G, Lindström V, Nyman U. Accuracy of GFR estimating equations combining standardized cystatin C and creatinine assays: a cross-sectional study in Sweden. *Clin Chem Lab Med CCLM*. 2015 ;53(3). Disponible sur: <https://www.degruyter.com/view/j/cclm.2015.53.issue-3/cclm-2014-0578/cclm-2014-0578.xml>
110. Blirup-Jensen S, Grubb A, Lindstrom V, Schmidt C, Althaus H. Standardization of Cystatin C: development of primary and secondary reference preparations. *Scand J Clin Lab Investig Suppl*. 2008;241:67-70.
111. Grubb A, Blirup-Jensen S, Lindström V, Schmidt C, Althaus H, Zegers I. First certified reference material for cystatin C in human serum ERM-DA471/IFCC. *Clin Chem Lab Med [Internet]*. 2010 ;48(11). Disponible sur: <https://www.degruyter.com/view/j/cclm.2010.48.issue-11/cclm.2010.318/cclm.2010.318.xml>
112. EUROSTAT. European social statistics. Luxembourg: Office des publications de l'Union européenne; 2013.

113. Pieroni L, Bargnoux AS, Delanaye P, Kuster N, Carlier MC, Fellahi S, Boutten A, Lombard C, Delatour V, Cristol P, Cavalier E. La standardisation des dosages de cystatine C améliore l'estimation du DFG au stade 3 : une étude multicentrique conduite par la Société française de biologie clinique (SFBC). *Néphrol Thérap.* 2016;12(5):335-6.
114. Bökenkamp A, Domanetzki M, Zinck R, Schumann G, Byrd D, Brodehl J. Cystatin C-- a new marker of glomerular filtration rate in children independent of age and height. *Pediatrics.* 1998;101(5):875-81.
115. Tan GD, Lewis AV, James TJ, Altmann P, Taylor RP, Levy JC. Clinical usefulness of cystatin C for the estimation of glomerular filtration rate in type 1 diabetes: reproducibility and accuracy compared with standard measures and iohexol clearance. *Diabetes Care.* 2002;25(11):2004-9.
116. Larsson A, Malm J, Grubb A, Hansson LO. Calculation of glomerular filtration rate expressed in mL/min from plasma cystatin C values in mg/L. *Scand J Clin Lab Invest.* 2004;64(1):25-30.
117. Filler G, Lepage N. Should the Schwartz formula for estimation of GFR be replaced by cystatin C formula? *Pediatr Nephrol Berl Ger.* 2003;18(10):981-5.
118. Le Bricon T, Thervet E, Froissart M, Benlakehal M, Bousquet B, Legendre C, Erlich D. Plasma cystatin C is superior to 24-h creatinine clearance and plasma creatinine for estimation of glomerular filtration rate 3 months after kidney transplantation. *Clin Chem.* 2000;46(8 Pt 1):1206-7.
119. Sjöström P, Tidman M, Jones I. Determination of the production rate and non-renal clearance of cystatin C and estimation of the glomerular filtration rate from the serum concentration of cystatin C in humans. *Scand J Clin Lab Invest.* 2005;65(2):111-24.
120. Grubb A, Horio M, Hansson L-O, Björk J, Nyman U, Flodin M, Larsson A, Bökenkamp A, Yasuda Y, Blufpand H, Lindström V, Zegers I, Althaus H, Blirup-Jensen S, Itoh Y, Sjöström P, Nordin G, Christensson A, Klima H, Sunde K, Hjort-Christensen P, Armbruster D, Ferrero C. Generation of a new cystatin C-based estimating equation for glomerular filtration rate by use of 7 assays standardized to the international calibrator. *Clin Chem.* 2014;60(7):974-86.
121. Rule AD, Bergstralh EJ, Slezak JM, Bergert J, Larson TS. Glomerular filtration rate estimated by cystatin C among different clinical presentations. *Kidney Int.* 2006;69(2):399-405.
122. Macisaac RJ, Tsalamandris C, Thomas MC, Premaratne E, Panagiotopoulos S, Smith TJ, Poon A, Jenkins MA, Ratnaik SI, Power DA, Jerums G. Estimating glomerular filtration rate in diabetes: a comparison of cystatin-C- and creatinine-based methods. *Diabetologia.* 2006;49(7):1686-9.
123. Bouvet Y, Bouissou F, Coulais Y, Séronie-Vivien S, Tafani M, Decramer S, Chatelut E. GFR is better estimated by considering both serum cystatin C and creatinine levels. *Pediatr Nephrol Berl Ger.* 2006;21(9):1299-306.

124. Zappitelli M, Parvex P, Joseph L, Paradis G, Grey V, Lau S, Bell L. Derivation and validation of cystatin C-based prediction equations for GFR in children. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 2006;48(2):221-30.
125. Ma Y-C, Zuo L, Chen J-H, Luo Q, Yu X-Q, Li Y, Xu J-S, Huang S-M, Wang L-N, Huang W, Wang M, Xu G-B, Wang H-Y, Chinese eGFR Investigation Collaboration. Improved GFR estimation by combined creatinine and cystatin C measurements. *Kidney Int.* 2007;72(12):1535-42.
126. Stevens LA, Coresh J, Schmid CH, Feldman HI, Froissart M, Kusek J, Rossert J, Van Lente F, Bruce RD, Zhang YL, Greene T, Levey AS. Estimating GFR using serum cystatin C alone and in combination with serum creatinine: a pooled analysis of 3,418 individuals with CKD. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 2008;51(3): 395 - 406.
127. Pottel H, Delanaye P, Schaeffner E, Dubourg L, Eriksen BO, Melsom T, Lamb EJ, Rule AD, Turner ST, Glassock RJ, De Souza V, Selistre L, Goffin K, Pauwels S, Mariat C, Flamant M, Ebert N. Estimating glomerular filtration rate for the full age spectrum from serum creatinine and cystatin C. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 2017;32(3):497-507.
128. Inker LA, Schmid CH, Tighiouart H, Eckfeldt JH, Feldman HI, Greene T, Kusek JW, Manzi J, Van Lente F, Zhang YL, Coresh J, Levey AS, CKD-EPI Investigators. Estimating glomerular filtration rate from serum creatinine and cystatin C. *N Engl J Med.* 2012;367(1):20-9.
129. Fan L, Levey AS, Gudnason V, Eiriksdottir G, Andresdottir MB, Gudmundsdottir H, Indridason OS, Palsson R, Mitchell G, Inker LA. Comparing GFR Estimating Equations Using Cystatin C and Creatinine in Elderly Individuals. *J Am Soc Nephrol JASN.* 2015;26(8):1982-9.
130. Yapo A. E, Assayi m. J., Diaine CH., Monnet D, Comoe l, Lonsdorfer a, Bonetto R, Aka B. Les valeurs de référence de 21 constituants biochimiques sanguins de l'Ivoirien adulte présumé sain. *Pharm Afr* 1989;(44):13-24.
131. Khyssi B.F, Diomande M., Comoe Léopol, Lonsdorfer A, Yapo Abbé Etienne. Détermination des valeurs de référence de six constituants biochimiques sanguins de l'Ivoirien adulte sain : résultats préliminaires. *Rev Méd Côte Ivoire.* 1983;(68):14-20.
132. Du Bois D, Du Bois EF. A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. 1916. *Nutr Burbank Los Angel Cty Calif.* 1989;5(5):303-311.
133. Académie de Rouen. HPLC Principe et appareillage. Disponible sur: [http://biotech.spip.ac-rouen.fr/spip.php?article 9](http://biotech.spip.ac-rouen.fr/spip.php?article%209)
134. Soveri I, Berg UB, Björk J, Elinder C-G, Grubb A, Mejare I, Sterner G, Bäck S-E, SBU GFR Review Group. Measuring GFR: a systematic review. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 2014;64(3):411-24.
135. Jean Fleury. Transport des prélèvements et réglementation,. *Spectra Biol.* 2005;(143).

136. Krutzén E, Bäck S-E, Nilsson-Ehle P. Determination of glomerular filtration rate using iohexol clearance and capillary sampling. *Scand J Clin Lab Invest.* 1990;50(3):279-83.
137. Hoek FJ, Kemperman FAW, Krediet RT. A comparison between cystatin C, plasma creatinine and the Cockcroft and Gault formula for the estimation of glomerular filtration rate. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 2003;18(10):2024-31.
138. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med.* 1999;130(6):461-70.
139. Levey AS, Coresh J, Greene T, Stevens L a., Zhang YL, Hendriksen S, Kusek JW, Van Lente F. Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* 2006;145(4):247-54.
140. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro III AF, Feldman HI, Kusek JW, Eggers P, Van Lente F, Greene T, Coresh J. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* 2009;150(9):604-12.
141. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet.* 1986;327(8476):307-10.
142. Delanaye P, Ebert N, Melsom T, Gaspari F, Mariat C, Cavalier E, Björk J, Christensson A, Nyman U, Porrini E, Remuzzi G, Ruggenenti P, Schaeffner E, Soveri I, Sterner G, Eriksen BO, Bäck S-E. Iohexol plasma clearance for measuring glomerular filtration rate in clinical practice and research: a review. Part 1: How to measure glomerular filtration rate with iohexol? *Clin Kidney J.* 2016;9(5):682-99.
143. Delanaye P, Melsom T, Ebert N, Bäck S-E, Mariat C, Cavalier E, Björk J, Christensson A, Nyman U, Porrini E, Remuzzi G, Ruggenenti P, Schaeffner E, Soveri I, Sterner G, Eriksen BO, Gaspari F. Iohexol plasma clearance for measuring glomerular filtration rate in clinical practice and research: a review. Part 2: Why to measure glomerular filtration rate with iohexol? *Clin Kidney J.* 2016;9(5):700-4.
144. Rootwelt K, Falch D, Sjökvist R. Determination of glomerular filtration rate (GFR) by analysis of capillary blood after single shot injection of ^{99m}Tc-DTPA. *Eur J Nucl Med.* 1980;5(2):97-102.
145. Odland B, Hällgren R, Sohtell M, Lindström B. Is ¹²⁵I iothalamate an ideal marker for glomerular filtration? *Kidney Int.* 1985;27(1):9-16.
146. Zurth C. Mechanism of renal excretion of various X-ray contrast materials in rabbits. *Invest Radiol.* 1984;19(2):110-5.
147. Edelson J, Shaw D, Palace G. Pharmacokinetics of iohexol, a new nonionic radiocontrast agent, in humans. *J Pharm Sci.* 1984;73(7):993-5.

148. Nilsson-Ehle P, Grubb A. New markers for the determination of GFR: iohexol clearance and cystatin C serum concentration. *Kidney Int Suppl.*1994;47:S17-19.
149. Olsson B, Aulie A, Sveen K, Andrew E. Human pharmacokinetics of iohexol. A new nonionic contrast medium. *Invest Radiol.* 1983;18(2):177-82.
150. Arvidsson A, Hedman A. Plasma and renal clearance of iohexol--a study on the reproducibility of a method for the glomerular filtration rate. *Scand J Clin Lab Invest.* 1990;50(7):757-61.
151. Peter Nilsson-Ehle. Iohexol clearance for the determination of glomerular filtration rate: 15 years' experience in clinical practice. *eJIFCC.* 13(2).
152. Heron CW, Underwood SR, Dawson P. Electrocardiographic changes during intravenous urography: a study with sodium iothalamate and iohexol. *Clin Radiol.* 1984;35(2):137-41.
153. Aurell M. Accurate and feasible measurements of GFR--is the iohexol clearance the answer? *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 1994;9(9):1222-4.
154. Gaspari F, Perico N, Ruggenti P, Mosconi L, Amuchastegui CS, Guerini E, Daina E, Remuzzi G. Plasma clearance of nonradioactive iohexol as a measure of glomerular filtration rate. *J Am Soc Nephrol* 1995;6(2):257-63.
155. Soman RS, Zahir H, Akhlaghi F. Development and validation of an HPLC-UV method for determination of iohexol in human plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2005;816(1-2):339-43.
156. Farthing D, Sica DA, Fakhry I, Larus T, Ghosh S, Farthing C, Vranian M, Gehr T. Simple HPLC-UV method for determination of iohexol, iothalamate, p-aminohippuric acid and n-acetyl-p-aminohippuric acid in human plasma and urine with ERPF, GFR and ERPF/GFR ratio determination using colorimetric analysis. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2005;826(1-2):267-72.
157. Castagnet S, Blasco H, Vourc'h P, Benz-De-Bretagne I, Veyrat-Durebex C, Barbet C, Alnajjar A, Ribourtout B, Buchler M, Halimi J-M, Andres CR. Routine Determination of GFR in Renal Transplant Recipients by HPLC Quantification of Plasma Iohexol Concentrations and Comparison With Estimated GFR: HPLC Quantification of Plasma Iohexol in Renal Transplant Recipients. *J Clin Lab Anal.* 2012;26(5):376-83.
158. Luis-Lima S, Gaspari F, Porrini E, García-González M, Batista N, Bosa-Ojeda F, Oramas J, Carrara F, González-Posada JM, Marrero D, Salido E, Torres A, Jiménez-Sosa A. Measurement of glomerular filtration rate: internal and external validations of the iohexol plasma clearance technique by HPLC. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem.* 2014;430:84-5.
159. Portal AJ, McPhail MJW, Bruce M, Coltart I, Slack A, Sherwood R, Heaton ND, Shawcross D, Wendon JA, Heneghan MA. Neutrophil gelatinase-Associated lipocalin

- predicts acute kidney injury in patients undergoing liver transplantation. *Liver Transpl.* 2010;16(11):1257-66.
160. Slack A, Tredger M, Brown N, Corcoran B, Moore K. Application of an isocratic methanol-based HPLC method for the determination of iohexol concentrations and glomerular filtration rate in patients with cirrhosis. *Ann Clin Biochem Int J Biochem Lab Med.* 2014;51(1):80-8.
 161. Bäck SE, Masson P, Nilsson-Ehle P. A simple chemical method for the quantification of the contrast agent iohexol, applicable to glomerular filtration rate measurements. *Scand J Clin Lab Invest.* 1988;48(8):825-9.
 162. Brown SC, O'Reilly PH. Iohexol clearance for the determination of glomerular filtration rate in clinical practice: evidence for a new gold standard. *J Urol.* 1991; 146(3): 675-9.
 163. Eriksson CG, Kallner A. Glomerular filtration rate: a comparison between Cr-EDTA clearance and a single sample technique with a non-ionic contrast agent. *Clin Biochem.* 1991;24(3):261-4.
 164. Bird NJ, Peters C, Michell AR, Peters AM. Comparison of GFR measurements assessed from single versus multiple samples. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 2009;54(2):278-88.
 165. Pucci L, Bandinelli S, Pilo M, Nannipieri M, Navalesi R, Penno G. Iohexol as a marker of glomerular filtration rate in patients with diabetes: comparison of multiple and simplified sampling protocols. *Diabet Med J Br Diabet Assoc.* 2001;18(2):116-20.
 166. Boum B, Tantchou J. Normes biochimiques du Camerounais dans la région de Yaounde. *Rev Sci Tech.* 1985;II(1):103-7.
 167. Aakhus T, Sommerfelt SC, Stormorken H, Dahlström K. Tolerance and excretion of iohexol after intravenous injection in healthy volunteers. Preliminary report. *Acta Radiol Suppl.* 1980;362:131-4.
 168. Poggio ED, Rule AD, Tanchanco R, Arrigain S, Butler RS, Srinivas T, Stephany BR, Meyer KH, Nurko S, Fatica RA, Shoskes DA, Krishnamurthi V, Goldfarb DA, Gill I, Schreiber MJ. Demographic and clinical characteristics associated with glomerular filtration rates in living kidney donors. *Kidney Int.* 2009;75(10):1079-87.
 169. Grewal GS, Blake GM. Reference data for ⁵¹Cr-EDTA measurements of the glomerular filtration rate derived from live kidney donors. *Nucl Med Commun.* 2005; 26(1):61-5.
 170. Hamilton D, Riley P, Miola U, Mousa D, Popovich W, al Khader A. Total plasma clearance of ⁵¹Cr-EDTA: variation with age and sex in normal adults. *Nucl Med Commun.* 2000;21(2):187-92.

171. Bäck SE, Ljungberg B, Nilsson-Ehle I, Borgå O, Nilsson-Ehle P. Age dependence of renal function: clearance of iohexol and p-amino hippurate in healthy males. *Scand J Clin Lab Invest.* 1989;49(7):641-6.
172. Hallan S, Astor B, Lydersen S. Estimating glomerular filtration rate in the general population: the second Health Survey of Nord-Trøndelag (HUNT II). *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 2006;21(6):1525-33.
173. Hoang K, Tan JC, Derby G, Blouch KL, Masek M, Ma I, Lemley KV, Myers BD. Determinants of glomerular hypofiltration in aging humans. *Kidney Int.* 2003;64(4):1417-24.
174. Vervoort G, Willems HL, Wetzels JFM. Assessment of glomerular filtration rate in healthy subjects and normoalbuminuric diabetic patients: validity of a new (MDRD) prediction equation. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 2002;17(11):1909-13.
175. Berg UB. Differences in decline in GFR with age between males and females. Reference data on clearances of inulin and PAH in potential kidney donors. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 2006;21(9):2577-82.
176. Delanaye P, Schaeffner E, Ebert N, Cavalier E, Mariat C, Krzesinski J-M, Moranne O. Normal reference values for glomerular filtration rate: what do we really know? *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 2012;27(7):2664-72.
177. Stevens LA, Levey AS. Measured GFR as a confirmatory test for estimated GFR. *J Am Soc Nephrol.* 2009;20(11):2305-13.
178. Agarwal R, Bills JE, Yigazu PM, Abraham T, Gizaw AB, Light RP, Bekele DM, Tegegne GG. Assessment of Iothalamate Plasma Clearance: Duration of Study Affects Quality of GFR. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4(1):77-85.
179. Shock NW. Kidney function tests in aged males. *Geriatrics.* juin 1946;1:232-9.
180. Pottel H, Hoste L, Yayo E, Delanaye P. Glomerular Filtration Rate in Healthy Living Potential Kidney Donors: A Meta-Analysis Supporting the Construction of the Full Age Spectrum Equation. *Nephron.* 2017;135 (2):105-19.
181. Inker LA, Shafi T, Okparavero A, Tighiouart H, Eckfeldt JH, Katz R, Johnson WC, Dermond N, Tariq Z, Benayache I, Post WS, Coresh J, Levey AS, Shlipak MG. Effects of Race and Sex on Measured GFR: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 2016;68(5):743-51.
182. Wei L, Ye X, Pei X, Wu J, Zhao W. Reference Intervals for Serum Cystatin C and Factors Influencing Cystatin C Levels Other than Renal Function in the Elderly. *PLoS ONE* 2014 ;9(1). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3897621/>

183. Granerus G, Aurell M. Reference values for ⁵¹Cr-EDTA clearance as a measure of glomerular filtration rate. *Scand J Clin Lab Invest.* 1981;41(6):611-6.
184. Ma Y-C, Zuo L, Chen L, Su Z-M, Meng S, Li J-J, Zhang C-L, Wang H-Y. Distribution of Measured GFR in Apparently Healthy Chinese Adults. *Am J Kidney Dis.* 2010;56(2):420-1.
185. Davies DF, Shock NW. Age changes in glomerular filtration rate, effective renal plasma flow, and tubular excretory capacity in adult males. *J Clin Invest.* 1950;29(5):496-507.
186. Fehrman-Ekholm I, Skeppholm L. Renal function in the elderly (>70 years old) measured by means of iohexol clearance, serum creatinine, serum urea and estimated clearance. *Scand J Urol Nephrol.* 2004;38(1):73-7.
187. Fliser D, Franek E, Joest M, Block S, Mutschler E, Ritz E. Renal function in the elderly: impact of hypertension and cardiac function. *Kidney Int.* 1997;51(4):1196-204.
188. Rule AD, Amer H, Cornell LD, Taler SJ, Cosio FG, Kremers WK, Textor SC, Stegall MD. The association between age and nephrosclerosis on renal biopsy among healthy adults. *Ann Intern Med.* 2010;152(9):561-7.
189. Slack TK, Wilson DM. Normal renal function: CIN and CPAH in healthy donors before and after nephrectomy. *Mayo Clin Proc.* 1976;51(5):296-300.
190. Barai S, Bandopadhyaya GP, Patel CD, Rathi M, Kumar R, Bhowmik D, Gambhir S, Singh NG, Malhotra A, Gupta KD. Do healthy potential kidney donors in india have an average glomerular filtration rate of 81.4 ml/min? *Nephron Physiol.* 2005;101(1):p21-26.
191. Pottel H, Vrydags N, Mahieu B, Vandewynckele E, Croes K, Martens F. Establishing age/sex related serum creatinine reference intervals from hospital laboratory data based on different statistical methods. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem.* 2008;396(1-2):49-55.
192. Sakande J, Coulibaly J-L, Njikeutchi F-N, Bouabre A, Boukary A, Guissou I-P. Établissement des valeurs de référence de 15 constituants biochimiques sanguins chez l'adulte burkinabé à Ouagadougou (Burkina Faso). *Ann Biol Clin (Paris).* 2004;62(2):229-34.
193. Junge W, Wilke B, Halabi A, Klein G. Determination of reference intervals for serum creatinine, creatinine excretion and creatinine clearance with an enzymatic and a modified Jaffé method. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem.* 2004;344(1-2):137-48.
194. Udler MS, Nadkarni GN, Belbin G, Lotay V, Wyatt C, Gottesman O, Bottinger EP, Kenny EE, Peter I. Effect of Genetic African Ancestry on eGFR and Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol* 2015;26(7):1682-92.
195. Gallagher D, Visser M, De Meersman RE, Sepúlveda D, Baumgartner RN, Pierson RN, Harris T, Heymsfield SB. Appendicular skeletal muscle mass: effects of age, gender, and ethnicity. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. 1997;83(1):229-39.

196. Okonkwo IN, Ogbu II, Ijoma UN, Ulasi II, Ijoma CK. Reference intervals for serum cystatin C and creatinine of an indigenous adult Nigerian population. *Niger J Clin Pract.* 2015;18(2):173-7.
197. Odden MC, Tager IB, Gansevoort RT, Bakker SJL, Katz R, Fried LF, Newman AB, Canada RB, Harris T, Sarnak MJ, Siscovick D, Shlipak MG. Age and cystatin C in healthy adults: a collaborative study. *Nephrol Dial Transplant.* 2010;25(2):463-9.
198. Norlund L, Fex G, Lanke J, Schenck H von, Nilsson JE, Leksell H, Grubb A. Reference intervals for the glomerular filtration rate and cell-proliferation markers: serum cystatin C and serum β 2-microglobulin/cystatin C-ratio. *Scand J Clin Lab Invest.* 1997;57(6):463-70.
199. Köttgen A, Selvin E, Stevens LA, Levey AS, Van Lente F, Coresh J. Serum cystatin C in the United States: the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 2008;51(3):385-94.
200. Delanaye P, Chapelle J-P, Gielen J, Krzesinski jean-marie, Rorive G. L'intérêt de la cystatine C dans l'évaluation de la fonction rénale. 2017.
201. Mussap M, Ruzzante N, Varagnolo M, Plebani M. Quantitative automated particle-enhanced immunonephelometric assay for the routinary measurement of human cystatin C. *Clin Chem Lab Med.* 1998;36(11):859-65.
202. Randers E, Erlandsen EJ, Pedersen OL, Hasling C, Danielsen H. Serum cystatin C as an endogenous parameter of the renal function in patients with normal to moderately impaired kidney function. *Clin Nephrol.* 2000;54(3):203-9.
203. Erlandsen EJ, Randers E, Kristensen JH. Reference intervals for serum cystatin C and serum creatinine in adults. *Clin Chem Lab Med.* 1998;36(6):393-7.
204. Yashiro M, Kamata T, Segawa H, Kadoya Y, Murakami T, Muso E. Comparisons of cystatin C with creatinine for evaluation of renal function in chronic kidney disease. *Clin Exp Nephrol.* 2009;13(6):598-604.
205. Horio M, Imai E, Yasuda Y, Watanabe T, Matsuo S. Performance of serum cystatin C versus serum creatinine as a marker of glomerular filtration rate as measured by inulin renal clearance. *Clin Exp Nephrol.* 2011;15(6):868-76.
206. Delanaye P, Cohen EP. Formula-based estimates of the GFR: equations variable and uncertain. *Nephron Clin Pract.* 2008;110(1):c48-53.
207. Udler MS, Nadkarni GN, Belbin G, Lotay V, Wyatt C, Gottesman O, Bottinger EP, Kenny EE, Peter I. Effect of Genetic African Ancestry on eGFR and Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol.* 2015;26(7):1682-92.
208. Lewis J, Agodoa L, Cheek D, Greene T, Middleton J, O'Connor D, Ojo A, Phillips R, Sika M, Wright J, African-American Study of Hypertension and Kidney Disease. Comparison of cross-sectional renal function measurements in African Americans with

- hypertensive nephrosclerosis and of primary formulas to estimate glomerular filtration rate. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 2001;38(4):744-53.
209. Durand G, Beaudoux J-L. *Biochimie médicale: Marqueurs actuels et perspectives.* Lavoisier; 2011. 643 p.
210. Peralta CA, Lin F, Shlipak MG, Siscovick D, Lewis C, Jacobs DR, Bibbins-Domingo K. Race differences in prevalence of chronic kidney disease among young adults using creatinine-based glomerular filtration rate-estimating equations. *Nephrol Dial Transplant.* 2010;25(12):3934-9.
211. Goldwasser P, Aboul-Magd A, Maru M. Race and creatinine excretion in chronic renal insufficiency. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 1997;30(1):16-22.
212. Delanaye P, Cavalier E, Maillard N, Krzesinski J-M, Mariat C, Cristol J-P, Piéroni L. La créatinine: d'hier à aujourd'hui. *Ann Biol Clin (Paris).* 2010;(5):531-543.
213. Heymsfield SB, Arteaga C, McManus C, Smith J, Moffitt S. Measurement of muscle mass in humans: validity of the 24-hour urinary creatinine method. *Am J Clin Nutr.* 1983;37(3):478-94.
214. Eastwood JB, Kerry SM, Plange-Rhule J, Micah FB, Antwi S, Boa FG, Banerjee D, Cappuccio FP. Assessment of GFR by four methods in adults in Ashanti, Ghana: the need for an eGFR equation for lean African populations. *Nephrol Dial Transplant.* 2010;25(7):2178-87.
215. Mayersohn M, Conrad KA, Achari R. The influence of a cooked meat meal on creatinine plasma concentration and creatinine clearance. *Br J Clin Pharmacol.* 1983; 15(2):227-30.
216. Preiss DJ, Godber IM, Lamb EJ, Dalton RN, Gunn IR. The influence of a cooked-meat meal on estimated glomerular filtration rate. *Ann Clin Biochem.* 2007;44 (Pt 1):35-42.
217. Barcellos RC de B, Matos JPS de, Kang HC, Rosa MLG, Lugon JR. Comparison of serum creatinine levels in different color/race categories in a Brazilian population. *Cad Saude Publica.* 2015;31(7):1565-9.
218. Delanaye P, Pottel H, Botev R, Inker LA, Levey AS. Con: Should we abandon the use of the MDRD equation in favour of the CKD-EPI equation? *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 2013;28(6):1396-1403.
219. Tent H, Rook M, Stevens LA, van Son WJ, van Pelt LJ, Hofker HS, Ploeg RJ, van der Heide JJH, Navis G. Renal Function Equations before and after Living Kidney Donation: A Within-Individual Comparison of Performance at Different Levels of Renal Function. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010;5(11):1960-8.
220. Murata K, Baumann NA, Saenger AK, Larson TS, Rule AD, Lieske JC. Relative Performance of the MDRD and CKD-EPI Equations for Estimating Glomerular Filtration Rate among Patients with Varied Clinical Presentations. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011;6(8):1963-72.

221. Issa N, Meyer KH, Arrigain S, Choure G, Fatica RA, Nurko S, Stephany BR, Poggio ED. Evaluation of creatinine-based estimates of glomerular filtration rate in a large cohort of living kidney donors. *Transplantation*. 2008;86 (2):223-30.
222. Cirillo M, Lombardi C, Luciano MG, Bilancio G, Anastasio P, De Santo NG. Estimation of GFR: a comparison of new and established equations. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. 2010;56(4):802-4.
223. Soares AA, Soares A, Eyff TF, Eyff T, Campani RB, Campani R, Ritter L, Weinert LS, Weinert L, Camargo JL, Camargo J, Silveiro SP, Silveiro S. Performance of the CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) and the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study equations in healthy South Brazilians. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. 2010;55(6):1162-3.
224. Orskov B, Borresen ML, Feldt-Rasmussen B, Østergaard O, Laursen I, Strandgaard S. Estimating Glomerular Filtration Rate Using the New CKD-EPI Equation and Other Equations in Patients with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. *Am J Nephrol*. 2010;31(1):53-7.
225. Iliadis F, Didangelos T, Ntemka A, Makedou A, Moravidis E, Gotzamani-Psarakou A, Kouloukourgiotou T, Grekas D. Glomerular filtration rate estimation in patients with type 2 diabetes: creatinine- or cystatin C-based equations? *Diabetologia*. 2011;54(12):2987-94.
226. Lane BR, Demirjian S, Weight CJ, Larson BT, Poggio ED, Campbell SC. Performance of the chronic kidney disease-epidemiology study equations for estimating glomerular filtration rate before and after nephrectomy. *J Urol*. 2010;183(3):896-901.
227. Earley A, Miskulin D, Lamb EJ, Levey AS, Uhlig K. Estimating equations for glomerular filtration rate in the era of creatinine standardization: a systematic review. *Ann Intern Med*. 2012;156(11):785-95.
228. Eriksen BO, Mathisen UD, Melsom T, Ingebretsen OC, Jenssen TG, Njølstad I, Solbu MD, Toft I. Cystatin C is not a better estimator of GFR than plasma creatinine in the general population. *Kidney Int*. 2010;78(12):1305-11.
229. Ng DK, Schwartz GJ, Jacobson LP, Palella FJ, Margolick JB, Warady BA, Furth SL, Muñoz A. Universal GFR determination based on two time points during plasma iothexol disappearance. *Kidney Int*. 2011;80(4):423-30.
230. Rule AD, Larson TS, Bergstralh EJ, Slezak JM, Jacobsen SJ, Cosio FG. Using serum creatinine to estimate glomerular filtration rate: accuracy in good health and in chronic kidney disease. *Ann Intern Med*. 2004;141(12):929-37.
231. Tangri N, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Beck GJ, Greene T, Coresh J, Levey AS. Changes in dietary protein intake has no effect on serum cystatin C levels independent of the glomerular filtration rate. *Kidney Int*. 2011;79(4):471-7.

232. Stevens LA, Schmid CH, Greene T, Li L, Beck GJ, Joffe M, Froissart M, Kusek J, Zhang Y (Lucy), Coresh J, Levey AS. Factors Other than GFR Affecting Serum Cystatin C Levels. *Kidney Int.* 2009;75(6):652-60.
233. Vinge E, Lindergård B, Nilsson-Ehle P, Grubb A. Relationships among serum cystatin C, serum creatinine, lean tissue mass and glomerular filtration rate in healthy adults. *Scand J Clin Lab Invest.* 1999;59(8):587-92.
234. Levey AS, Inker LA, Coresh J. GFR estimation: from physiology to public health. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 2014;63(5):820-34.
235. Inker LA, Schmid CH, Tighiouart H, Eckfeldt JH, Feldman HI, Greene T, Kusek JW, Manzi J, Van Lente F, Zhang YL, Coresh J, Levey AS. Estimating Glomerular Filtration Rate from Serum Creatinine and Cystatin C. *N Engl J Med.* 2012;367(1):20-9.
236. Christensson A, Ekberg J, Grubb A, Ekberg H, Lindström V, Lilja H. Serum cystatin C is a more sensitive and more accurate marker of glomerular filtration rate than enzymatic measurements of creatinine in renal transplantation. *Nephron Physiol.* 2003;94(2):p19-27.
237. Pöge U, Stoschus B, Stoffel-Wagner B, Gerhardt T, Klehr HU, Sauerbruch T, Woitas RP. Cystatin C as an endogenous marker of glomerular filtration rate in renal transplant patients. *Kidney Blood Press Res.* 2003;26 (1):55-60.

PUBLICATIONS

PUBLICATION 1

Yayo et al; Measured (and estimated) glomerular filtration rate:reference values in West Africa, Nephrol Dial Transplant (2017) 1–5, doi: 10.1093/ndt/gfx244

PUBLICATION 2

Yayo et al.; Cystatin C, Age and Gender in Healthy African Black Adults: Ivorian Exemple. International Journal of Biochemistry Research & Review (IJBCRR), 2016 , 10(3): 1-6

PUBLICATION 3

Yayo et al.; Inadéquation du facteur ethnique pour l'estimation du débit de filtration glomérulaire en population générale noire-africaine : résultats en Côte d'Ivoire. Néphrologie & Thérapeutique 2016 (12) : 454–459

LISTE DES PRINCIPALES ABREVIATIONS	2
LISTE DES FIGURES	3
LISTE DES TABLEAUX	5
INTRODUCTION.....	7
PARTIE I :	11
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	11
I – RAPPELS ANATOMIQUES DU REIN	12
II – ASPECTS PHYSIOLOGIQUES DU REIN	16
III – METHODES DE MESURE DU DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE..	29
IV – EQUATIONS D’ESTIMATION DU DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE CHEZ L’ADULTE.....	36
PARTIE II :	44
ETUDE EXPERIMENTALE.....	44
Chapitre 1 : MATERIEL ET METHODES	45
I- MATERIEL.....	46
II- METHODES	52
Chapitre 2 : RESULTATS ET COMMENTAIRES	63
I- MESURE DU DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE PAR LA CLAIRANCE PLASMATIQUE DE L’IOHEXOL.....	65
II- DETERMINATION DES MARQUEURS SERIQUES IMPLIQUES DANS L’ESTIMATION DU DFG.....	69
III- ESTIMATION DU DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE A PARTIR DES EQUATIONS.....	74
IV- PERTINENCE DE L’APPLICATION DU FACTEUR ETHNIQUE AFRO- AMERICAIN CHEZ LES NOIRS AFRICAINS	77
V- COMPARAISON DES PERFORMANCES DES EQUATIONS D’ESTIMATION DU DFG.....	82
Chapitre 3 : DISCUSSION	91
I- MESURE DU DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE PAR LA CLAIRANCE PLASMATIQUE DE L’IOHEXOL.....	92
II- DETERMINATION DES MARQUEURS SERIQUES IMPLIQUES DANS L’ESTIMATION DU DFG.....	97
III- PERTINENCE DE L’APPLICATION DU FACTEUR ETHNIQUE AFRO- AMERICAIN CHEZ LES NOIRS AFRICAINS	100
IV- COMPARAISON DES PERFORMANCES DES EQUATIONS D’ESTIMATION DU DFG.....	104
CONCLUSION	108
PERSPECTIVES.....	111
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	113
PUBLICATIONS	134

