

RÉGULATION DE L'ÉRYTHROPOÏÈSE : APPLICATIONS PHYSIOPATHOLOGIQUES EN NÉPHROLOGIE

par

Y. ZERMATI*, F. FAKHOURI**, R. DELARUE***, J. A. RIBEIL*,
B. KNEBELMANN**, ****, O. HERMINE*, ***

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

ÉRYTHROPOÏÈSE : GÉNÉRALITÉS

L'érythropoïèse prend naissance à partir d'une putative cellule souche hémato-poïétique. Celle-ci va s'engager dans une voie de différenciation myéloïde, vers un progéniteur multipotent. Ce progéniteur appelé CFU-GEMM (pour *Colony Forming Unit Granulocyte/Erythrocyte/Megacaryocyte/Macrophage*) va ensuite se différencier vers un progéniteur restreint dans la voie érythroïde appelé BFU-E (pour *Burst Forming Unit Erythroid*). Le BFU-E va proliférer et se différencier par étapes successives pour aboutir à la formation de précurseurs érythroblastiques

* CNRS UMR 8603. ** Service de Néphrologie, Hôpital Necker, Paris, France. *** Service d'Hématologie, Hôpital Necker, Paris, France. **** INSERM U 507.

morphologiquement reconnaissables au niveau médullaire (érythroblastes) et de globules rouges matures dans le sang périphérique en environ trois semaines chez l'homme [1] (fig. 1). L'engagement des progéniteurs multipotents vers la voie érythroïde semble s'effectuer grâce à une combinaison d'expression de facteurs de transcription et en particulier du facteur GATA-1 qui permet la régulation positive des promoteurs des gènes érythroïdes comme la glycophorine, l'hémoglobine, et le récepteur à l'érythropoïétine. En son absence, la production de globules rouges est impossible. Des expériences sur des cellules souches embryonnaires (ES) invalidées pour le gène de GATA-1 ont montré que dans les phases précoces, la protéine GATA-1 pouvait être remplacée par d'autres facteurs de transcription de la famille GATA tel que GATA-2 [2]. Par contre, GATA-1 est absolument nécessaire dans les phases tardives de l'érythropoïèse, en régulant progressivement l'expression de la protéine anti-apoptotique Bcl-xL.

Les différents progéniteurs érythroïdes ont été définis grâce à leurs caractéristiques de culture en milieux semi-solides. Les progéniteurs BFU-E vont donner de grosses colonies érythroïdes contenant plusieurs centaines de milliers d'érythroblastes matures, après vingt et un jours de culture chez l'homme. Les progéniteurs plus avancés dans leur différenciation comme les BFU-E matures vont donner des colonies de plus petite taille en quatorze jours, alors que les CFU-E qui sont les progéniteurs les plus matures, vont donner des colonies d'environ 30 à 60 érythrocytes en moins d'une semaine. Grâce à ces techniques de culture en milieu semi-solide, les caractéristiques immunophénotypiques et les besoins en facteurs de croissance de ces différents progéniteurs ont pu être déterminés. Les progéniteurs les plus précoces expriment l'antigène CD34, et le récepteur au *stem cell factor*, C-kit. À partir du stade BFU-E, le récepteur à l'érythropoïétine commence à être exprimé avec un maximum d'expression au niveau des CFU-E. Les antigènes érythroïdes spécifiques, comme les antigènes des groupes sanguins, s'expriment au niveau des CFU-E ainsi que la glycophorine A. D'autres marqueurs non spécifiques permettent d'identifier ces progéniteurs comme par exemple le récepteur à la transferrine commence à être exprimé à partir des BFU-E et l'antigène CD36 (également présent sur les mégacaryocytes et les monocytes matures) [1].

De même, les facteurs de croissance nécessaires au développement de ces différents progéniteurs ont pu être déterminés. Pour la régulation positive deux facteurs semblent être indispensables, le *stem cell factor* (SCF) pour les phases précoces jusqu'au stade CFU-E et l'érythropoïétine à partir des BFU-E tardifs jusqu'au stade des érythroblastes [3].

CYTOKINES RÉGULANT POSITIVEMENT L'ÉRYTHROPOÏÈSE

Stem cell Factor (SCF)

Le SCF est fabriqué par les cellules stromales de la moelle osseuse. Il existe sous une forme soluble et une forme trans-membranaire qui semble être prédominante pour la régulation de l'érythropoïèse puisque les souris n'ayant que la forme soluble sont anémiques. Le SCF agit sur son récepteur C-kit, qui est un récepteur à tyrosine kinase, et va induire des signaux intracellulaires essentiellement de survie et de prolifération sur les progéniteurs érythroïdes. Il agit en synergie avec

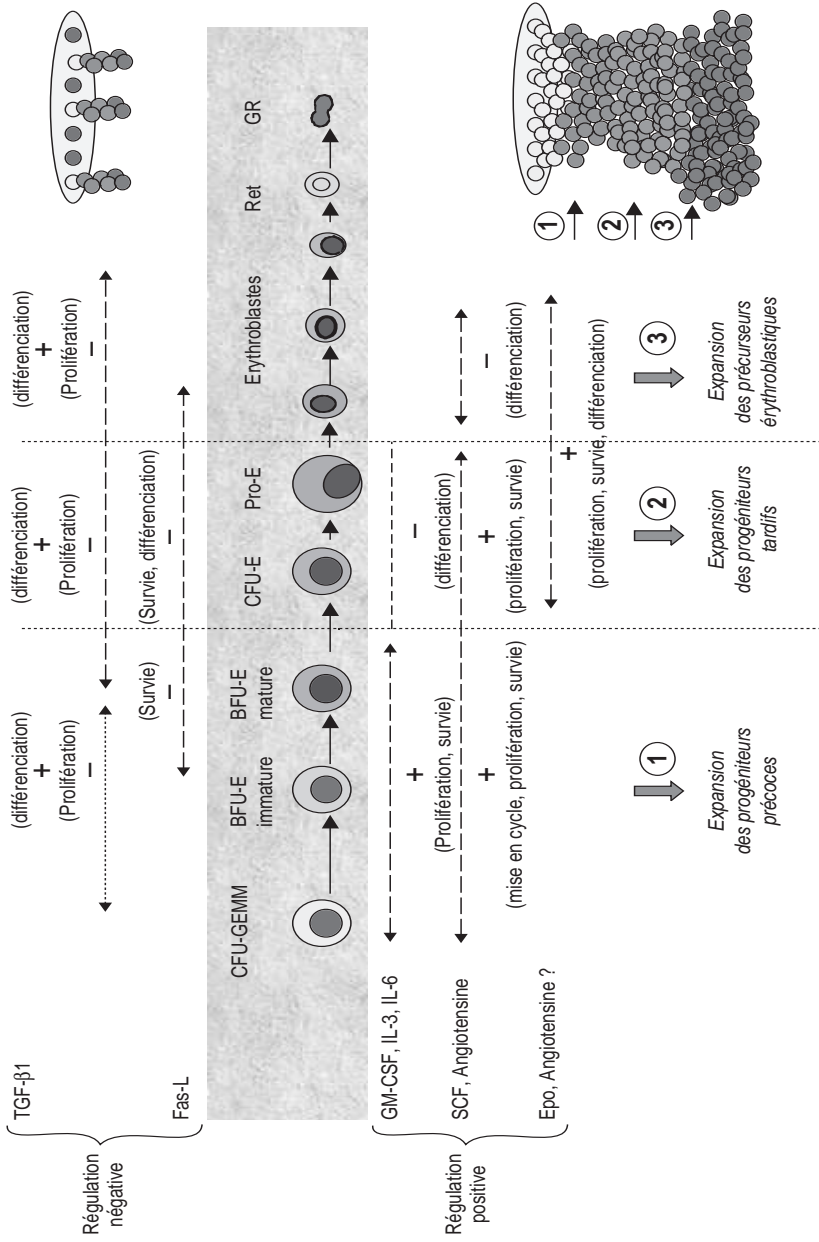


FIG. 1. — Modèle de régulation de l'érythropoïèse par les cytokines.

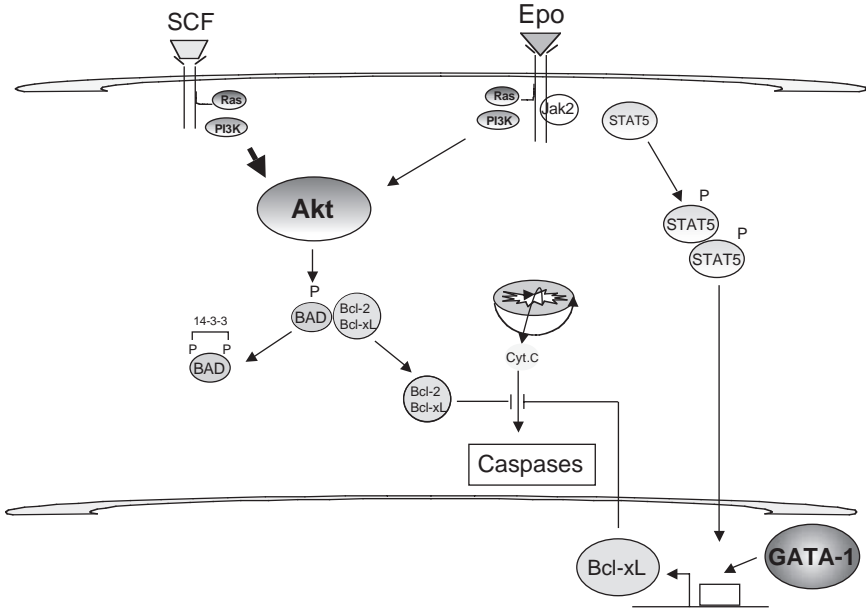


FIG. 2. — Synergie entre Epo et SCF pour la survie cellulaire.

d'autres facteurs pour la prolifération notamment avec le GM-CSF et l'interleukine-3. Il pourrait également augmenter la sensibilité des CFUE à l'érythropoïétine. L'activation de la PI3-kinase par C-kit est sans doute une des voies principales pour augmenter la prolifération et la survie, par l'intermédiaire de la phosphorylation de la protéine AKT (voir plus loin) (fig. 2). Actuellement, il n'y a aucun argument démontrant l'existence d'une régulation positive de la production de SCF en fonction de l'hypoxie tissulaire ou à l'inverse négative en fonction de l'hyperproduction de globules rouges. Son expression semble constitutive.

Érythropoïétine

L'érythropoïétine est le facteur régulateur principal de l'érythropoïèse. Celle-ci est produite par le rein et va agir au niveau de la moelle osseuse pour stimuler la production des globules rouges. Cette production de globules rouges va apporter de l'oxygène dans les cellules rénales qui vont alors diminuer leur synthèse d'érythropoïétine, ce qui aura pour conséquence la diminution en retour de la production de globules rouges. Il existe donc à ce niveau une véritable régulation endocrine, le rein étant la « glande » productrice et la moelle osseuse l'organe cible (fig. 3). Ainsi physiologiquement on a pu retrouver une parfaite corrélation entre le taux d'hémoglobine et le taux d'érythropoïétine. Pour une hémoglobine normale aux alentours de 12 g/dl, le taux d'érythropoïétine circulante est d'environ 20 unités/l. Ce taux va augmenter en fonction de la baisse du taux d'hémoglobine pour atteindre environ 200 unités/l, lorsque l'hémoglobine atteint 7 g/dl. Cette production est altérée de façon significative au cours de nombreuses pathologies à l'origine d'une anémie.

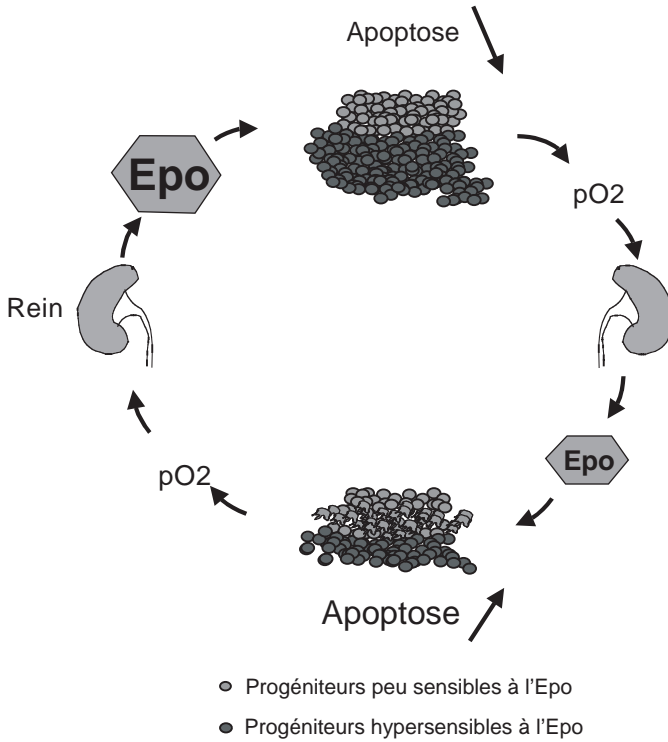


FIG. 3. — Régulation endocrine de l'érythropoïèse.

RÉGULATION DE LA SYNTHÈSE D'ÉRYTHROPOÏÉTINE PAR LES CELLULES RÉNALES

L'Epo est donc une hormone circulante qui gouverne la production de globules rouges. En réponse à l'anémie ou l'hypoxie, les taux circulants peuvent augmenter jusqu'à 1 000 fois. La régulation de la production d'Epo est donc cruciale. De nombreux travaux ont contribué à montrer que le rein était le principal lieu de production de l'Epo chez l'adulte. L'absence de réponse à l'anémie chez le sujet néphrectomisé en est la preuve par excellence. En plus du rein, le foie est capable de produire de l'Epo chez l'adulte, les cellules impliquées étant les hépatocytes et les cellules de Ito. Les mécanismes responsables de la sensibilité des cellules à l'hypoxie commencent à être mieux compris. Une somme considérable de travaux ces dernières années a établi un rôle majeur pour les facteurs de transcription HIF (*Hypoxia Inducible Factor*) dans cette fonction.

Identification des cellules productrices d'Epo dans le rein

Des études en hybridation *in situ* ont montré que l'ARNm de l'Epo était présent dans des cellules péri-tubulaires interstitielles [4, 5]. Leur identification plus précise montre qu'il s'agit de fibroblastes du cortex et de la médullaire externe. Ce travail a été confirmé par des expériences utilisant des souris transgéniques pour un gène « rapporteur », l'antigène T de SV40 placé sous le contrôle du locus de l'Epo. En réponse à l'hypoxie ou à l'anémie, ce marqueur est retrouvé dans les cellules interstitielles qui ont été identifiées en microscopie électronique comme des fibro-

blastas du cortex et de la médullaire externe. Des marquages utilisant la ecto-5'-nucléotidase, spécifique des fibroblastes, ont montré cependant qu'une minorité de ces cellules ne répondait pas à la stimulation hypoxique, confirmant l'hétérogénéité des fibroblastes de l'interstitium rénal. La caractérisation plus fine de ces fibroblastes n'a pas encore été réalisée. Le fait que les fibroblastes interstitiels soient responsables de la détection d'un stimulus hypoxique peut sembler surprenant. Il est possible que leur localisation entre les capillaires péri-tubulaires et les tubules consommant l'oxygène leur procure une situation privilégiée pour « sentir » les variations locales d'oxygène [6]. Il est intéressant de noter que ce ne sont pas les fibroblastes de la médullaire interne, région particulièrement sensible à l'hypoxie, qui sont responsables de la production d'Epo. De façon intéressante, les fibroblastes de cette médullaire interne semblent morphologiquement distincts de ceux du cortex, et probablement représente une sous-population différente, peu destinée à sentir les stimuli hypoxiques [4]. Cependant les gradients d'oxygène qui ont pu être mesurés dans le rein sont déjà très importants dans le cortex (jusqu'à 42 mmHg par 10 μm) expliquant une réponse tout ou rien en terme d'expression de l'ARNm de l'Epo. Malheureusement les différentes expériences visant à isoler en culture des fibroblastes rénaux produisant de l'Epo ont échoué.

Mécanismes moléculaires de la production d'Epo et de la réponse à l'hypoxie (fig. 4)

Dans la transduction des signaux permettant l'augmentation de la production d'érythropoïétine, la protéine P38 α de la voie des MAP kinases est indispensable comme l'ont démontré des expériences chez les souris invalidées pour son gène. Cependant cette voie ne semble pas être concernée pour la régulation de la synthèse d'érythropoïétine par l'hypoxie, mais plutôt pour son expression constitutive.

L'identification initiale des facteurs de transcription induits par l'hypoxie a découlé de l'étude du gène de l'Epo. En effet des facteurs liant la région 3' non codante et activant la transcription du gène de l'Epo dans des conditions d'hypoxie ont été purifiés il y a une dizaine d'années. Ces facteurs appelés HIF pour *Hypoxia Inducible Factors* forment en fait une sous-famille. De nombreux gènes, en plus de l'Epo, sont activés par les HIF, impliqués dans la réponse à l'hypoxie : régulation du tonus vasculaire (NO synthase), de l'angiogenèse (VEGF, PDGF), de la glycolyse anaérobie et de la captation cellulaire du glucose.

La molécule HIF est un hétérodimère composé d'une sous-unité α et β ; la sous-unité α est celle régulée par l'hypoxie [7]. Il existe au moins 3 isoformes de HIF- α chez l'homme. C'est en fait la dégradation et non la production des HIF qui est régulée. En présence d'oxygène, les molécules de HIF formées sont rapidement dégradées par le protéasome. La compréhension des mécanismes régulant ce processus a bénéficié de l'étude du gène suppresseur de tumeur VHL (von Hippel-Lindau), impliqué dans le cancer du rein à cellules claires. De façon intéressante, les tumeurs secondaires à l'inactivation de VHL, cancer du rein ou hémangioblastome cérébral, peuvent parfois s'associer à une production anormale d'Epo responsable d'une polyglobulie. Il a été montré que pVHL liait directement les facteurs HIF- α et, en partenariat avec d'autres protéines cytoplasmiques, entraînait l'ubiquitination de HIF et son ciblage vers le protéasome conduisant à sa dégradation. En l'absence de VHL, ou en présence de VHL muté, HIF n'est plus dégradé, et devient donc stabilisé même en condition de normoxie. De fait, une surexpression de HIF-1 α et HIF-2 α a été retrouvée dans la grande majorité des

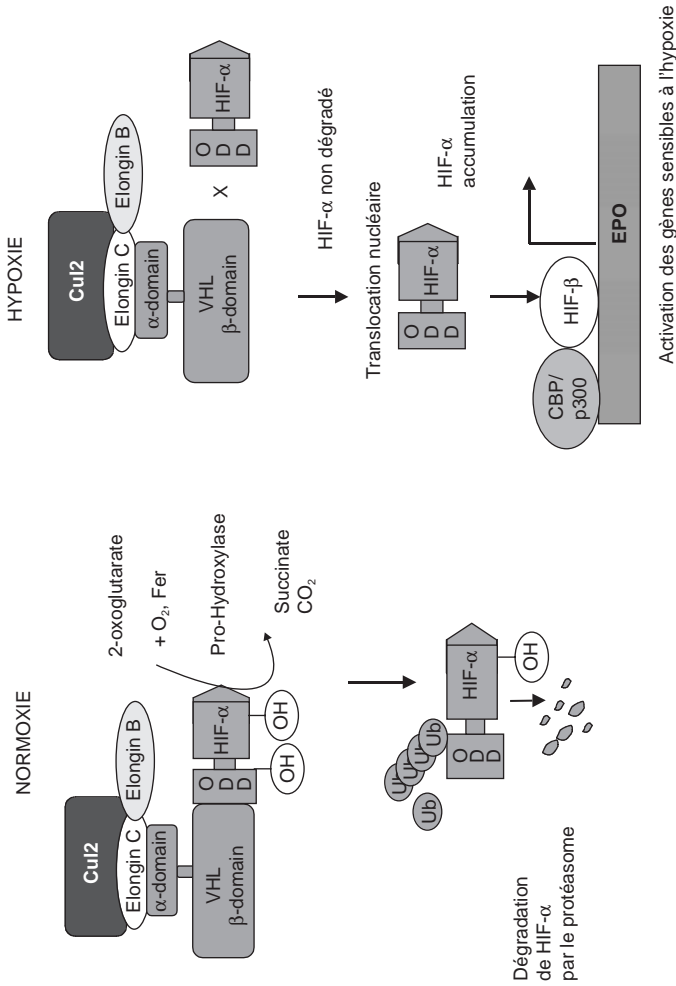


FIG. 4. — Représentation simplifiée de la régulation de HIF en condition de normoxie et d'hypoxie. En présence d'oxygène, des résidus proline de HIF- α sont hydroxylés par une prolyl hydroxylase. Ceci induit l'interaction de HIF- α avec le domaine β de pVHL, entraînant l'ubiquitination par la E3 ligase VBCC (Vhl, elongin B/C, culin 2) et la dégradation par le protéasome. De plus, une hydroxylation sur une asparagine de HIF- α , prévient son interaction avec CBP/p300. En condition d'hypoxie, ce processus est interrompu car le manque d'oxygène limite l'action de la prolyl hydroxylase. HIF- α est ainsi stabilisé et capable de transloquer dans le noyau et de former un complexe transcriptionnel actif avec HIF- β et CBP/p300, induisant la transcription de gènes sensibles à l'hypoxie, comme l'Epo.

cancers du rein, y compris dans un cas associé à une polyglobulie [8]. De nombreux gènes induits par l'hypoxie sont alors surexprimés dans ces tumeurs (VEGF, TGF- α , GLUT-1...). Cependant, pourquoi le gène de l'Epo n'est pas toujours secondairement activé lorsque, HIF-1 α et/ou HIF-2 α sont fortement surexprimés comme c'est le cas avec la plupart des mutations de VHL reste incompris. Pourquoi la polyglobulie est-elle finalement si rare dans les cancers du rein à cellules claires où les deux allèles de VHL sont inactivés ? Cela suggère que d'autres facteurs, en partenariat avec les HIF, sont nécessaires à l'activation de la transcription du gène de l'Epo. Le type cellulaire affecté par une inactivation de VHL joue certainement un rôle permissif dans ce processus. Le cancer du rein à cellules claires, presque toujours associé à une inactivation de VHL, se développe aux dépens du tube proximal. Or nous avons vu que la production normale d'Epo par le rein se faisait principalement dans les fibroblastes interstitiels, qui eux ne subissent pas l'inactivation bi-allélique de VHL en cas de cancer.

Un travail récent du groupe de K. Eckardt a apporté des informations très intéressantes sur la régulation de l'expression des HIF *in vivo* dans le rein [9]. Ces auteurs ont utilisé divers stimuli hypoxiques chez le rat (anémie, cobalt, exposition à l'hypoxie et au CO) et étudié l'expression de HIF1- α et HIF-2 α dans le rein. De façon très inattendue, un même stimulus induit une expression géographiquement très distincte de HIF-1 α et HIF-2 α , contredisant ainsi des expériences préalables menées *in vitro* sur des cellules en culture. En effet, la plupart des cellules en culture exposées à l'hypoxie accroissent fortement leur production de HIF-1 α et HIF-2 α . Dans le rein *in vivo*, HIF-1 α est surtout induit dans les cellules tubulaires, incluant les cellules proximales en réponse à l'anémie, distales avec le cobalt et cellules du collecteur avec tous les stimuli. Cette surexpression de HIF-1 α s'accompagne comme attendu de l'induction, dans les mêmes cellules, de gènes induits par l'hypoxie comme la hème oxygénase et le transporteur du glucose Glut1. Par opposition, HIF-2 α n'était pas induit dans les cellules tubulaires mais dans les cellules endothéliales périlitulaires et dans les fibroblastes. Au vu des travaux précédents suggérant un rôle pour les fibroblastes dans la production d'Epo, on peut en déduire que HIF-2 α , plus que HIF-1 α , joue un rôle clé dans la régulation de la production d'Epo.

Le rôle respectif de HIF-1 α et HIF-2 α dans la transactivation du gène de l'Epo reste à préciser. Si *in vitro* les deux isoformes semblent pouvoir lier les éléments de réponse à l'hypoxie (HRE), il a été suggéré que HIF-2 α est par ailleurs contrôlé par un mécanisme redox, suggérant un degré de régulation et donc une activité non identique à celle de HIF-1 α .

Il semble ainsi que seules des études *in vivo* sur des animaux génétiquement modifiés (inactivés pour HIF-1 α ou HIF-2 α) pourront apporter des réponses fiables. Cette étude montre de plus que l'idée selon laquelle la tension en O₂ diminue de façon linéaire du cortex vers la médullaire interne est par trop simpliste [10]. Les résultats du groupe de K. Eckardt montrent que, à l'intérieur d'une région donnée du rein, la distance qui sépare une cellule du lit vasculaire détermine en grande partie la sur-expression de HIF en réponse à l'hypoxie. Les cellules situées le plus à proximité du lit vasculaire augmentent peu leur expression de HIF en réponse à l'hypoxie.

Les mécanismes qui régulent l'interaction entre HIF et VHL et donc le niveau d'expression de HIF selon le degré d'hypoxie ont été très récemment élucidés [7, 11]. L'interaction entre HIF et VHL est gouvernée par l'hydroxylation enzymatique de résidus proline dans la séquence en acides aminés de HIF- α qui est

impliquée dans son interaction avec VHL. Cette hydroxylation est réalisée par des prolyl-hydroxylases (3 isoformes sont jusqu'à présent identifiées chez l'homme) et dépend de l'oxygène, mais aussi de cofacteurs comme le 2-oxoglutarate, le fer et l'ascorbate (vitamine C). Ainsi, en condition de normoxie, HIF- α est hydroxylé sur une proline, se lie à VHL et est rapidement dégradé par le protéasome. En condition d'hypoxie, la prolyl-hydroxylation de HIF ne peut se faire, HIF ne lie plus VHL et devient stabilisé et peut transloquer dans le noyau. Il va y exercer son activité transcriptionnelle sur les gènes de réponse à l'hypoxie, comme l'Epo, en association avec d'autres facteurs de transcription comme p300 et CBP (*cAMP response element binding protein*). Le recrutement de ces cofacteurs représente une étape supplémentaire de régulation car il est inhibé par une asparagine hydroxylation de HIF dépendante de l'oxygène. Ainsi, en condition de normoxie, HIF est hydroxylé sur une asparagine et ne peut se lier aux cofacteurs indispensables à son activité transcriptionnelle sur des gènes comme l'Epo. L'expression et la régulation des ces prolyl- et asparagine hydroxylases dans le rein ne sont pas encore connues.

MÉCANISMES MOLÉCULAIRES DE L'ACTION DE L'ÉRYTHROPOÏÉTINE AU NIVEAU DES ÉRYTHROBLASTES

Au niveau médullaire, l'érythropoïétine agit sur son récepteur situé sur les BFU-E et les CFU-E [1, 3]. L'homodimérisation des récepteurs de l'érythropoïétine va aboutir au recrutement de protéines à activité tyrosine kinase telles que JAK2 qui vont alors phosphoryler en retour le récepteur et ses substrats. Il semble bien établi que les voies activées par le récepteur de l'érythropoïétine permettent la prolifération et la survie des cellules par l'intermédiaire de l'activation de la PI 3-kinase, et sans doute des MAP kinases. Le récepteur à l'Epo activé recrute également les protéines STAT et en particulier STAT 5A et STAT 5B, qui vont être phosphorylées par la protéine JAK2. Ces protéines STAT5 une fois phosphorylées vont s'hétérodimériser, puis migrer dans le noyau pour augmenter l'expression de certains gènes. Actuellement, il n'y a pas de gène de différenciation érythroïde spécifiquement induit par STAT5. Par contre, STAT5 agit en synergie avec GATA-1 pour augmenter l'expression de Bcl-xL, augmentant ainsi la survie cellulaire (*voir* fig. 2). Ainsi il semble que l'action principale de l'érythropoïétine soit d'augmenter la survie des progéniteurs érythroïdes [12]. Le modèle proposé actuellement est un modèle où les progéniteurs érythroïdes tardifs, essentiellement les CFU-E, auraient un seuil de sensibilité à l'érythropoïétine variable. Certains de ces progéniteurs seraient très sensibles à l'érythropoïétine et pourraient donc survivre à faibles taux d'érythropoïétine. D'autres, au contraire, seraient très peu sensibles et nécessiteraient pour survivre des taux élevés d'érythropoïétine (*voir* fig. 3). Les mécanismes définissant les niveaux de sensibilité de ces progéniteurs ne sont pas connus. On sait qu'ils ne sont pas liés à une variation du nombre de récepteurs ni à une variation de leur affinité. Ce modèle permettrait de rendre compte de la synergie existant entre le *stem cell factor* et l'érythropoïétine. Le *stem cell factor*, en activant fortement l'activité de la PI 3-kinase, permettrait la phosphorylation d'AKT qui elle-même phosphorylerait des protéines telles que BAD, permettant ainsi la libération de la protéine anti-apoptotique Bcl-xL. De son côté, l'érythropoïétine, en activant STAT5, permettrait d'augmenter l'expression de Bcl-xL (*voir* fig. 2). Ce schéma est sans doute sûrement trop simpliste et d'autres mécanismes moléculaires certainement en jeu restent encore à découvrir.

Au total, la régulation positive de l'érythropoïèse se ferait essentiellement par inhibition de l'apoptose des progéniteurs et des précurseurs érythroïdes par l'intermédiaire de la modulation de la protéine Bcl-xL. La prolifération et la différenciation s'effectueraient ensuite de façon non régulable une fois assurée la survie des progéniteurs. Il ne semble pas que le récepteur de l'érythropoïétine puisse envoyer des signaux spécifiques de différenciation. En effet, en remplaçant les récepteurs de l'érythropoïétine par d'autres récepteurs de cytokines spécifiques d'autre lignages (G-CSF, TPO, prolactine), la différenciation, à partir du moment où la survie est possible, s'effectue normalement.

Système rénine-angiotensine dans la régulation de l'érythropoïèse

En dehors de la synthèse d'érythropoïétine, le rein pourrait également contribuer à la régulation de l'érythropoïèse par le système rénine-angiotensine par des mécanismes complexes et partiellement élucidés.

In vitro, l'angiotensine II (Ang II) stimule d'une façon dose dépendante la prolifération des progéniteurs hématopoïétiques [13]. Cet effet est médié par le récepteur AT1 exprimé à la surface des progéniteurs érythroïdes et nécessite la présence d'Epo. Il pourrait s'agir d'un effet direct sur la survie et la prolifération des cellules hématopoïétiques et/ou d'une potentialisation de l'effet d'autres facteurs de croissance hématopoïétique et en particulier de l'Epo. En effet, l'Ang II et l'Epo partagent la voie de transduction Jak-STAT.

De plus, les souris transgéniques présentant un déficit partiel en enzyme de conversion développent une anémie en l'absence d'insuffisance rénale [14].

Un effet direct de l'Ang II sur la synthèse d'Epo a été suggéré mais non formellement prouvé. L'Ang II stimule la sécrétion d'HIF 1- α dans les cellules musculaires lisses vasculaires indépendamment de l'hypoxie. Cet effet est médié par une augmentation de la transcription et de la traduction de l'ARNm de HIF 1- α liée à une activation de la protéine kinase C [15]. Il reste à démontrer ces mêmes résultats au niveau des cellules interstitielles rénales synthétisant l'Epo. Néanmoins, chez les souris transgéniques déficientes en enzyme de conversion, le taux d'Epo circulante est élevé comparé aux animaux contrôles. Cette constatation plaide contre un effet direct significatif de l'AngII sur la synthèse d'Epo.

Ces données expérimentales sont étayées par des arguments cliniques indirects. Ainsi, les IEC se sont montrés efficaces dans la réduction de la masse globulaire au cours de différents types de polyglobulie secondaire : polyglobulie post-transplantation [16], polyglobulie liée à l'altitude et polyglobulie des maladies kystiques rénales (observations personnelles). L'exemple le plus illustratif et le mieux documenté est probablement la polyglobulie post-transplantation où les IEC se sont imposés comme une alternative aux saignées ou à la théophylline. Chez les patients atteints de ce type de polyglobulie, l'effet bénéfique des IEC impliquerait : 1) une induction de l'apoptose des progéniteurs érythroïdes, suite à une diminution de la stimulation de AT-1. Néanmoins, les mécanismes d'induction de cette apoptose restent inconnus. 2) une diminution du taux plasmatique d'IGF1, qui agit comme facteur de croissance hématopoïétique sur les progéniteurs érythroblastiques [17].

Par ailleurs, un effet bénéfique des sartans a été noté au cours de la polyglobulie secondaire à l'insuffisance respiratoire chronique [18] et de la polyglobulie post-transplantation [19]. Néanmoins, l'inhibition de l'érythropoïèse induite par les sartans semble moins marquée en comparaison avec les IEC. Cette moindre

efficacité des sartans suggère que les IEC interfèrent avec l'érythropoïèse par des mécanismes spécifiques. L'un de ces mécanismes est probablement l'inhibition de la dégradation du SDKP (*Seryl-aspartyl-lysyl-proline*) [20]. Ce tétrapeptide est un inhibiteur physiologique de la prolifération des cellules progénitrices médullaires et des cellules souches hématopoïétiques. Il est normalement dégradé par l'enzyme de conversion (portion N terminale). L'utilisation des IEC et non des sartans entraînent une accumulation de ce peptide et probablement une inhibition accrue de l'érythropoïèse. Les interactions entre IEC, SDKP et érythropoïèse sont illustrées par les données rapportées par Le Meur et coll. chez des patients présentant une insuffisance rénale chronique [21]. Rappelons au préalable qu'un effet délétère des IEC sur l'érythropoïèse au cours de l'insuffisance rénale chronique reste débattu. La multitude des facteurs confondants (le statut ferrique, le taux plasmatique d'IGF1, l'existence d'une hyperparathyroïdie...) rend difficile l'analyse de l'effet des IEC et des sartans sur l'érythropoïèse au cours de l'insuffisance rénale. Néanmoins, l'étude menée par Le Meur et coll. montre une corrélation entre le taux de SDKP et les besoins en érythropoïétine chez des patients dialysés. Cette corrélation est surtout nette chez les patients dialysés présentant des taux de SDKP > 20 fois la normale et recevant donc souvent un IEC. Ces résultats suggèrent donc un rôle éventuel du SDKP dans l'inhibition de l'érythropoïèse induite par les IEC.

En dehors de l'insuffisance rénale, il est probable que l'absence d'anémie sous IEC soit liée à une augmentation compensatrice de la synthèse d'érythropoïétine.

RÉGULATION NÉGATIVE DE L'ÉRYTHROPOÏÈSE

Rôle des caspases dans la régulation négative de l'érythropoïèse

Pour éviter une trop forte production de globules rouges, l'érythropoïèse doit être régulée de façon négative. Cette régulation négative s'effectue essentiellement par la diminution du taux d'érythropoïétine circulante comme nous venons de l'expliquer. Plus récemment, il vient d'être démontré que la régulation négative de l'érythropoïèse s'effectue par un mécanisme paracrine faisant jouer les récepteurs de Mort tels que Fas. Dans ce modèle, il a été proposé que les érythroblastes en fin de différenciation (érythroblastes polychromatophiles et acidophiles) expriment Fas-Ligand et qu'au niveau de la moelle osseuse, au sein des îlots érythroblastiques composés d'un macrophage entouré d'érythroblastes à tous les stades de maturation, ils interagiraient directement avec les progéniteurs et les précurseurs érythroblastiques plus précoces exprimant le récepteur Fas pour induire l'arrêt de la maturation et l'apoptose. Ainsi le taux d'érythroblastes matures dans la moelle pourrait contrôler rétro-activement l'érythropoïèse en induisant l'apoptose des précurseurs érythroblastiques [22].

Pour rappel (fig. 5), Fas-Ligand en agissant sur son récepteur Fas induit le recrutement et l'activation de caspases essentiellement de la caspase-8, qui elle-même va activer la caspase-3 pour induire le clivage des protéines nécessaires à la structure et à l'intégrité du noyau et de la chromatine. Cette activation de la caspase-3 va ainsi conduire à l'apoptose. De plus, la caspase-8 activée clive aussi la protéine Bid qui peut alors induire la dépolarisation de la membrane mitochondriale. Une fois dépolarisée, la mitochondrie va libérer le cytochrome C dans le cytoplasme, ce qui aboutit à la formation d'un apoptosome comprenant la pro-caspase-9, et le facteur

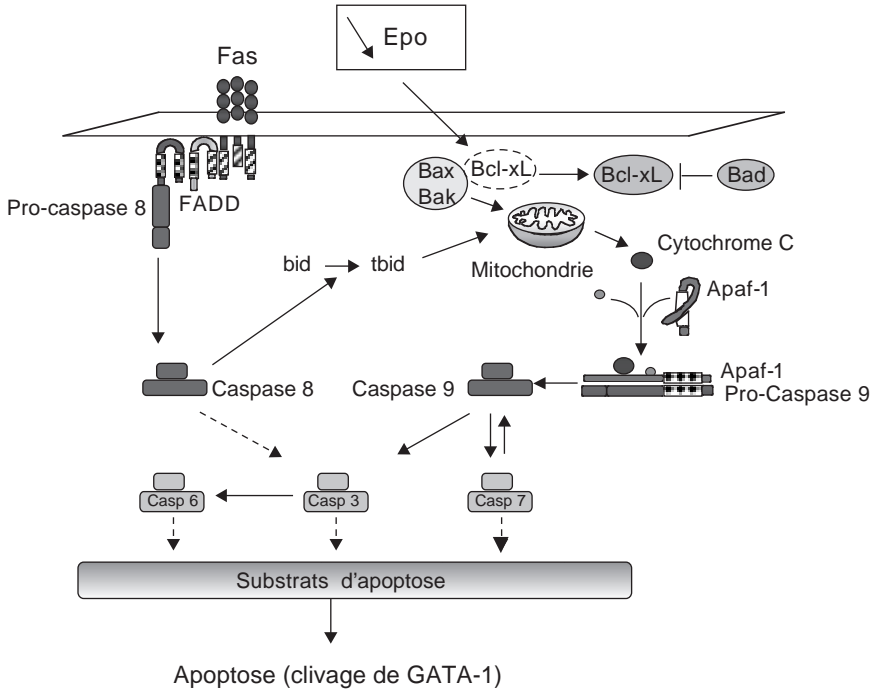


FIG. 5. — Mécanismes d'activation des caspases en l'absence d'Epo, ou en présence de Fas.

APAF-1. L'apoptosome va induire l'activité de la caspase-9 qui va cliver la caspase-3 et conduire également à l'apoptose par cette voie mitochondriale. Cette deuxième voie d'apoptose peut être inhibée par de forts taux de la protéine Bcl-xL. Au niveau de l'érythropoïèse, la protéine GATA-1 est une des cibles de la caspase-3. Son clivage va induire un arrêt de l'expression des gènes nécessaires à la maturation et induire ainsi un blocage de la différenciation érythroïde. De plus, le clivage de GATA-1 va conduire à une diminution de l'activité du promoteur du gène de Bcl-xL [23]. Dans ce modèle faisant intervenir Fas/Fas-Ligand, l'érythropoïétine pourrait agir en bloquant les effets apoptotiques de Fas-ligand. En effet, en augmentant les taux de Bcl-xL, elle permettrait de bloquer la dépolarisation de la mitochondrie induite par Bid et ainsi de diminuer l'activation de la caspase-9 et donc de la caspase-3, et finalement de l'apoptose [24]. Dans ce modèle, il faut donc considérer que l'activation de la caspase-3 qui fait suite à l'activation de Fas passe essentiellement par la voie mitochondriale (comme dans les hépatocytes) plus que directement par la voie de la caspase 8. Ainsi les caspases sont les enzymes clés de la régulation négative de l'érythropoïèse.

Rôle des caspases dans la maturation terminale des érythroblastes

Récemment, nous avons testé l'hypothèse selon laquelle les caspases pourraient être activées au cours de l'érythropoïèse normale et expliquer les changements morphologiques observés au cours de la maturation terminale [25]. Nous avons

pu mettre en évidence que la caspase-3 est activée de façon transitoire et constitutive au moment où les changements morphologiques des érythroblastes apparaissent. Cette activation se fait par la voie mitochondriale avec dépolarisation de sa membrane et activation de la caspase-9. Nous avons également montré que l'activation de la caspase-3 est associée à l'activation de la caspase-6 et au clivage de la lamine B, qui pourraient être responsables de la condensation nucléaire comme cela a été décrit au cours de l'apoptose [25, 26]. De plus, la protéine Acinus [27, 28], responsable de la condensation de la chromatine mais pas de sa dégradation, est activée par clivage par la caspase-3 au cours de la différenciation érythroblastique. À l'inverse, bien que les caspases exécutrices soient activées, les cellules n'entrent pas en apoptose puisqu'elles n'expriment pas la phosphatidylsérine à leur membrane, que ICAD l'inhibiteur de CAD la nucléase responsable du clivage du DNA n'est pas clivé [25], et que GATA-1 n'est pas dégradée (fig. 6).

Ainsi nous avons pu démontrer qu'au cours de la différenciation érythroblastique normale, les caspases sont activées par la voie mitochondriale, et que cette activation n'est pas associée à une apoptose mais est nécessaire aux changements morphologiques, observés au cours de la différenciation terminale des érythroblastes [22, 25].

Ces résultats ouvrent des perspectives et posent des questions importantes sur la compréhension des régulations négative et positive de l'érythropoïèse. Ils suggèrent que les caspases sont constitutivement activées par la voie mitochondriale pour permettre la différenciation terminale des érythroblastes. Les cellules seraient protégées de l'apoptose par un mécanisme encore inconnu. L'excès de cellules matures ou la baisse d'érythropoïétine entraînerait l'apoptose en permettant aux caspases activées d'exprimer alors leur potentiel apoptotique. Des dérégulations de ces processus pourraient contribuer à la physiopathologie d'anémies réfractaires ou à l'inverse de polyglobulies primitives. Le rôle des caspases dans la différenciation a été de plus retrouvé dans d'autres modèles cellulaires (cristallin, kératinocytes, monocytes/macrophages, muscles, et plaquetogène) [29].

PATHOLOGIES DE L'ÉRYTHROPOÏÈSE EN NÉPHROLOGIE

Anémie par carence en érythropoïétine à fonction rénale normale

Les différentes formes d'atteinte rénale sont responsables d'un déficit de production d'Epo. Les mécanismes responsables de ce fait sont loin d'être élucidés. Des modèles d'agression rénale après obstruction urétérale par exemple, montrent que les fibroblastes interstitiels perdent leur capacité à répondre à un stimulus hypoxique. Le nombre de fibroblastes augmente pourtant très souvent dans ces modèles. C'est donc une modification phénotypique qui sous-tend à cette perte de régulation [5]. Elle semble sans rapport avec une transformation en myofibroblastes, souvent observée, car ces derniers restent capables de produire de l'Epo après stimulus hypoxique, mais avec un seuil augmenté.

Alors qu'il est bien établi que l'anémie des patients insuffisants rénaux est principalement liée à une carence vraie en érythropoïétine (Epo), certaines situations

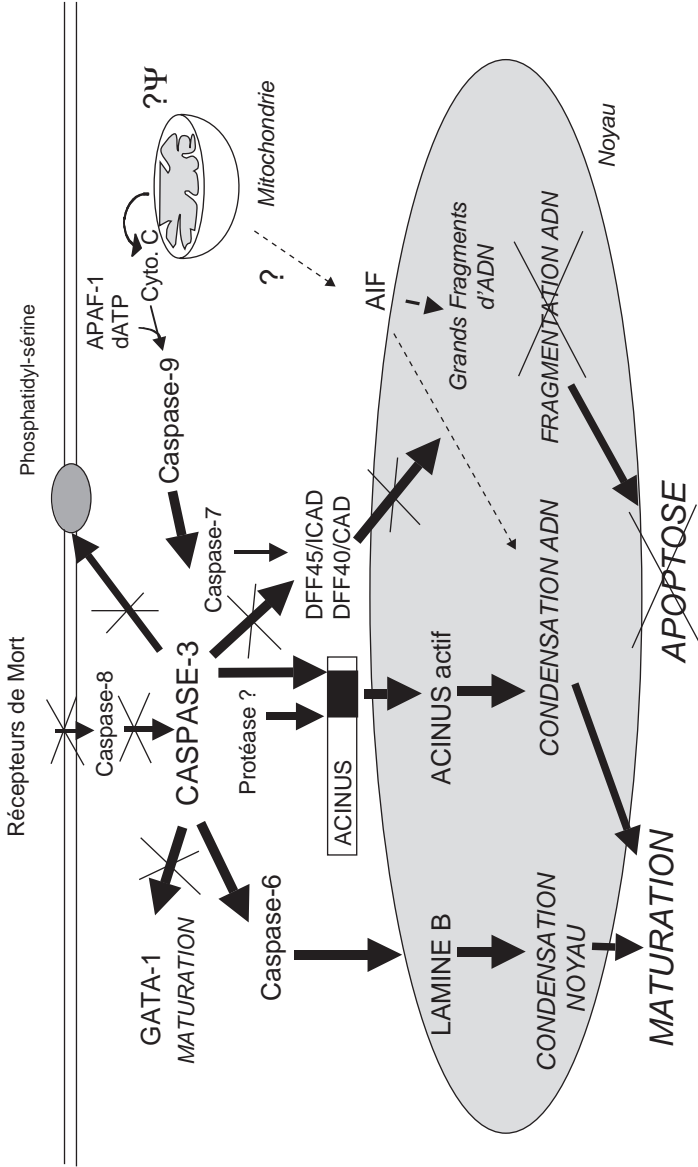


FIG. 6. — Rôle des caspases dans la maturation érythroblastique.

pathologiques peuvent induire une carence en Epo et se présenter avec une anémie normocytaire arégénérative sans anomalie de la fonction rénale.

Certaines causes sont extra-néphrologiques. On retrouve en effet un déficit en Epo endogène dans l'anémie des prématurés, l'anémie inflammatoire, l'anémie au cours de l'infection VIH, la drépanocytose, de rares cas sévères de maladie du système nerveux autonome et certaines anémies au cours des maladies tumorales (tumeurs solides ou hémopathie) [30, 31]. Pour expliquer cette réponse inadaptée pour le niveau d'anémie, plusieurs phénomènes sont proposés, dont la production de cytokines inhibant la synthèse d'Epo, comme l'IL1, le TNF α ou le TGF β . Cependant, le plus souvent, cette anémie répond à des mécanismes multiples et n'est pas expliquée uniquement par le déficit en Epo.

La présence d'une diminution de la fonction rénale n'est pas nécessaire à la diminution de production de l'Epo chez les patients suivis en néphrologie. Les patients présentant un syndrome néphrotique ont une perte urinaire d'Epo [32] ainsi qu'une réponse inadéquate à l'anémie [33], en l'absence d'anomalie de la fonction rénale et en l'absence de carence en fer. Habituellement, le traitement par l'Epo recombinante est efficace [34]. De la même manière, certains patients diabétiques ont été décrits présentant une anémie avec un dosage d'Epo bas en l'absence d'insuffisance rénale et de syndrome néphrotique [35, 36]. La physiopathologie précise chez ces patients n'est pas connue : des anomalies du système nerveux autonome [37], de la glycosylation de l'Epo ou de son récepteur [38] ont été évoquées sans preuve formelle. Enfin, il est possible que chez certains patients, la régulation négative du système rénine-angiotensine intervienne dans la diminution de la production d'Epo endogène comme cela a été montré dans des situations d'hyporeninémie [39] ou chez les patients traités par inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine [40, 41].

Les traitements par les sels de platine sont aussi associés à une diminution significative de la synthèse d'Epo, et ce même en l'absence d'insuffisance rénale induite par ce traitement. Ce phénomène est lié à un défaut de production d'Epo par le rein, probablement par une toxicité particulière du platine sur les cellules péritubulaires du rein [42, 43].

En conclusion, il existe des causes d'anémie normocytaire arégénérative par carence en Epo en l'absence d'insuffisance rénale. Il est donc important de doser l'Epo sérique devant un tableau hématologique compatible, en l'absence d'autre étiologie. Il est probable que le traitement par Epo recombinante a, dans ces situations, la même efficacité que dans l'anémie liée à l'insuffisance rénale.

Polyglobulie d'origine rénale

TUMEURS RÉNALES

La principale cause de polyglobulie secondaire à une sécrétion inappropriée d'Epo sont les tumeurs rénales et cette fréquence justifie la recherche d'une tumeur rénale chez tout patient chez qui est diagnostiquée une polyglobulie vraie. Environ 2 p. 100 des patients présentant une tumeur rénale sont polyglobuliques. Parmi celles-ci, l'histologie est le plus souvent un carcinome à cellules claires mais il a été décrit des polyglobulies vraies chez des patients présentant d'autres types histologiques : néphroblastome, sarcome, hémangiome, adénome. Le taux d'Epo circulante est élevé chez ces patients. La synthèse d'Epo se fait directement par les cellules tumorales

[44]. La résection complète de la tumeur permet la normalisation de l'hématocrite et la réapparition de la polyglobulie doit faire suspecter une récurrence tumorale, locale ou à distance. La raison de l'augmentation de la synthèse d'Epo par ces tumeurs n'est pas connue. Récemment, il a été décrit un patient présentant un cancer du rein associé à une polyglobulie dont une mutation somatique du gène VHL a été retrouvée [45].

PATHOLOGIES NON TUMORALES

En théorie, l'hypoperfusion rénale devrait, *via* l'hypoxie tissulaire, s'accompagner d'une augmentation de la synthèse d'Epo et d'une augmentation de la masse sanguine. Or, malgré la fréquence des sténoses artérielles rénales, ce phénomène n'est que très rarement observé sans que la cause en soit connue.

Les pathologies kystiques rénales peuvent, rarement, s'accompagner d'une polyglobulie. Le plus souvent, il ne s'agit pas de la forme classique de polykystose rénale autosomique dominante, mais plus fréquemment de dysplasies kystiques unilatérales, voire d'hydronéphrose ou de lymphocèle rénal. La physiopathologie de cette polyglobulie est mal connue. Le taux d'Epo circulante n'est que rarement élevé. Par contre, le liquide de kyste peut contenir de fortes concentrations d'Epo. Il est probable que l'hypoxie tissulaire locale induite par la compression du tissu rénal normal par le kyste a un rôle dans l'augmentation de synthèse de l'Epo. L'exérèse chirurgicale ou même la ponction du liquide de kyste peut normaliser l'hématocrite [46]. Dans notre expérience, le traitement par inhibiteur de l'enzyme de conversion pourrait également permettre la normalisation de l'hématocrite.

ÉRYTHROCYTOSE DES TRANSPLANTÉS RÉNAUX

L'apparition chez les patients transplantés rénaux d'une polyglobulie est une complication bien connue. Cette érythrocytose est un phénomène précoce après la transplantation et n'est jamais lié à une dysfonction du greffon. Sa physiopathologie reste obscure. Le rein natif joue probablement un rôle : l'amélioration après exérèse [47] de celui-ci et le fait que cette complication ne survienne que chez les transplantés de rein sont deux arguments en faveur de cette hypothèse. Les études des progéniteurs érythroïdes ont donné des résultats discordants mais il paraît clair qu'il n'existe pas de pousse spontanée en l'absence d'Epo. Par contre, il pourrait exister une hypersensibilité à l'Epo en culture [48]. Le taux d'Epo circulant est extrêmement variable selon les patients [16]. L'angiotensine II, dont le récepteur AT₁ est présent sur les BFU-E, et l'IGF1 ont plus récemment été discutés dans la physiopathologie de cette polyglobulie sans argument formel pour l'une ou l'autre des deux hypothèses. Le traitement fait appel aux inhibiteurs de l'enzyme de conversion ou aux inhibiteurs du récepteur à l'angiotensine II qui ont une efficacité globalement identique à long terme [49].

POLYGLOBULIES ASSOCIÉES À DES MUTATIONS DE VHL

Le rôle de VHL dans le contrôle de l'expression du gène de l'Epo vient d'être magnifiquement illustré par l'identification du mécanisme moléculaire responsable d'une forme de polyglobulie héréditaire.

La polyglobulie de type « Chuvash », est une maladie autosomique récessive touchant cette région de Russie. Les patients ont une polyglobulie congénitale qui présente des caractéristiques à la fois primitive, c'est-à-dire une sensibilité accrue des progéniteurs érythroïdes à l'Epo *in vitro*, et secondaire, c'est-à-dire un taux

d'Epo circulante élevé. Par une approche de clonage positionnel, le groupe de Prchal [50] a d'abord exclu les gènes de l'Epo ou de son récepteur, puis a identifié un locus pour cette maladie sur le bras court du chromosome 3. Dans cette région se trouve le gène VHL, ce qui en faisait un gène candidat très attractif, même si aucun sujet atteint ne présentait de caractères évocateurs d'une maladie de Von Hippel Lindau.

De fait, une mutation du gène VHL a été identifiée chez ces patients. Il s'agit d'une substitution d'arginine en tryptophane en position 200 (R200W), dans la partie toute c-terminale de la protéine. La protéine VHL mutée lie moins bien HIF-1 α que la protéine sauvage et en conséquence le niveau de HIF exprimé (dans des lymphoblastes) est supérieur à celui des contrôles. Ainsi, cette mutation homozygote de VHL diminue le contrôle négatif normalement exercé sur HIF, et est responsable d'une activation de gènes HIF-dépendant comme l'Epo, dont l'ARNm était légèrement augmenté dans les cellules lymphoblastiques. Le niveau d'expression du gène de l'Epo dans le rein n'a bien sûr pas pu être étudié chez ces sujets. Cette mutation de VHL est donc tout à fait particulière car elle était la seule connue à l'état homozygote dans les cellules germinales, et ne s'accompagne d'aucune tumeur habituellement retrouvée dans la maladie VHL. Tout récemment, 2 autres mutations germinales de VHL (V130L et D126Y) ont été identifiées chez d'autres sujets atteints de polyglobulie congénitale [51]. L'explication provient probablement de la nature et du lieu de la mutation VHL qui n'abolit pas complètement la liaison à HIF- α et permet quand même un certain degré de régulation négative. Ceci suggère que le gène de l'Epo est particulièrement sensible à une augmentation modérée d'expression de HIF- α . Ce n'est pas le seul car d'autres gènes importants pour l'érythropoïèse comme la transferrine et le récepteur à la transferrine sont également augmentés chez ces patients. Les raisons pour lesquelles les progéniteurs erythroïdes de ces patients sont particulièrement sensibles à l'Epo restent incompréhensibles. Une production auto-crine accrue d'Epo par ces progéniteurs a été évoquée.

Le rôle de VHL dans le contrôle de l'érythropoïèse est également mis en évidence chez les souris qui ont une inactivation conditionnelle de VHL dans le foie. En effet, elles développent non seulement des tumeurs hépatiques très vascularisées mais également une polyglobulie majeure (Ht 80 p. 100) [52]. Ceci montre le rôle crucial de VHL dans le contrôle de gènes sensibles à l'hypoxie comme l'Epo, également dans le foie, autre organe capable de synthétiser de l'Epo durant le développement mais également chez l'adulte.

Anémies inflammatoires

L'anémie inflammatoire est particulièrement fréquente puisque toute inflammation s'accompagne rapidement d'un défaut de production médullaire et d'une discrète diminution de la durée de vie des hématies. La majorité des inflammations étant d'origine infectieuse et rapidement traitées, la durée en sera généralement trop courte pour être responsable d'une anémie symptomatique. Néanmoins, si l'on estime l'excès de perte non corrigée à environ 1 p. 100 par jour, en dix jours un sujet peut perdre environ 10 p. 100 de son hémoglobine et passer de 12 à 11 g d'hémoglobine. L'anémie peut alors se présenter comme un problème diagnostique propre.

Physiopathologie des anémies inflammatoires

Au cours des processus inflammatoires (infections, cancers, maladies auto-immunes), l'érythropoïèse est diminuée. Cette diminution est la conséquence de

la synthèse anormale de cytokines inflammatoires (TNF- α , Interféron- γ , TGF- β). Toutes ces cytokines agissent en diminuant la synthèse d'érythropoïétine au niveau du rein. Cependant, elles agissent également au niveau de la moelle directement sur les progéniteurs érythroblastiques. Le TNF- α agirait comme Fas-L en induisant l'apoptose et le blocage de la maturation des précurseurs érythroblastiques précoces par l'intermédiaire de l'activation de caspase 8 qui va entraîner le clivage du facteur de transcription GATA-1. L'Interféron- γ , régulerait positivement l'expression de Fas-L sur les précurseurs érythroblastiques, contribuant ainsi à l'arrêt de la maturation et à l'induction de l'apoptose de ces mêmes précurseurs [53]. Le TGF- β agit au niveau des progéniteurs en diminuant leur prolifération. Cette diminution de la prolifération est essentiellement liée à une mise en phase G0/G1 du cycle cellulaire. Par contre, à la différence de l'Interféron- γ , du TNF- α et de Fas-Ligand, il n'induit pas d'apoptose. Son effet sur la différenciation est également opposé à celui de Fas-L. Nous avons en effet pu démontrer qu'il augmente la différenciation érythroblastique et permet, à partir de CFU-E, d'obtenir des cellules hémoglobinisées, matures et énucléées après trois jours de culture seulement au lieu des sept jours habituellement nécessaires en présence d'érythropoïétine seule [54, 55]. Ainsi, en accélérant la différenciation des progéniteurs et des précurseurs érythroblastiques, il empêcherait leur expansion, et aboutirait, in fine, à une faible production de globules rouges. Les mécanismes moléculaires par lesquels le TGF- β 1 accélère la différenciation ne sont pas encore connus. Nous avons pu démontrer dans une lignée cellulaire qu'ils ne sont pas dépendants de la longueur de la phase G1 du cycle cellulaire ni des modulations d'expression des protéines STATs. Le TGF- β 1 pourrait agir directement sur les gènes érythroïdes par l'intermédiaire des molécules de la transduction qu'il active, telles que les protéines SMADS ou par la voie des MAP kinases.

Le métabolisme du fer est également perturbé et contribue aussi largement à la pathogénie de l'anémie inflammatoire. On peut estimer que 10 ml de sang contiennent environ 5 mg de fer. Chez l'homme, un gain de 1 g/dl d'hémoglobine consomme environ 200 mg de fer. Dans l'anémie inflammatoire, le fer sérique est diminué malgré des réserves en fer normales, voire augmentées. L'hyposidérémie et l'accumulation du fer dans le système réticulo-endothélial de ces patients seraient secondaires à la rétention du fer dans les macrophages et la diminution de l'absorption intestinale du fer. Cette modification de la mobilisation du fer par les macrophages et les entérocytes pourrait être un mécanisme de défense de l'hôte pour combattre les infections ou les cancers. À terme, l'hypo-absorption intestinale et la séquestration macrophagique entraînent un déficit en fer important et l'anémie devient microcytaire. Ceci traduit un « déficit fonctionnel » en fer qui est la conséquence d'un blocage du relargage du fer à partir des réserves. Récemment, il a été suggéré qu'une petite hormone peptidique, l'hepcidine, pourrait jouer un rôle central dans la régulation du métabolisme martial et être impliquée dans la physiopathologie de l'anémie inflammatoire [56]. L'hepcidine est synthétisée exclusivement par le foie, circule dans le plasma [57], a une activité antimicrobienne et l'expression de son ARNm augmente en réponse aux stimuli inflammatoires [58]. Bien qu'il n'ait pas encore été montré comment interagit l'hepcidine avec les protéines du transport du fer, il semble que l'hepcidine régule directement la machinerie de transport du fer [59]. Chez des patients atteints d'un adénome hépatique de grande taille, il a été mis en évidence des anémies inflammatoires qui se sont spontanément corrigées après résection des adénomes dans lesquels il a été trouvé un taux exagérément élevé d'ARNm de

l'hepcidine. Par analogie, il est supposé que l'hepcidine pourrait jouer un rôle important dans la physiopathologie des différentes anémies inflammatoires [59].

Traitement des anémies inflammatoires

La première thérapeutique d'une anémie inflammatoire est le traitement de la pathologie responsable du syndrome inflammatoire. Les progrès thérapeutiques divers ont rendu beaucoup moins fréquentes les infections persistantes responsables d'anémie. Restent les rhumatismes inflammatoires chroniques, les collagénoses et autres pathologies inflammatoires complexes et surtout les tumeurs malignes hématologiques et non hématologiques.

Des essais cliniques ont montré que l'érythropoïétine recombinante (rHu-Epo) peut être efficace dans la correction de l'anémie inflammatoire, alors que la rHu-Epo ne corrige pas une anémie par carence martiale. Il faut noter que la réponse au traitement par rHu-Epo est inconstante et très variable d'un patient à un autre. Cette réponse serait liée à une inhibition de l'apoptose induite par les cytokines inflammatoires.

L'apport d'érythropoïétine a une base physiopathologique puisque dans ces anémies, le taux d'érythropoïétine est généralement inapproprié en regard du degré de l'anémie. Néanmoins, il est logique de penser que le traitement par l'érythropoïétine seule ne soit que médiocrement efficace puisque : a) ce n'est pas le seul mécanisme de l'anémie, b) l'anomalie du métabolisme du fer est un facteur limitant obligatoire de l'érythropoïèse. Il serait donc logique d'envisager l'association d'érythropoïétine et de fer par voie intraveineuse plutôt que *per os* comme cela se fait actuellement [60]. Certaines études suggèrent néanmoins que dans les rhumatismes inflammatoires, l'érythropoïétine améliore la maladie sous-jacente et même l'anomalie du métabolisme du fer [61]. L'inhibition des cytokines inflammatoires permet d'améliorer l'anémie en agissant à la fois au niveau des macrophages pour augmenter la disponibilité du fer et des progéniteurs érythroblastiques [62].

CONCLUSION

La régulation de l'érythropoïèse est complexe, elle se fait par l'intermédiaire de différentes cytokines. Cette régulation s'effectue à différents niveaux, paracrines et endocrines. À l'échelon cellulaire, elle modifie la prolifération, la différenciation et surtout la survie. Dans tous ces systèmes, les caspases semblent jouer un rôle déterminant en induisant l'apoptose et/ou en bloquant la maturation en cas de déprivation d'érythropoïétine ou d'activation par Fas-L. La balance entre les taux de Fas-L (d'origine érythroblastique ou tumorale et les taux circulants d'Epo déterminerait le niveau de production des globules rouges. Le rein y joue un rôle important par son rôle de glande endocrine essentiellement par la synthèse d'érythropoïétine mais aussi dans certaines circonstances par le système rénine-angiotensine.

BIBLIOGRAPHIE

1. GREGORY CJ, EAVES AC. Three stages of erythropoietic progenitor cell differentiation distinguished by a number of physical and biologic properties. *Blood*, 1978, **51**, 527-537.

2. CANTOR AB, ORKIN SH. Transcriptional regulation of erythropoiesis : an affair involving multiple partners. *Oncogene*, 2002, **21**, 3368-3376.
3. KOURY MJ, SAWYER ST, BRANDT SJ. New insights into erythropoiesis. *Curr Opin Hematol*, 2002, **9** (2), 93-100.
4. MAXWELL PH, OSMOND MK, PUGH CW et al. Identification of the renal erythropoietin-producing cells using transgenic mice. *Kidney Int*, 1993, **44** (5), 1149-1162.
5. MAXWELL PH, FERGUSON DJ, NICHOLLS LG et al. The interstitial response to renal injury : fibroblast-like cells show phenotypic changes and have reduced potential for erythropoietin gene expression. *Kidney Int*, 1997, **52** (3), 715-724.
6. DONNELLY S. Why is erythropoietin made in the kidney ? The kidney functions as a critmeter. *Am J Kidney Dis*, 2001, **38** (2), 415-425.
7. WENGER RH. Cellular adaptation to hypoxia : O₂-sensing protein hydroxylases, hypoxia-inducible transcription factors, and O₂-regulated gene expression. *Faseb J*, 2002, **16** (10), 1151-1162.
8. WIESENER MS, MUNCHENHAGEN PM, BERGER I et al. Constitutive activation of hypoxia-inducible genes related to overexpression of hypoxia-inducible factor-1alpha in clear cell renal carcinomas. *Cancer Res*, 2001, **61** (13), 5215-5222.
9. ROSENBERGER C, MANDRIOTA S, JURGENSEN JS et al. Expression of hypoxia-inducible factor-1alpha and -2alpha in hypoxic and ischemic rat kidneys. *J Am Soc Nephrol*, 2002, **13** (7), 1721-1732.
10. FINE LG, NORMAN JT. The breathing kidney. *J Am Soc Nephrol*, 2002, **13** (7), 1974-1976.
11. KAELIN WG Jr. Molecular basis of the VHL hereditary cancer syndrome. *Nat Rev Cancer*, 2002, **2** (9), 673-682.
12. KOURY MJ, BONDURANT MC. Erythropoietin retards DNA breakdown and prevents programmed death in erythroid progenitor cells. *Science*, 1990, **248** (4953), 378-381.
13. MRUG M, STOPKA T, JULIAN BA et al. Angiotensin II stimulates proliferation of normal early erythroid progenitors. *J Clin Invest*, 1997, **100** (9), 2310-2314.
14. COLE J, ERTOY D, LIN H et al. Lack of angiotensin II-facilitated erythropoiesis causes anemia in angiotensin-converting enzyme-deficient mice. *J Clin Invest*, 2000, **106** (11), 1391-1398.
15. PAGE EL, ROBITAILLE GA, POUYSSEUR J et al. Induction of hypoxia-inducible factor-1alpha by transcriptional and translational mechanisms. *J Biol Chem*, 2002, **277** (50), 48403-48409.
16. GASTON RS, JULIAN BA, CURTIS JJ. Posttransplant erythrocytosis : an enigma revisited. *Am J Kidney Dis*, 1994, **24** (1), 1-11.
17. GLICKLICH D, BURRIS L, URBAN A et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition induces apoptosis in erythroid precursors and affects insulin-like growth factor-1 in posttransplantation erythrocytosis. *J Am Soc Nephrol*, 2001, **12** (9), 1958-1964.
18. VLAHAKOS DV, MARATHIAS KP, KOSMAS EN. Losartan reduces hematocrit in patients with chronic obstructive pulmonary disease and secondary erythrocytosis. *Ann Intern Med*, 2001, **134** (5), 426-427.
19. JULIAN BA, BRANTLEY RR, BARKER CV et al. Losartan, an angiotensin II type 1 receptor antagonist, lowers hematocrit in posttransplant erythrocytosis. *J Am Soc Nephrol*, 1998, **9** (6), 1104-1108.
20. AZIZI M, ROUSSEAU A, EZAN E et al. Acute angiotensin-converting enzyme inhibition increases the plasma level of the natural stem cell regulator N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline. *J Clin Invest*, 1996, **97** (3), 839-844.
21. LE MEUR Y, LORGEOT V, COMTE L et al. Plasma levels and metabolism of AcSDKP in patients with chronic renal failure : relationship with erythropoietin requirements. *Am J Kidney Dis*, 2001, **38** (3), 510-517.
22. DE MARIA R, TESTA U, LUCHETTI L et al. Apoptotic role of Fas/Fas ligand system in the regulation of erythropoiesis. *Blood*, 1999, **93** (3), 796-803.
23. DE MARIA R, ZEUNER A, ERAMO A et al. Negative regulation of erythropoiesis by caspase mediated cleavage of GATA-1. *Nature*, 1999, **401**, 489-493.
24. KROEMER G, DALLAPORTA B, RESCHE-RIGON M. The mitochondrial death/life regulator in apoptosis and necrosis. [Review] [95 refs]. *Annual Review of Physiology*, 1998, **60**, 619-642.
25. ZERMATI Y, GARRIDO C, FISCHERSON S et al. Caspase activation is required for terminal erythroid differentiation. *J. Exp. Med*, 2001, **2** (193), 247-254.
26. PADDY MR, BELMONT AS, SAUMWEBER H et al. Interphase nuclear envelope lamins form a discontinuous network that interacts with only a fraction of the chromatin in the nuclear periphery. *Cell*, 1990, **62** (1), 89-106.

27. SAHARA S, AOTO M, EGUCHI Y et al. Acinus is a caspase-3-activated protein required for apoptotic chromatin condensation. *Nature*, 1999, **401 (6749)**, 168-173.
28. ZAMZAMI N, KROEMER G. Condensed matter in cell death. *Nature*, 1999, **401 (6749)**, 127-128.
29. DE BOTTON S, DAUGAS E, SABRI S et al. Platelet formation is the consequence of caspase activation within megakaryocytes. *Blood*, 2003, in press.
30. CAZZOLA M, MERCURIALI F, BRUGNARA C. Use of recombinant human erythropoietin outside the setting of uremia. *Blood*, 1997, **89**, 4248-4267.
31. MILLER CB, JONES RJ, PIANTADOSI S et al. Decrease erythropoietin response in patients with the anemia of cancer. *NEJM*, 1990, **322**, 1689-1692.
32. VAZIRI MD, KAUPKE CJ, BRATON CH et al. Plasma concentration and urinary excretion of erythropoietin in adult nephrotic syndrome. *Am J Med*, 1992, **92**, 35-40.
33. FEINSTEIN S, BECKER-COHEN R, ALGUR N et al. Erythropoietin deficiency cause anemia in nephrotic children with normal kidney function. *Am J Kidney Dis*, 2001, **37**, 736-742.
34. BAYES B, SERRA A, JUNCA J et al. Successful treatment of anaemia of nephrotic syndrome with recombinant human erythropoietin. *Nephrol Dial Transplant*, 1998, **13**, 1894-1895.
35. KALLAB AM, DABAGHIAN G, TERJINIAN T. Anemia secondary to low erythropoietin in a patient with normal renal function. *Mt Sinai J Med*, 1997, **64**, 406-408.
36. KOJIMA K, TOTSUKA Y. Anemia due to reduce serum erythropoietin concentration in non-uremic diabetic patient. *Diabetes Res Clin Pract*, 1995, **27**, 229-233.
37. HADJAD S, TORREMOCHA F, FANELLI A et al. Erythropoietin-dependent anaemia : a possible complication of diabetic neuropathy. *Diabetes Metab*, 2001, **27**, 383-385.
38. DIKOW R, SCHWENGER V, SCHÖMIG M et al. How should we manage anaemia in patients with diabetes ? *Nephrol Dial Transplant*, 2002, **17**, S67-S72.
39. DONNELLY S, SHAH BR. Erythropoietin deficiency in hyporeninemia. *Am J Kidney Disease*, 1999, **33**, 947-953.
40. MACDOUGALL IC. ACE inhibitors and erythropoietin responsiveness. *Am J Kidney Disease*, 2001, **38**, 649-651.
41. SACKEY AH. Anaemia after enalapril a child with nephrotic syndrome. *Lancet*, 1998, **352**, 285-286.
42. WOOD PA, HRUSHESKY WJ. Cisplatin-associated anaemia : an erythropoietin deficiency syndrome. *J Clin Invest*, 1955, **95**, 1650-1659.
43. HORIGUCHI H, KAYAMA F, OGUMA E et al. Cadmium and platinum suppression of erythropoietin production in cell culture : clinical implications. *Blood*, 2002, **96**, 3743-3747.
44. DA SILVA JL, LACOMBE C, BRUNEVAL P et al. Tumor cells are the site of erythropoietin synthesis in human renal cancers associated with polycythemia. *Blood*, 1990, **75**, 577-582.
45. WIESENER MS, SEYFARTH M, WARNECKER et al. Paraneoplastic erythrocytosis associated with an inactivating point mutation of the von Hippel-Lindau gene in a renal cell carcinoma. *Blood*, 2002, **99**, 3562-3565.
46. LEZREK M, FASSI-FEHRI H, BADET L et al. Remission of erythrocytosis and hypertension after treatment of a giant renal cyst. *Urology*, 2002, **60**, 164.
47. FRIMAN S, NYBERG G, BLOHME I. Erythrocytosis after renal transplantation : treatment by removal of native kidneys. *Nephrol Dial Transplant*, 1990, **5**, 969-973.
48. GLICKLICH D, KAPOIAN T, MIAN H et al. Effects of erythropoietin, angiotensin II, and angiotensin-converting enzyme inhibitor on erythroid precursors in patients with posttransplantation erythrocytosis. *Transplantation*, 1999, **68**, 62-66.
49. YEE MOON WANG A, WAI YIN YU A, WAI KEI LAM et al. Effects of Losartan or Enalapril on Hemoglobin, circulating erythropoietin, and insulin-like growth factor-I in patients with and without posttransplant erythrocytosis. *Am J Kidney Dis*, 2002, **39**, 600-608.
50. ANG SO, CHEN H, HIROTA K et al. Disruption of oxygen homeostasis underlies congenital Chuvash polycythemia. *Nat Genet*, 2002, **32 (4)**, 614-621.
51. PASTORE YD, JELINEK J, ANG S et al. Mutations in the VHL gene in sporadic apparently congenital polycythemia. *Blood*, 2003, **101 (4)**, 1591-1595.
52. HAASE VH, GLICKMAN JN, SOCOLOVSKY M et al. Vascular tumors in livers with targeted inactivation of the von Hippel-Lindau tumor suppressor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98 (4)**, 1583-1588.

53. DAI CH, PRICE JO, BRUNNER T et al. Fas ligand is present in human erythroid colony-forming cells and interacts with Fas induced by interferon gamma to produce erythroid cell apoptosis. *Blood*, 1998, **91** (4), 1235-1242.
54. ZERMATI Y, VARET B, HERMINE O. TGF- β drives and accelerates erythroid differentiation of the Epo dependant UT-7 cell line in absence of erythropoietin. *Experimental Hematology*, 2000, **28** (3), 256-266.
55. ZERMATI Y, FICHELSON S, VALENSI F et al. Transforming growth factor inhibits erythropoiesis by blocking proliferation and accelerating differentiation of erythroid progenitors. *Experimental Hematology*, 2000, **28** (8), 885-894.
56. NEMETH E, VALORE EV, TERRITO M et al. Heparin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood*, 2002, in press.
57. PARK CH, VALORE EV, WARING AJ et al. Heparin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem*, 2001, **276** (11), 7806-7810.
58. NICOLAS G, CHAUVET C, VIATTE L et al. The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest*, 2002, **110** (7), 1037-1044.
59. WEINSTEIN DA, ROY CN, FLEMING MD et al. Inappropriate expression of hepcidin is associated with iron refractory anemia : implications for the anemia of chronic disease. *Blood*, 2002, **100** (10), 3776-3781.
60. NORDSTROM D, LINDROTH Y, MARSAL L et al. Availability of iron and degree of inflammation modifies the response to recombinant human erythropoietin when treating anemia of chronic disease in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int*, 1997, **17** (2), 67-73.
61. KALTWASSER JP, KESSLER U, GOTTSCHALK R et al. Effect of recombinant human erythropoietin and intravenous iron on anemia and disease activity in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, 2001, **28** (11), 2430-2436.
62. PAPADAKI HA, KRITIKOS HD, VALATAS V et al. Anemia of chronic disease in rheumatoid arthritis is associated with increased apoptosis of bone marrow erythroid cells : improvement following anti-tumor necrosis factor-alpha antibody therapy. *Blood*, 2002, **100** (2), 474-482.