



HAL
open science

Utilisation de la darbépoétine en médecine vétérinaire : état des preuves et étude rétrospective des chats traités au CHUVA

Antoine Vassal

► To cite this version:

Antoine Vassal. Utilisation de la darbépoétine en médecine vétérinaire : état des preuves et étude rétrospective des chats traités au CHUVA. Médecine vétérinaire et santé animale. 2020. dumas-04782060

HAL Id: dumas-04782060

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04782060v1>

Submitted on 14 Nov 2024

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

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

Copyright

Année 2020

**UTILISATION DE LA DARBÉPOÉTINE EN MÉDECINE
VÉTÉRINAIRE : ÉTAT DES PREUVES ET ÉTUDE
RÉTROSPECTIVE DES CHATS TRAITÉS AU CHUVA**

THÈSE

pour obtenir le diplôme d'État de

DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

présentée et soutenue publiquement devant

la Faculté de Médecine de Créteil (UPEC)

le 30 juillet 2020

par

Antoine, Frédéric, Franck, VASSAL

sous la direction de

Christelle MAUREY-GUÉNEC

Président du jury :	M. Benoît FUNALOT	Professeur à la Faculté de Médecine de CRÉTEIL
1^{er} Assesseur :	Mme Christelle MAUREY-GUÉNEC	Maître de Conférences à l'EnvA
2nd Assesseur :	M. Matthias KOHLHAUER	Maître de Conférences à l'EnvA

Liste des membres du corps enseignant



Directeur : Pr Christophe Degueurce

Directeur des formations : Pr Henry Chateau

Directrice de la scolarité et de la vie étudiante : Dr Catherine Colmin

Directeurs honoraires : MM. les Professeurs C. Pilet, B. Toma, A.-L. Parodi, R. Morailon, J.-P. Cotard, J.-P. Mialot & M. Gogny

Département d'Élevage et de Pathologie des Équidés et des Carnivores (DEPEC)

Chef du département : Pr Grandjean Dominique - Adjoint : Pr Blot Stéphane

<p>Unité pédagogique d'anesthésie, réanimation, urgences, soins intensifs</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Fernandez Parra Rocio, Maître de conférences associée - Pr Verwaerde Patrick* <p>Unité pédagogique de clinique équine</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Audigé Fabrice - Dr Bertoni Léila, Maître de conférences - Dr Bourzac Céline, Chargée d'enseignement contractuelle - Dr Coudry Virginie, Praticien hospitalier - Pr Denoix Jean-Marie - Dr Giraudet Aude, Praticien hospitalier - Dr Jacquet Sandrine, Praticien hospitalier - Dr Mespoulhès-Rivière Céline, Praticien hospitalier* - Dr Moiroud Claire, Praticien hospitalier - Dr Tanquerel Ludovic, Chargé d'enseignement contractuel <p>Unité pédagogique de médecine et imagerie médicale</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Benckroun Ghita, Maître de conférences - Pr Blot Stéphane* - Dr Canonne-Guibert Morgane, Maître de conférences - Dr Freiche-Legros Valérie, Praticien hospitalier - Dr Maurey-Guénec Christelle, Maître de conférences 	<p>Unité pédagogique de médecine de l'élevage et du sport</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Cabrera Gonzales Joaquin, Chargé d'enseignement contractuel - Dr Fontbonne Alain, Maître de conférences - Pr Grandjean Dominique* - Dr Hoummady Sara, Chargée d'enseignement contractuelle - Dr Maenhoudt Cindy, Praticien hospitalier - Dr Nudelmann Nicolas, Maître de conférences - Dr Ribeiro dos Santos Natalia, Praticien hospitalier <p>Unité pédagogique de pathologie chirurgicale</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Decambon Adeline, Maître de conférences - Pr Fayolle Pascal - Dr Manassero Mathieu, Maître de conférences - Pr Viateau-Duval Véronique* <p>Discipline : cardiologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Chetboul Valérie - Dr Saponaro Vittorio, Praticien hospitalier <p>Discipline : ophtalmologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Chahory Sabine, Maître de conférences <p>Discipline : nouveaux animaux de compagnie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Pignon Charly, Praticien hospitalier - Dr Volait Laetitia, Praticien hospitalier
---	--

Département des Productions Animales et de Santé Publique (DPASP)

Chef du département : Pr Millemann Yves - Adjoint : Pr Dufour Barbara

<p>Unité pédagogique d'hygiène, qualité et sécurité des aliments</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Bolnot François, Maître de conférences - Pr Carlier Vincent - Dr Gauthier Michel, Maître de conférences associé - Dr Mûmet Narjes, Chargée d'enseignement contractuelle <p>Unité pédagogique de maladies réglementées, zoonoses et épidémiologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Crozet Guillaume, Chargé d'enseignement contractuel - Pr Dufour Barbara* - Pr Haddad/Hoang-Xuan Nadia - Dr Rivière Julie, Maître de conférences <p>Unité pédagogique de pathologie des animaux de production</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Adjou Karim - Dr Belbis Guillaume, Maître de conférences* - Dr Delsart Maxime, Maître de conférences associé - Pr Millemann Yves - Dr Plassard Vincent, Praticien hospitalier - Dr Ravary-Plumioën Bérangère, Maître de conférences 	<p>Unité pédagogique de reproduction animale</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Constant Fabienne, Maître de conférences* - Dr Denis Marine, Chargée d'enseignement contractuelle - Dr Desbois Christophe, Maître de conférences (rattaché au DEPEC) - Dr Maufré Vincent, Maître de conférences <p>Unité pédagogique de zootechnie, économie rurale</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Arné Pascal, Maître de conférences - Dr Barassin Isabelle, Maître de conférences - Pr Bossé Philippe* - Dr De Paula Reis Aline, Maître de conférences - Pr Grimard-Ballif Bénédicte - Pr Ponter Andrew <p>Rattachée DPASP</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Wolgust Valérie, Praticien hospitalier
---	---

Département des Sciences Biologiques et Pharmaceutiques (DSBP)

Chef du département : Pr Desquilbet Loïc - Adjoint : Pr Pilot-Storck Fanny

<p>Unité pédagogique d'anatomie des animaux domestiques</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Boissady Emilie, Chargée d'enseignement contractuelle - Pr Chateau Henry - Pr Crevier-Denoix Nathalie - Pr Robert Céline* <p>Unité pédagogique de bactériologie, immunologie, virologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Boulouis Henri-Jean - Pr Eloit Marc - Dr Lagrée Anne-Claire, Maître de conférences - Pr Le Poder Sophie - Dr Le Roux Delphine, Maître de conférences* <p>Unité pédagogique de biochimie, biologie clinique</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Bellier Sylvain* - Dr Deshuillers Pierre, Maître de conférences - Dr Lagrange Isabelle, Praticien hospitalier <p>Unité pédagogique d'histologie, anatomie pathologique</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Cordonnier-Lefort Nathalie, Maître de conférences - Pr Fontaine Jean-Jacques - Dr Laloy Eve, Maître de conférences - Dr Reyes-Gomez Edouard, Maître de conférences* <p>Unité pédagogique de management, communication, outils scientifiques</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme Conan Muriel, Professeur certifié (Anglais) - Pr Desquilbet Loïc, (Biostatistique, Epidémiologie) - Dr Legrand Chantal, Maître de conférences associée - Dr Marignac Geneviève, Maître de conférences* - Dr Rose Hélène, Maître de conférences associée 	<p>Unité de parasitologie, maladies parasitaires, dermatologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Blaga Radu, Maître de conférences (rattaché au DPASP) - Dr Briand Amaury, Assistant d'Enseignement et de Recherche Contractuel (rattaché au DEPEC) - Dr Cochet-Faivre Noëlle, Praticien hospitalier (rattachée au DEPEC) - Pr Guillot Jacques* - Dr Polack Bruno, Maître de conférences - Dr Risco-Castillo Veronica, Maître de conférences <p>Unité pédagogique de pharmacie et toxicologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Kohlhauser Matthias, Maître de conférences - Dr Perrot Sébastien, Maître de conférences* - Pr Tissier Renaud <p>Unité pédagogique de physiologie, éthologie, génétique</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Chevallier Lucie, Maître de conférences (Génétique) - Dr Crépeaux Guillemette, Maître de conférences (Physiologie, Pharmacologie) - Pr Gilbert Caroline (Ethologie) - Pr Pilot-Storck Fanny (Physiologie, Pharmacologie) - Pr Tiret Laurent (Physiologie, Pharmacologie)* - Dr Titeux Emmanuelle (Ethologie), Praticien hospitalier <p>Discipline : éducation physique et sportive</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. Philips Pascal, Professeur certifié
--	---

* responsable d'unité pédagogique

Professeurs émérites : Pr Combrisson Hélène, Pr Enriquez Brigitte, Pr Panthier Jean-Jacques, Pr Paragon Bernard.

Remerciements

Au Président du Jury de cette thèse, Professeur à la Faculté de Médecine de Créteil,
Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse.
Hommage respectueux

À Mme Christelle MAUREY-GUÉNEC, Maître de conférences à l'EnvA,
Pour l'intérêt que vous avez porté à ce travail. Pour votre gentillesse et votre pédagogie.
Pour m'avoir guidé à chaque étape de la réalisation de cette thèse. Vous m'avez beaucoup appris. Vous êtes pour moi une source d'inspiration.
Je vous adresse mes sincères remerciements et ma profonde admiration.

À M. Matthias KOHLHAUER, Maître de conférences à l'EnvA,
Pour votre disponibilité en toute circonstance. Pour toute l'aide et les conseils que vous m'avez apportés. Ils m'ont été très précieux dans la réalisation de ce travail.
Vous avez mon plus grand respect, je vous remercie de tout cœur.

À ma mère et mes frères,
Pour votre amour inconditionnel. Pour avoir toujours cru en moi. Pour m'avoir accompagné toutes ces années sans relâche. Vous êtes à l'origine de l'homme que je suis aujourd'hui.
Je vous aime de tout mon cœur.

À ma famille et mes amis,
Pour votre présence à mes côtés et votre soutien sans faille. Pour toutes ces années et ces souvenirs. Pour tout ce qui reste à venir.
Je vous adore.

Une affectueuse pensée pour mon père. Je t'aime.

Table des matières

Liste des figures.....	5
Liste des tableaux	7
Liste des abréviations	9
Introduction.....	11
Première partie : L'érythropoïèse et ses différents acteurs	13
1. Physiologie de l'érythropoïèse.....	13
A. Définition de l'érythropoïèse	13
B. Description de l'érythropoïèse	13
1) Structure de la moelle osseuse	14
a. Le tissu stromal	14
b. La vascularisation	15
c. L'innervation	15
d. Les cellules hématopoïétiques et le microenvironnement médullaire	16
2) Les cellules hématopoïétiques.....	17
a. Les Cellules Souches	17
i. Présentation.....	17
ii. Action du microenvironnement médullaire sur le déterminisme cellulaire.....	18
b. La lignée érythroïde	19
i. Les progéniteurs de la lignée érythroïde	20
ii. Les précurseurs	20
2. Le contrôle de l'érythropoïèse	22
A. Erythropoïétine et érythropoïèse	22
1) La molécule d'EPO.....	22
a. Structure.....	22
b. Production	22
2) Contrôle de la synthèse de l'érythropoïétine.....	23
3) Actions de l'érythropoïétine.....	24
a. Stimulation de l'érythropoïèse	24
b. Les actions non-érythropoïétiques de l'EPO	25
B. Le fer, un acteur essentiel de l'érythropoïèse.....	26
1) Le métabolisme du fer	26
a. Distribution et formes du fer dans l'organisme	26
b. Le cycle d'utilisation du fer dans l'organisme	27
i. L'absorption du fer.....	27
ii. Le Transport du fer.....	28
iii. Le stockage du fer.....	29
iv. Utilisation du fer durant l'érythropoïèse	29
c. Explorations biochimiques	30
2) Régulations au sein du métabolisme du fer.....	30
a. Régulation du fer par l'axe hepcidine-ferroportine.....	30
b. Régulation de l'érythropoïèse par le fer	32
Deuxième partie : Les érythropoïétines de synthèse, un traitement de certaines anémies...35	35
1. Les Anémies traitées aux érythropoïétines de synthèse	35
A. La maladie rénale chronique et l'anémie associée	36
1) Physiopathologie de la maladie rénale chronique.....	36
a. Origines de la maladie	36
b. Progression histologique de la maladie	37
c. Manifestations cliniques et métaboliques de la maladie	37
d. Progression clinique de la maladie : Les stades IRIS.....	38
e. Complications de la maladie rénale chronique.....	40
2) L'Anémie d'origine Rénale	40

a.	Caractéristiques.....	40
i.	Présentation de l'anémie	40
ii.	Prévalence	41
iii.	Signes cliniques	42
b.	Etiologie	42
i.	Diminution de la synthèse d'EPO.....	42
ii.	Les carences.....	44
iii.	« Toxines Urémiques ».....	45
iv.	Saignements digestifs	45
v.	Hyperparathyroïdie secondaire d'origine rénale	46
vi.	Inflammation et carence en fer	47
vii.	Durée de vie érythrocytaire.....	48
c.	Pronostic	48
i.	Pronostic de la maladie rénale chronique.....	48
ii.	Influence de l'anémie sur le pronostic de la maladie rénale chronique.....	49
B.	Les Anémies d'origine inflammatoire	50
1)	Présentation de l'anémie inflammatoire.....	50
a.	Contexte	50
b.	Incidence.....	50
c.	Description de l'anémie.....	50
i.	Caractéristiques hématologiques.....	50
ii.	Signes cliniques	51
2)	Physiopathologie de l'anémie inflammatoire.....	51
a.	Réduction de l'absorption du fer.....	51
b.	Suppression de l'activité érythropoïétique	52
c.	Diminution de la survie des hématies	53
3)	Pronostic.....	53
2.	Traitement aux érythropoïétines de synthèse	54
A.	Propriétés des érythropoïétines de synthèse	54
1)	Synthèse et structure des ESAs.....	54
a.	Principe	54
b.	Synthèse et structure	55
i.	Les époétines alpha et bêta.....	55
ii.	La darbépoétine	55
2)	Pharmacologie de la darbépoétine.....	56
a.	Pharmacocinétique	56
i.	Absorption.....	56
ii.	Distribution	56
iii.	Métabolisme et élimination	56
b.	Pharmacodynamique	57
c.	Effets secondaires	59
i.	Chez l'homme	59
ii.	Chez les carnivores domestiques	60
B.	Mise en place du traitement	62
1)	Recommandations.....	62
a.	Indications	62
i.	Maladies traitées	62
ii.	Mise en place du traitement.....	63
b.	Posologie	63
i.	Posologie des époétines alpha et bêta.....	63
ii.	Posologie de la darbépoétine	64
c.	Thérapies associées	65
i.	Supplémentation en fer	65
ii.	Autres thérapies	66
2)	Suivi thérapeutique pharmacologique	66
a.	Réussite du traitement	66
i.	Objectifs du traitement.....	66
ii.	Efficacité attendue.....	67

b.	Echec du traitement.....	67
i.	Définition d'un défaut de réponse aux ESA.....	67
ii.	Causes.....	68
Troisième partie : Étude rétrospective		73
1.	Introduction.....	73
1.	Matériels et méthodes.....	73
A.	<i>Sélection des cas</i>	73
1)	Méthode.....	73
2)	Critères d'inclusion.....	74
3)	Critères d'exclusion.....	74
B.	<i>Recueil des données</i>	74
1)	Données anamnestiques et cliniques.....	74
2)	Données biologiques.....	75
3)	Sévérité et étiologie de l'anémie.....	75
4)	Données sur le traitement.....	75
C.	<i>Traitement des données</i>	76
1)	Analyse des données.....	76
a.	Critère de réponse au traitement.....	76
b.	Temps médian de réponse.....	76
2)	Analyse statistique.....	76
2.	Résultats.....	77
A.	<i>Animaux</i>	77
1)	Recrutement.....	77
a.	Inclusion dans l'étude.....	77
b.	Signalement.....	78
2)	Étiologie de l'anémie.....	78
3)	Comorbidités.....	79
4)	Données biologiques.....	80
a.	Données biochimiques et hématologiques à l'initiation du traitement.....	80
b.	Stade IRIS à l'initiation du traitement.....	80
B.	<i>Traitement</i>	81
1)	Administration de la darbépoétine.....	81
a.	Doses.....	81
b.	Fréquence d'administration.....	81
2)	Administration de fer.....	81
a.	Fer.....	81
b.	Transfusion.....	82
C.	<i>Réponse au traitement</i>	82
1)	Réponse.....	82
a.	Critère : valeur seuil.....	82
b.	Critère : augmentation de 10 points par rapport à la base.....	82
c.	Critère mixte.....	83
2)	Temps de réponse.....	83
3)	Comparaison des groupes « répondant » et « non répondant ».....	83
D.	<i>Effets secondaires</i>	84
3.	Discussion.....	86
A.	<i>Réponse au traitement</i>	86
1)	Critère de réponse.....	86
2)	Temps médian de réponse.....	87
B.	<i>Cause d'échec du traitement</i>	87
1)	Influence des conditions de mise en place du traitement.....	88
a.	Posologie de la Darbépoétine.....	88
b.	Fer.....	88
2)	Influence de l'affection initiale.....	89
a.	État général et comorbidités.....	89
b.	Gravité et étiologie de l'anémie.....	90

<i>C. Effets secondaires</i>	91
Conclusion	93
Liste des références bibliographiques	95
Annexe : Tableau de données	107

Liste des figures

Figure 1 : Section Transversale de la moelle d'un os long (modifiée à partir de Sharkey et Hill, 2010)	14
Figure 2 : Organisation de la vascularisation de la moelle osseuse (modifiée à partir de Travlos, 2006).....	15
Figure 3 : Interaction entre une cellule souche et une cellule stromale dans le microenvironnement de la moelle osseuse (modifiée à partir de Harvey, 2012a).....	16
Figure 4 : Organisation de la moelle osseuse hématopoïétique (modifiée à partir de Sharkey et Hill, 2010).....	17
Figure 5 : Les différentes lignées cellulaires de l'hématopoïèse dans le modèle humain (Modifiée à partir de Travlos, 2006).....	18
Figure 6 : Interactions moléculaires d'une cellule souche hématopoïétique avec un ostéoblaste et l'os endostéale au sein de la niche des cellules souches (modifiée à partir de car, 2010).....	19
Figure 7 : La lignée érythroïde	20
Figure 8 : Etapes de la maturation des réticulocytes chez le chat (modifiée à partir de Harvey, 2012a)	21
Figure 9 : Le microenvironnement des cellules REP et leur réponse à l'hypoxie (modifie à partir de Suzuki et Yamamoto, 2016).....	23
Figure 10 : Régulation de l'activité de HIF-2alpha par l'oxygène (modifiée à partir de Cernaro <i>et al.</i> , 2019).....	24
Figure 11 : Absorption intestinale du fer (modifiée à partir de Papanikolaou et Pantopoulos, 2017)	28
Figure 12 : Entrée du fer dans les cellules (Modifiée à partir d'Olver <i>et al.</i> , 2010).....	29
Figure 13 : Le métabolisme du fer et sa régulation (modifiée à partir de Pantopoulos <i>et al.</i> , 2012).....	32
Figure 14 : Marquage immunohistochimique du tissu rénal lors d'un processus de fibrose provoqué par une obstruction urétérale chez une souris (modifiée à partir de Souma <i>et al.</i> , 2013).....	43
Figure 15 : Action de l'inflammation sur la disponibilité du fer <i>via</i> l'hepcidine (modifiée à partir de Fry, 2010).....	52
Figure 16 : Structure de l'époétine alpha et de la darbépoétine fixées aux récepteur EPOr (Modifiée à partir d'Elliott <i>et al.</i> , 2003)	55
Figure 17 : Effets deux de darbépoétines sur l'hématocrite et la fraction réticulocytaire après injection par voie intraveineuse (Modifiée à partir de Kim <i>et al.</i> , 2019).....	58

Figure 18 : Effets de deux darbépoétines sur l'hématocrite et la fraction réticulocytaire après injection sous-cutanée (Modifiée à partir de Kim <i>et al.</i> , 2019).....	58
Figure 19 : Evolution de l'hématocrite en réponse à des injections intraveineuses trihebdomadaires (à gauche) ou hebdomadaires (à droite) de darbépoétine ou d'époétine alpha chez le chien (modifiée à partir de Egrie <i>et al.</i> , 2003)	59
Figure 20 : Démarche recommandée en cas de défaut de réponse aux ESAs chez les carnivores domestiques (modifiée à partir de Chalhoub <i>et al.</i> , 2011)	70
Figure 21 : Diagramme des exclusions	77
Figure 22 : Diagramme de distribution des âges des chats inclus dans l'étude au moment de la première injection de darbépoétine	78
Figure 23 : Courbe de survie de Kaplan-meier basée sur la réponse au traitement à la darbépoétine avec les répondants définis comme les chats dont l'hématocrite a augmenté d'au moins 10 points durant la période de traitement.....	83

Liste des tableaux

Tableau 1 : Effets pléiotropiques de l'EPO (d'après Wang <i>et al.</i> , 2014 ; Suresh <i>et al.</i> , 2020).....	25
Tableau 2 : Distribution du fer dans l'organisme chez les mammifères (d'après Harvey, 2012b) ...	26
Tableau 3 : Classification des anémies en fonction de la valeur de l'hématocrite (d'après Bellier et Cordonnier, 2010)	35
Tableau 4 : Classification IRIS des stades de la MRC (d'après Elliott et Watson, 2014).....	38
Tableau 5 : Sous-stades selon la protéinurie de la classification IRIS (d'après Elliott et Watson, 2014)	39
Tableau 6 : Sous-stades selon les valeurs de pression artérielle systémique de la classification IRIS (d'après Elliott et Watson, 2014).....	39
Tableau 7 : Créatinine et hématocrite en fonction du stade IRIS des chats de l'étude de King <i>et al.</i> (modifié à partir de King <i>et al.</i> , 2007).....	41
Tableau 8 : Moyennes et intervalles des valeurs de la créatinine et de l'hématocrite en fonction du stade IRIS des chiens de l'étude de Rudinsky <i>et al.</i> (d'après Rudinsky <i>et al.</i> , 2018).....	42
Tableau 9 : Temps de survie en fonction du stade IRIS chez les chats atteints de MRC (modifié à partir de Boyd <i>et al.</i> , 2008).....	49
Tableau 10 : Temps de survie en fonction du stade IRIS chez les chiens atteints de MRC (d'après Rudinsky <i>et al.</i> , 2018)	49
Tableau 11 : Approche pratique de la gestion d'un défaut de réponse aux ESA (modifiée à partir de Nakhoul et Simon, 2016).....	69
Tableau 12 : Facteurs expliquant la composante inflammatoire de l'anémie des 23 chats concernés	79
Tableau 13 : Valeurs initiales des paramètres hématologiques et biochimiques des chats de inclus dans l'étude	80
Tableau 14 : Stade IRIS initial des chats atteints de MRC de l'étude	81
Tableau 15 : Comparaison des groupes répondants et non répondants pour différentes variables par des tests de students	84
Tableau 16 : Comparaison des groupes répondants et non répondants pour différentes variables par des tests de Chi2.....	84
Tableau 17 : Récapitulatifs des cas d'effets secondaires de l'étude	85

Liste des abréviations

ARN= Acide Ribonucléique

ATP= Adénosine Triphosphate

BFU-E = Burst Forming Units – Erythroïd

CFU-E= Colony Forming Units – Erythroïd

CFU-GEMM= Colony Forming Unit – Granulocyte Erythrocyte Monocyte Macrophage

CFU-L= Colony Forming Unit – Lymphocyte

CHO= Chinese Hamster Ovary= Ovaire d'Hamster chinois

ChuvA= Centre Hospitalier Vétérinaire d'Alfort

Dcytb= Duodenal Cytochrome b= Cytochrome duodéal b

DMT= Di Metal Transporter= transporteur de métaux divalents

DPVE= Dérivation pyélovésicale extra-urétérale

EBPG= European Best Practice Guideline

EPO= Erythropoïétine

EPOr= Erythropoietin receptor= Récepteur de l'érythropoïétine

ERFE= Erythroferrone

ESA= Erythropoiesis Stimulating Agent= Agent stimulant l'érythropoïèse

Fe²⁺ = Fer ferreux (divalent)

Fe³⁺ = Fer ferrique (Trivalent)

FIV= Feline Immunodeficiency Virus= Virus d'immunodéficience féline

GM-SCF= Granulocyte Macrophage – Colony Stimulating Factor

HIF= Hypoxia Inducible Factor= Facteur inductible par hypoxie

HIF-PHP= Hypoxia Inducible Factor – propyl-4-hydroxylase

HSC= Hematopoietic Stem Cell= Cellule souche hématopoïétique

IECA= Inhibiteur de l'Enzyme de Conversion de l'Angiotensine

IFN= Interféron

IGF= Insuline-like Growth Factor

IL= Interleukine

IRA= Insuffisance Rénale Aigue

IRIS= Interational Renal Interest Society

IRP= Iron Regulatory Protein= Protéine de régulation du fer
ITU= Infection du Tractus Urinaire
JAK= Janus Kinase
KDIGO= Kidney Disease: Improving Global Outcomes
LPS= Lipopolysaccharide
MICI= Maladie Inflammatoire Chronique de l'Intestin
MRC= Maladie Rénale Chronique
NO= Nitric Oxyde= Oxyde Nitrique
PRCA= Pure Red Cell Aplasia
PTH= Parathyroïd Hormone= Parathormone
REP cells= Renal Erythropoietin Producing cells = Cellules Rénales Produisant de l'érythropoïétine
RET-He= Concentration en hémoglobine des réticulocytes
SAA= Amyloïde A Sérique
SCF= Stem Cell Factor= Facteur de croissance des cellules souches
TEA= Thrombo-embolie Aortique
TIBC= Total Iron Binding Capacity= capacité de fixation totale du fer
TCMH= Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine
TfR= Transferrine Receptor= Récepteur de la transferrine
TNF= Tumor Necrosis Factor= Facteur de nécrose tumorale
VCAM-1= Vascular Cell Adhesion 1
VGM= Volume Globulaire Moyen
VIH= Virus d'Immunodéficience Humaine

Introduction

Le développement d'agents stimulants l'érythropoïèse (ESA) a modifié considérablement la prise en charge des patients atteints d'anémie. En 1977, le séquençage du gène humain de l'érythropoïétine et le développement de recombinants humains de cette molécule ont permis d'accroître considérablement l'efficacité et la sécurité de la prise en charge des anémies. Jusqu'alors le traitement de référence reposait en effet sur le recours aux transfusions sanguines ou à l'administration de testostérone chez ces patients (Richardson, 1970 ; Eschbach, 1989 ; Begum et Latunde-Dada, 2019).

Les érythropoïétines de synthèse ont d'abord été utilisées chez les patients humains atteints d'anémie d'origine rénale à partir de leur approbation clinique en 1989. Leur indication s'est ensuite élargie à d'autres anémies et leur utilisation a été approuvée pour traiter des anémies liées à des maladies inflammatoires, des cancers, des insuffisances cardiaques, *etc.* (Begum et Latunde-Dada, 2019).

Les premières ESA étaient les époétines alpha et bêta, aux propriétés pharmacodynamiques et pharmacocinétiques très semblables à celles de l'érythropoïétine endogène (Testa, 2010). Néanmoins, leur faible biodisponibilité orale et leur demi-vie plasmatique relativement courte nécessitent que ces molécules soient administrées plusieurs fois par semaine et uniquement par voie parentérale (intraveineuse ou sous-cutanée). Afin de faciliter le traitement par les ESA en réduisant la fréquence d'administration, la darbépoétine a été développée. Il s'agit d'une ESA à longue durée d'action permettant une unique administration hebdomadaire voire mensuelle chez l'Homme (Egrie *et al.*, 2003).

Les ESA possèdent une forte homologie structurale avec l'érythropoïétine canine et féline ce qui permet aussi leur utilisation en médecine vétérinaire. Chez les carnivores domestiques, elles sont aujourd'hui utilisées pour traiter presque exclusivement les anémies liées à une maladie rénale chronique. Très peu d'autres utilisations sont décrites dans la littérature. Des recombinants canins et félins de l'érythropoïétine ont été synthétisés et leur utilisation a été expérimentée respectivement chez des chiens et des chats mais il n'existe à ce jour aucune spécialité en médecine vétérinaire (Randolph *et al.*, 1999 ; Randolph *et al.*, 2004). De ce fait, ce sont les recombinants humains de l'érythropoïétine qui sont utilisés, principalement l'époétine alpha et la darbépoétine. La première investigation clinique sur l'utilisation des ESA sur le chien et le chat a eu lieu en 1988, elle portait sur l'action de l'époétine alpha chez des animaux atteints de maladie rénale chronique (MRC) (Cowgill *et al.*, 1990 ; Cowgill, 1992).

A ce jour, l'utilisation de la darbépoétine chez les carnivores domestiques n'a été étudiée que dans le cadre de la maladie rénale chronique. Les données en médecine vétérinaire sont peu nombreuses puisqu'il n'existe, à notre connaissance qu'une seule étude chez le chat et une seule étude chez le chien (Chalhoub *et al.*, 2012 ; Fiocchi *et al.*, 2017).

L'objectif principal de cette étude est de comparer différents critères de réponse au traitement pour déterminer lequel est le plus apte à évaluer cette réponse chez le chat. Les objectifs secondaires de l'étude sont d'identifier des paramètres permettant de prédire la réponse ou la non réponse au

traitement, de discuter les causes d'échecs au traitement et de documenter la prévalence des effets secondaires au traitement.

Première partie : L'érythropoïèse et ses différents acteurs

Dans cette première partie nous décrivons les principales caractéristiques physiopathologiques de l'érythropoïèse ainsi que son contrôle.

1. Physiologie de l'érythropoïèse

A. Définition de l'érythropoïèse

L'érythropoïèse est la prolifération et la différenciation progressive des cellules souches hématopoïétiques en globules rouges aussi appelés érythrocytes ou hématies, remplis d'hémoglobine. En situation physiologique, l'organisme produit une quantité de globules rouges qui permet de remplacer les pertes naturelles par senescence et ainsi de maintenir la masse globale d'hématies constante : c'est l'érythropoïèse basale. En situation pathologique, l'organisme adapte la production d'hématies par différents mécanismes en réponse à des *stimuli* dits anémiques tels que des pertes sanguines, de l'hémolyse ou encore une gestation : c'est l'érythropoïèse de stress. (Olver, 2010).

Chez l'homme, la durée de vie moyenne d'un érythrocyte est de 115 jours. Dans un état physiologique normal, l'érythropoïèse dite basale assurant la stabilité du nombre d'hématies dans le sang, permet donc la production du $1/115^{\text{ème}}$ de la quantité totale d'hématies contenues dans le sang d'un individu. Il a été calculé que cela représente pour un homme sain de 70 kilos, une production de 220 milliards d'hématies par jour soit 2,5 millions d'hématies par seconde (Palis, 2014). La durée de vie d'une hématie chez le chien en conditions physiologiques varie de 110 à 120 jours. Chez le chat, elle est plus courte, de 85 à 90 jours. Environ 0,9% de l'ensemble des globules rouges chez le chien et 1,3% chez le chat sont renouvelés chaque jour. Les hématies sont ainsi dégradées par le système des phagocytes mononucléés (dans la rate, le foie et la moelle) et produite par érythropoïèse. L'intensité de ce renouvellement peut varier dans certaines situations pathologiques (Weiser, 2005 ; Rebar *et al.*, 2005).

Le siège de l'érythropoïèse se situe dans la moelle osseuse rouge des os longs et axiaux (Sharkey et Hill, 2010). Les études réalisées sur des souris ont mis en évidence l'apparition des premiers phénomènes d'érythropoïèse dans le sac vitellin à partir du 7^{ème} jour du développement embryonnaire (Palis, 2014). C'est une érythropoïèse dite primitive car elle aboutit à la production d'hématies nucléées de taille supérieure aux hématies retrouvées chez les sujets plus âgés. Durant la vie foetale, l'érythropoïèse est réalisée principalement dans le foie puis migre dans la moelle osseuse avant la naissance, au cours du second tiers de gestation (Boyd et Bolon, 2010).

B. Description de l'érythropoïèse

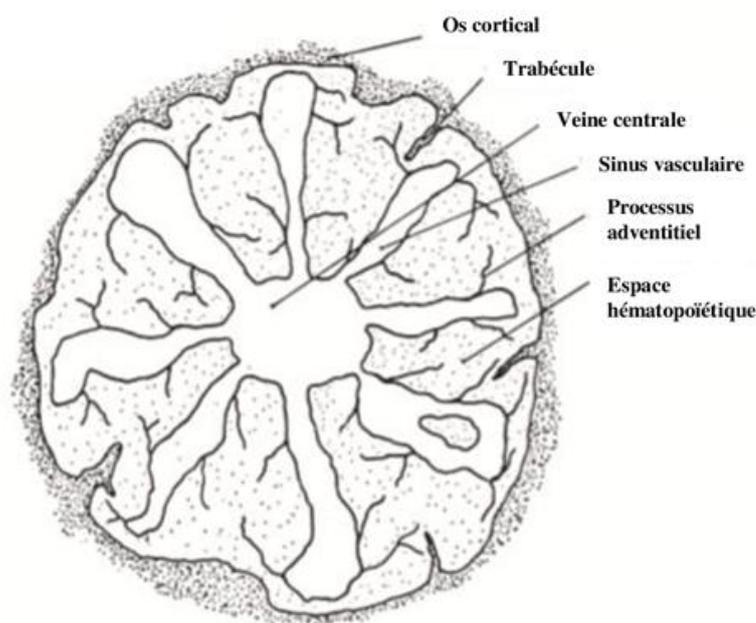
La moelle osseuse est l'organe hématopoïétique majeur. C'est un organe diffus qui représente 3% de la masse corporelle du rat, 2% de celle du chien et 5% de celle de l'homme. Elle assure la quasi-totalité de la production des lignées de toutes les cellules sanguines des individus sains. Elle est

ainsi responsable de la production des hématies, des plaquettes, des monocytes, des lymphocytes et des granulocytes (Travlos, 2006).

1) **Structure de la moelle osseuse**

La moelle osseuse hématopoïétique est située au sein des os longs. L'os forme des travées qui saillent vers la cavité médullaire et servent de support à la moelle. L'os est recouvert d'un *endosteum* constitué d'une à deux couches de cellules pavimenteuses entre lesquelles logent des ostéoblastes et des ostéoclastes remodelant en permanence l'os autour de la moelle en fonction de différents signaux (Le *et al.*, 2018) (figure 1). Différents tissus forment la moelle osseuse au sein de cet os.

Figure 1 : Section Transversale de la moelle d'un os long (modifiée à partir de Sharkey et Hill, 2010)



a. Le tissu stromal

Le stroma est le tissu de soutien conjonctif médullaire. Il est composé de cellules réticulées adventitielles structurellement proches des fibroblastes, d'une matrice extracellulaire et de tissu adipeux (Sharkey et Hill, 2010).

Au sein de la moelle, les cellules réticulées adventitielles forment un véritable maillage de cellules connectées, procurant des cytokines et les protéines de la matrice extracellulaire nécessaires à la prolifération et à la maturation des cellules hématopoïétiques. Ces cellules synthétisent des molécules de collagène et les molécules de la matrice extracellulaire (laminine, fibronectine, protéoglycane) (Sebahoun, 2006).

La matrice extracellulaire est constituée par un réseau complexe de collagène contenant de nombreuses macromolécules comme la vascular cell adhesion 1 (VCAM-1), de l'hémonectine, de la fibronectine, de la laminine, de la vitronectine et de la thrombospondine. Ce réseau renferme dans ses mailles les cellules hématopoïétiques et permet leur adhérence au tissu de soutien (stroma).

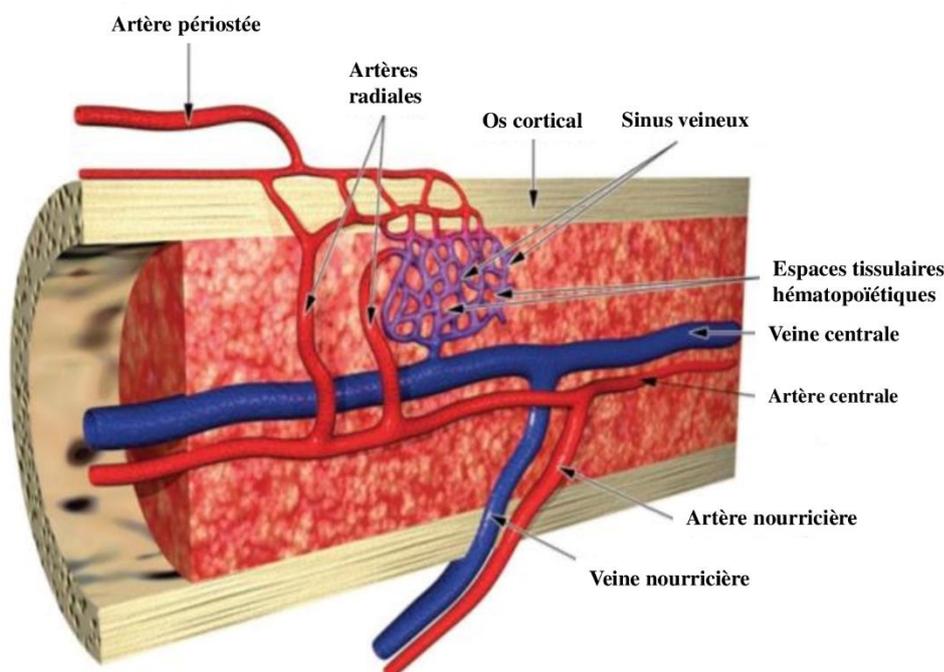
Les macromolécules de la matrice se lient aux facteurs de croissance facilitant ainsi leur action *in situ* (Sebahoun, 2006).

Les adipocytes représentent 25 à 75% du volume de la moelle et sont un support structural à l'hématopoïèse. La proportion d'adipocytes dans la moelle augmente avec l'âge de l'animal (Sharkey et Hill, 2010).

b. La vascularisation

La vascularisation de la moelle osseuse est organisée autour d'une artère centrale d'où partent des artères radiales rejoignant l'os et communiquant avec la circulation corticale. Les artères radiales se divisent pour former un réseau capillaire de type sinusoïde. L'endothélium présente ainsi des espaces permettant aux cellules sanguines néoformées de rejoindre la circulation générale. Comme l'illustre la figure 2, les artères centrales sont approvisionnées en sang par des artères nourricières qui traversent le cortex osseux (Travlos, 2006) .

Figure 2 : Organisation de la vascularisation de la moelle osseuse (modifiée à partir de Travlos, 2006)



c. L'innervation

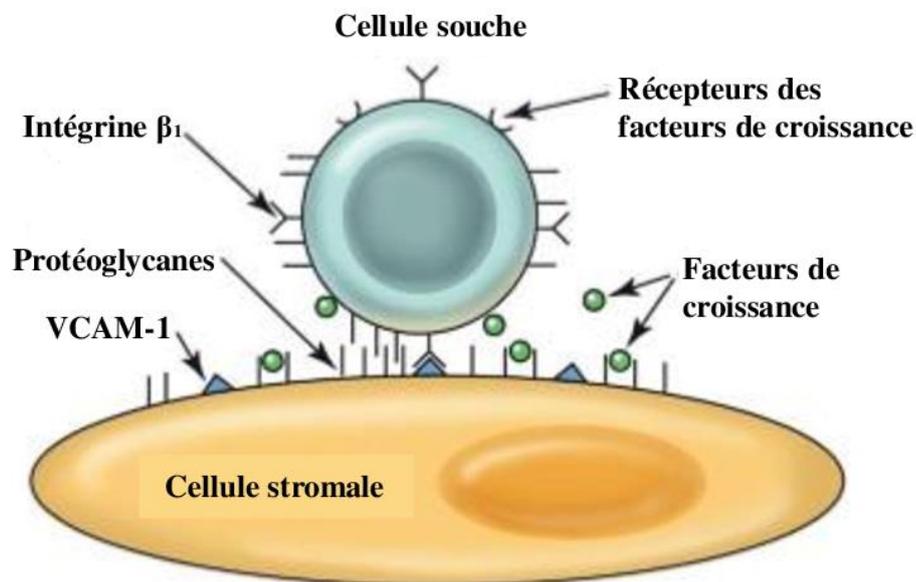
Des nerfs appartenant au système nerveux autonome sont présents au sein de la moelle osseuse. Leurs fonctions n'ont pas été clairement identifiées mais des effets directs et indirects du système nerveux sympathique sur la prolifération et la mobilité des cellules hématopoïétiques ont été décrits (Harvey, 2012a).

d. Les cellules hématopoïétiques et le microenvironnement médullaire

Les différentes lignées sanguines sont intriquées dans un réseau tridimensionnel complexe et organisé. Chaque lignée occupe une localisation précise : les granulocytes, lymphocytes et monocytes sont localisées près de l'*endosteum* tandis que les érythrocytes et les mégakaryocytes sont situés près des sinus veineux. Les différentes lignées proviennent toutes des mêmes cellules souches pluripotentes et progressent de manière pyramidale de la cellule la moins mature aux cellules les plus matures (Naito *et al.*, 1992).

La moelle osseuse constitue un micro-environnement dans lequel toutes les cellules communiquent. Ainsi, les cellules et les macromolécules stromales, les cellules endothéliales, les ostéoblastes et ostéoclastes influencent le déroulement de l'hématopoïèse par l'émission de facteurs de croissance pouvant être des facteurs paracrines, autocrines ou des cytokines, ou par leurs protéines membranaires. De même, les cellules sanguines influencent le remodelage osseux par une communication avec les ostéoblastes et les ostéoclastes (figure 3) (Sharkey et Hill, 2010).

Figure 3 : Interaction entre une cellule souche et une cellule stromale dans le microenvironnement de la moelle osseuse (modifiée à partir de Harvey, 2012a)



Au sein de la moelle osseuse, la lignée des globules rouges se constitue en îlots érythroblastiques dispersés dans la totalité de la moelle. Ces îlots sont constitués de 10 à 30 cellules précurseurs des globules rouges réunies autour d'un macrophage (Figure 4). Des études ont montré que plus ces îlots sont proches des sinus veineux, plus les cellules de la lignée rouge qui les composent sont proches de la maturité. Les interactions entre macrophages et érythroblastes joueraient un rôle déterminant dans la différenciation et la maturation de la lignée rouge. Le macrophage aurait aussi pour fonction d'approvisionner les précurseurs érythroïdes en fer et phagocyterait le noyau des érythroblastes durant leur transformation en réticulocytes (Chasis et Mohandas, 2008).

Figure 4 : Organisation de la moelle osseuse hématopoïétique (modifiée à partir de Sharkey et Hill, 2010)



2) **Le cellules hématopoïétiques**

a. Les Cellules Souches

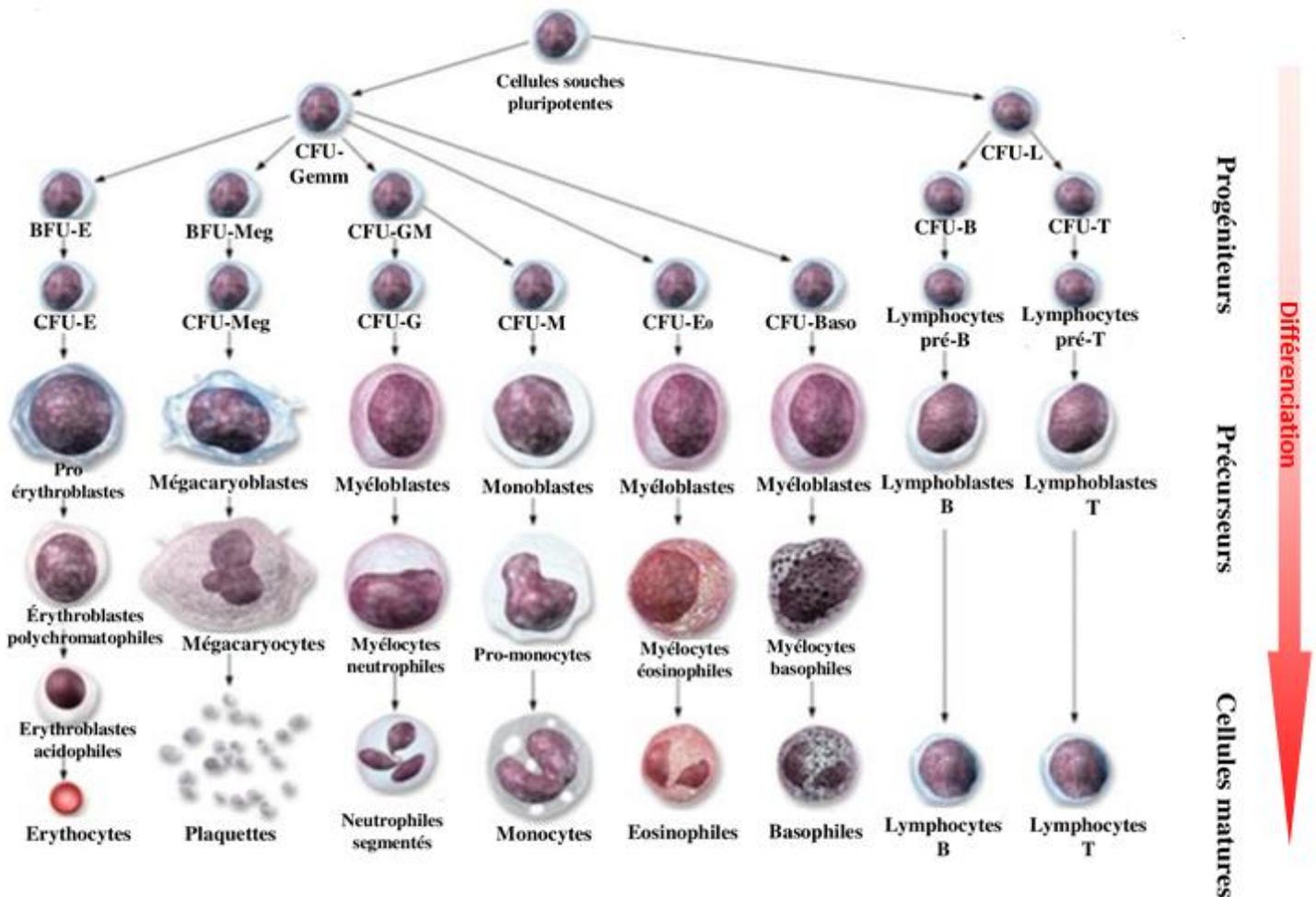
i. *Présentation*

Toutes les lignées sanguines proviennent d'une même cohorte de cellules souches hématopoïétiques pluripotentes (ce qui signifie que ces cellules ont la capacité de se différencier en toute cellule de l'organisme) appelées hematopoietic stem cells (HSC). Les HSC ont une capacité d'auto-régénération illimitée. Régulièrement, certaines d'entre elles acquièrent une capacité de division importante. Les cellules issues de ces divisions se différencient progressivement et perdent leur pouvoir pluripotent pour devenir oligopotentes (les cellules souches hématopoïétiques oligopotentes ne peuvent se différencier qu'en un nombre restreint de lignées cellulaires) (Car, 2010).

Il a été démontré que selon l'espèce, les cellules souches oligopotentes rassemblent des lignées cellulaires différentes. Ainsi chez la souris, les lignées des granulocytes, monocytes et des cellules lymphoïdes proviennent de la même cellule souche oligopotente tandis que les cellules des lignées érythroïdes et plaquettaires proviennent d'une cellule souche oligopotente différente. Dans le modèle humain, les lignées granuloïdes, érythroïdes, plaquettaires et les monocytes proviennent de la même cellule appelée colony forming unit – granulocyte erythrocyte monocyte-macrophage (CFU-Gemm) alors que la lignée lymphoïde provient d'une cellule souche hématopoïétique oligipotente appelée colony forming unit- lymphocyte (CFU-L) (Iwasaki et Akashi, 2007). Dans la littérature vétérinaire, il semble que le développement des lignées sanguines du chien et du chat soit identique au modèle humain (figure 5).

L'étape de différenciation suivante marque l'engagement des cellules dans leur lignée définitive. Dans le modèle traditionnel, toute cellule engagée dans une lignée ne peut engendrer qu'un seul type cellulaire, cependant des études révèlent qu'il existe une plasticité entre les lignées dans certaines situations (Metcalf, 2007).

Figure 5 : Les différentes lignées cellulaires de l'hématopoïèse dans le modèle humain (Modifiée à partir de Travlos, 2006)

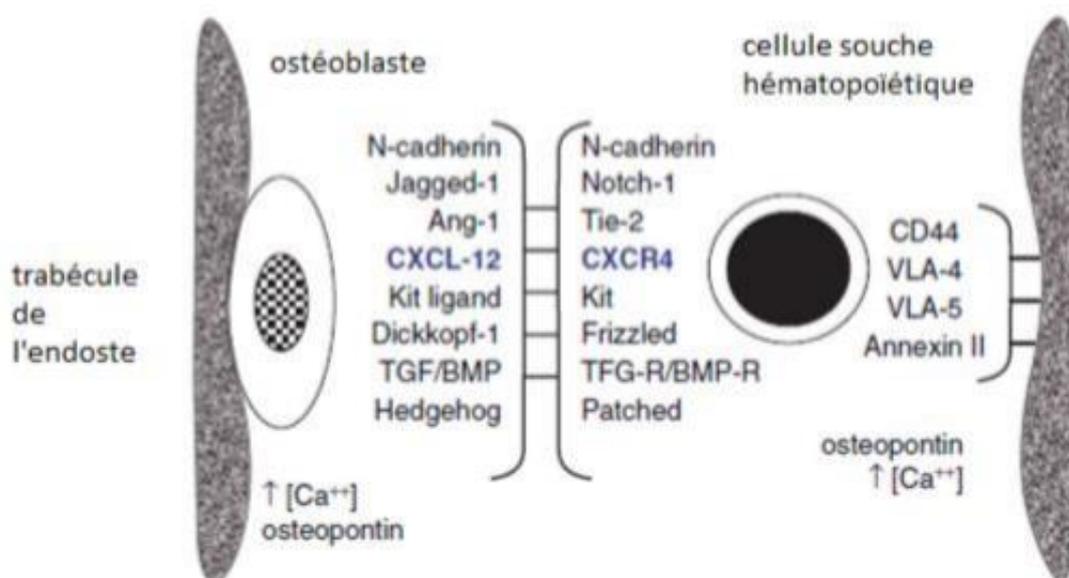


ii. Action du microenvironnement médullaire sur le déterminisme cellulaire

Le microenvironnement est déterminant dans la différenciation progressive des cellules souches puis dans la maturation des différentes lignées cellulaires. En effet, les différentes cellules des lignées sanguines sont intimement associées avec les adipocytes, l'os, les macrophages (lignée rouge), les cellules endothéliales, les nerfs, les ostéoblastes, les ostéoclastes, les sinus veineux, la matrice extracellulaire et les cytokines présentes dans le milieu. Les relations cellule-cellule ou

cellule-matrice extracellulaire qu'entretiennent les lignées sanguines avec ces derniers sont déterminantes dans la prolifération et la différenciation des cellules hématopoïétiques (Chasis et Mohandas, 2008). Ces relations impliquent des facteurs de croissance (paracrines et autocrines), des récepteurs membranaires, des cytokines, des intégrines, des marqueurs du collagène (figure 6).

Figure 6 : Interactions moléculaires d'une cellule souche hématopoïétique avec un ostéoblaste et l'os endostéale au sein de la niche des cellules souches (modifiée à partir de car, 2010)



En fonction de la combinaison des éléments précédemment cités avec lesquels elle est en contact, chaque cellule souche exprime une combinaison de facteurs de transcription différente et donc exprime des gènes différents. Ceci détermine la lignée dans laquelle elle se différencie. Cette combinaison dépend de la localisation de la cellule dans la moelle. Chaque lignée occupant une localisation précise dans la moelle, les interactions cellule-cellule et les signaux reçus par chaque lignée sont spécifiques (Car, 2010).

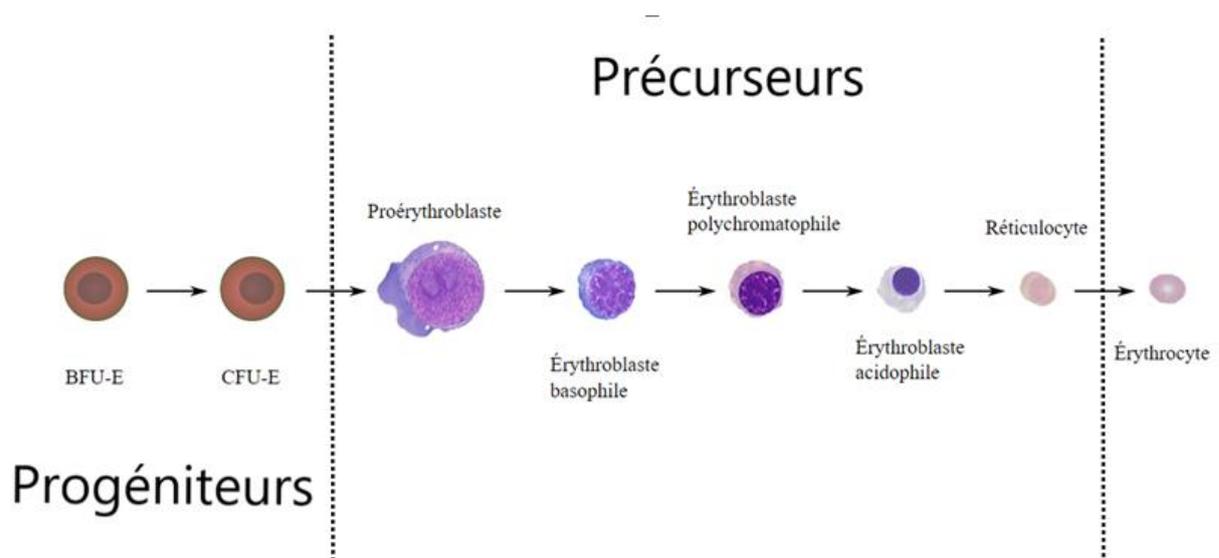
b. La lignée érythroïde

Chaque lignée engagée dans une voie de différenciation est composée de progéniteurs qui poursuivent leur différenciation en précurseurs, derniers stades avant la cellule mature. La lignée rouge ne fait pas exception. Les HSC, les cellules souches oligopotentes et les progéniteurs sont des cellules toutes semblables à de petits lymphocytes et ne sont différenciables que par leurs protéines membranaires. On peut les différencier par cytométrie de flux. Les précurseurs sont quant à eux indifférenciables par une évaluation cytologique.

i. Les progéniteurs de la lignée érythroïde

Les premières cellules progénitrices des globules rouges sont les burst forming units - erythroid (BFU-E). Ces progéniteurs précoces ont un fort pouvoir de multiplication. Ces multiplications aboutissent à une multitude de cellules mobiles qui se dispersent dans toute la moelle et forment de nombreuses colonies. Un grand nombre des BFU-E se différencient en colony forming unit – erythroid (CFU-E). Les cellules CFU-E sont des progéniteurs plus matures que les BFU-E et ont un pouvoir de multiplication moins important. La croissance et/ou la différenciation des cellules progénitrices dépend de nombreux facteurs tel que le facteur des cellules souches (SCF), la thrombopoïétine, les interleukines IL-3 et IL-11, le granulocyte macrophage – colony stimulating Factor (GM-CSF), l'insuline-like growth factor - 1 (IGF-1), les glucocorticoïdes et l'érythropoïétine (Hisakawa *et al.*, 2001 ; Olver, 2010 ; Dzierzak et Philipsen, 2013).

Figure 7 : La lignée érythroïde



ii. Les précurseurs

Le proérythroblaste est le premier précurseur érythroïde morphologiquement identifiable par microscopie optique. Les proérythroblastes sont de grandes cellules mononucléées avec un cytoplasme basophile en coloration Giemsa dû à une forte concentration d'acide ribonucléique. Les proérythroblastes humains possèdent de gros noyaux qui occupent 75 à 80 % du volume cellulaire avec un rapport nucléaire/cytoplasme de 8:1 et possédants plusieurs nucléoles (figure 7).

Les proérythroblastes immatures se développent en érythroblastes basophiles plus petits. La chromatine des érythroblastes basophiles s'agrège en hétérochromatine. Leur cytoplasme présente une forte basophilie en coloration Giemsa due à un nombre accru de ribosomes synthétisant l'hémoglobine. Comme les proérythroblastes, les érythroblastes basophiles présentent un rapport noyau/cytoplasme élevé (figure 7).

Les érythroblastes basophiles deviennent des érythroblastes polychromatophiles. Ces derniers sont plus petits que les érythroblastes basophiles et leur noyau est plus condensé. Le cytoplasme de

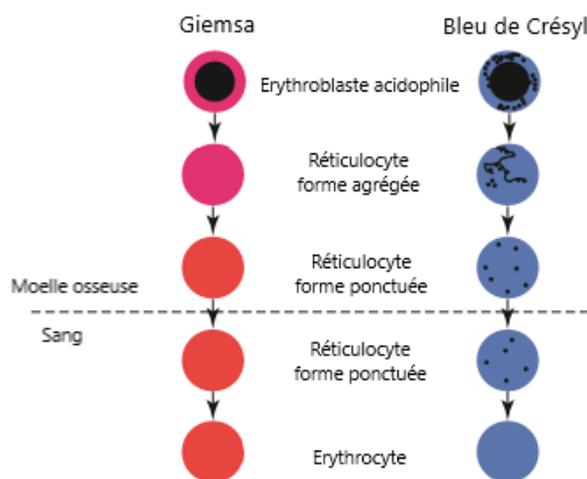
l'érythroblaste polychromatophile développe une teinte rosée lorsqu'il est traité avec la coloration de Giemsa en raison du niveau croissant d'hémoglobine dans le cytoplasme (figure 7).

L'érythroblaste polychromatophile se transforme en érythroblaste acidophile. Celui-ci est le plus petit et le dernier précurseur érythroïde à posséder un noyau. Il est incapable de se diviser. Les érythroblastes acidophiles ont des noyaux pycnotiques contenant de grands agrégats d'hétérochromatine. Leur cytoplasme a un aspect éosinophile en coloration Giemsa en raison de la forte concentration d'hémoglobine présente (figure 7).

L'expulsion nucléaire de l'érythroblaste acidophile donne naissance à un réticulocyte. Les réticulocytes présentent des agrégats réticulaires de matière bleue colorés par le bleu de crésyle, d'où le nom de réticulocyte. Ces agrégats correspondent à un artéfact dû à la précipitation d'ARN ribosomial et de protéines secondaire à la coloration. Le cytoplasme des réticulocytes anucléaires se colore principalement en rose avec la coloration de Giemsa en raison de la forte concentration en hémoglobine (Paul *et al.*, 1973 ; Liu *et al.*, 2010 ; Yeo *et al.*, 2019) (Figure 4).

Les réticulocytes subissent ensuite une maturation progressive jusqu'au stade érythrocyte mature. Cette maturation est plus ou moins longue en fonction de l'espèce. Chez le chien et le chat, elle débute dans la moelle et se termine dans la circulation périphérique ou dans la rate. Au fur et à mesure de leur maturation, les mitochondries et les ribosomes des réticulocytes sont dégradés. La perte progressive des ribosomes et de leur ARN diminue la quantité d'agrégats réticulaires visibles dans le cytoplasme en coloration bleu de crésyl au fur et à mesure de leur maturation. Cette propriété permet de déterminer différents stades de maturation des réticulocytes à l'observation microscopique (figure 8). La membrane plasmique des réticulocytes est remodelée par perte de matériel notamment de certaines protéines transmembranaires (récepteur à la transferrine 1 et récepteur à la fibronectine entre autres) et de phospholipides jusqu'à prendre une forme biconcave. Ces modifications de la membrane plasmique rend les réticulocytes plus déformables ce qui facilite leur passage à travers la paroi sinusoïde des capillaires de la moelle pour rejoindre la circulation sanguine. De plus, la perte de certaines protéines membranaires comme les récepteurs à la fibronectine diminue leur adhérence à la matrice extracellulaire stromale facilitant également leur libération dans la circulation (Harvey, 2012a).

Figure 8 : Etapes de la maturation des réticulocytes chez le chat (modifiée à partir de Harvey, 2012a)



Chez le chien, des réticulocytes de forme agrégée sont libérés de la moelle osseuse vers la circulation sanguine. L'observation d'un frottis sanguin de chien en coloration standard révèle donc généralement une polychromatophilie réticulocytaire. Chez le chat, les réticulocytes ne sont généralement pas libérés dans la circulation sanguine avant leur maturation jusqu'à la forme ponctuée en situation physiologique (figure 8). Ainsi, moins de 0,04% des réticulocytes retrouvés dans le sang d'un chat non anémique sont de forme agrégée et jusqu'à 10% sont de forme ponctuée (Harvey, 2012a).

2. Le contrôle de l'érythropoïèse

L'érythropoïèse est un phénomène de synthèse finement régulé. Elle est sous le contrôle de nombreuses cytokines et dépend de la disponibilité de nombreux substrats. La cytokine majeure dans le contrôle de l'érythropoïèse est l'érythropoïétine (EPO).

A. Erythropoïétine et érythropoïèse

1) *La molécule d'EPO*

a. Structure

L'érythropoïétine (EPO) est une glycoprotéine d'environ 30,4 kDa, composée de 165 acides aminés organisés en 4 hélices alpha principales (alpha-A, alpha-B, alpha-C, alpha-D) comprenant chacune entre 18 et 28 acides aminés, deux courtes hélices alpha (alpha-B', alpha-C') de 5 et 7 acides aminés et deux courts feuilletts bêta antiparallèles. La chaîne peptidique est richement glycosylée, les sucres représentant 40 % du poids moléculaire. Deux types de glycosylation interviennent dans le cadre de l'érythropoïétine. L'O-glycosylation correspond à l'adjonction d'une chaîne glucidique sur le radical d'un acide aminé et la N-glycosylation correspond à l'adjonction d'une chaîne glucidique sur le groupement amine d'un acide aminé. L'érythropoïétine humaine possède au total 4 sites de glycosylation : un site d'O-glycosylation et 3 sites de N-glycosylation. Cette glycosylation est principalement représentée par l'acide sialique, la lactosamine ou la N-acétylglycosamine (Uversky et Redwan, 2016). Il y a environ 14 résidus sialiques par molécule d'EPO (Testa, 2010)

La structure de l'EPO est très conservée entre les espèces de mammifères, notamment entre l'Homme, le chien et le chat. On estime que l'érythropoïétine canine et féline possèdent respectivement 81,3% et 83,3% d'homologies structurales avec l'EPO humaine (MacLeod *et al.*, 1998 ; MacLeod, 2001).

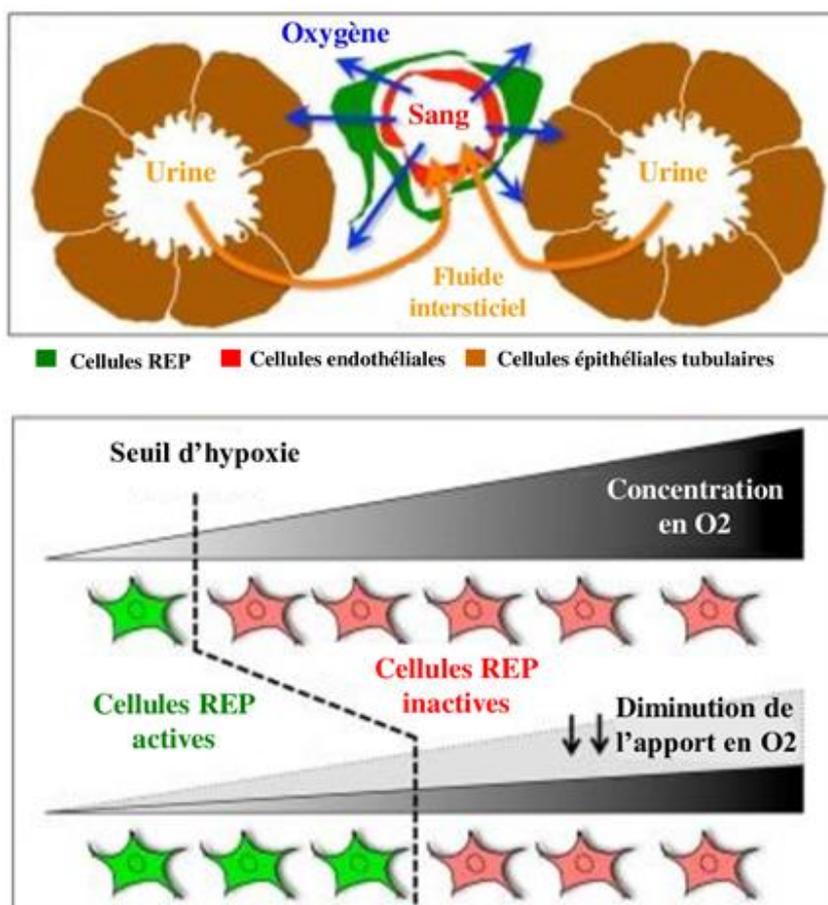
b. Production

En situation physiologique, 90% de l'EPO est produite par le rein et les 10% restants sont produits par d'autres organes comme le foie, le cerveau, les testicules et plus anecdotiquement par les poumons et la rate (Polzin, 2011). En cas d'anémie régénérative, l'activité érythropoïétique splénique croît fortement (Paulson *et al.*, 2020).

Les cellules rénales produisant l'EPO sont appelées renal erythroietin-producing cells (cellules REP). Ce sont des fibroblastes interstitiels localisés dans des espaces limités par les tubules rénaux et les capillaires associés en région corticale moyenne et dans la médulla supérieure (Maxwell *et al.*, 1993 ; Yamaguchi-Yamada *et al.*, 2005). Ces espaces sont remplis d'un fluide interstitiel pauvre en oxygène et provenant de l'urine du tubule rénal. Les cellules REP sont donc dans un milieu

pauvre en oxygène et toute diminution du transport d'oxygène dans le sang (lors d'anémie par exemple) se traduira par une forte baisse de la pression partielle en oxygène au niveau de ces cellules. Les cellule REP jouent ainsi un rôle de senseur de l'oxygène circulant et réagissent à la moindre baisse de celui-ci en produisant de l'EPO. La diminution d'oxygène est également un stimulus recrutant les cellules REP qui produisent l'EPO (Suzuki et Yamamoto, 2016) (figure 9).

Figure 9 : Le microenvironnement des cellules REP et leur réponse à l'hypoxie (modifié à partir de Suzuki et Yamamoto, 2016)

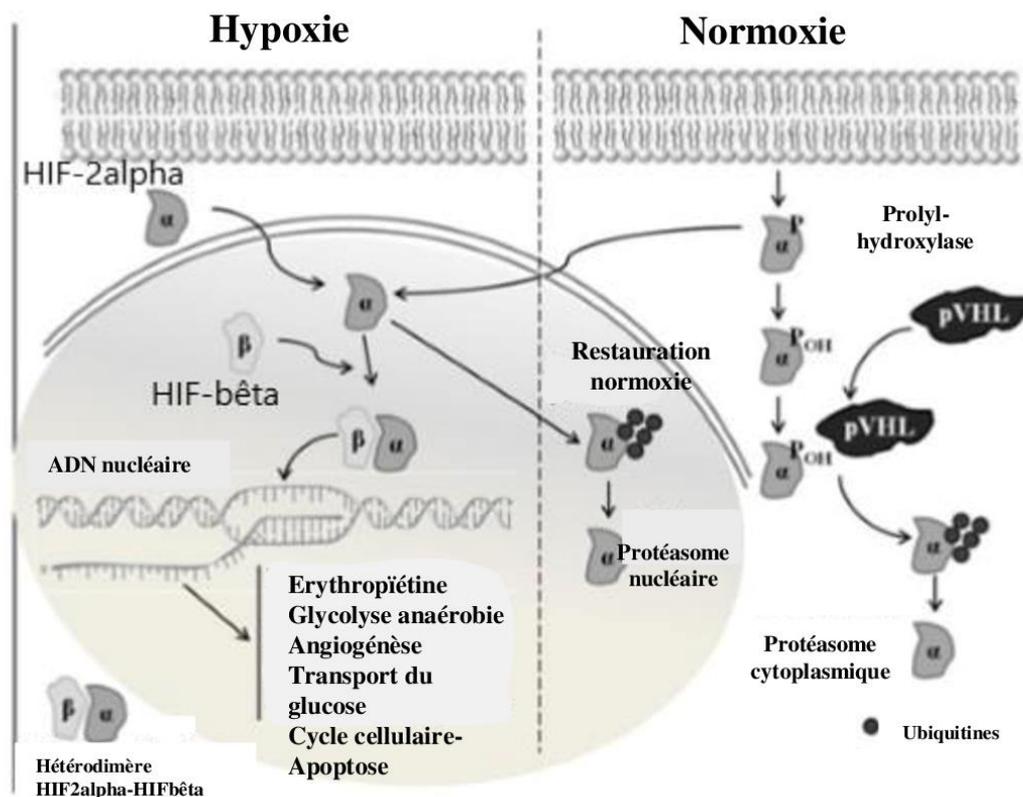


2) **Contrôle de la synthèse de l'érythropoïétine**

La production d'EPO par les cellules REP est régulée par la disponibilité en oxygène dans leur microenvironnement par l'intermédiaire de facteurs de transcription appelés hypoxia-inducible factors (HIF). Les HIF sont multiples et exprimés dans de nombreuses cellules de l'organisme. En situation d'hypoxie cellulaire, ces facteurs activent la synthèse de gènes qui permettent une réponse à cette hypoxie comme une activation de l'angiogenèse locale et du catabolisme anaérobie, une stimulation du transport de glucose dans la cellule ou encore un blocage de l'apoptose. Ces réponses cellulaires permettent de prévenir l'apoptose et d'améliorer l'approvisionnement en oxygène des cellules en état d'hypoxie. Dans le cas des cellules REP, les HIF stimulent la synthèse d'EPO en réponse à une hypoxie locale (Buemi *et al.*, 2009a).

Dans le cas de la production de l'EPO, c'est le facteur HIF-2 alpha qui est impliqué (Gruber *et al.*, 2007). En situation de normoxie, le facteur HIF-2 alpha est rapidement hydroxylé par une enzyme oxygène-dépendante, la HIF-prolyl-4-hydroxylases (HIF-PHD). La HIF-PHD est également activée par le fer et des espèces oxygénoréactives. Cette hydroxylation entraîne la dégradation du HIF-2 alpha par le système ubiquitine-protéasome de la cellule. En condition d'hypoxie, la baisse de la pression partielle en oxygène réduit l'activité de la HIF-PHD. Lorsque HIF-2alpha n'est pas dégradé, il peut alors transloquer vers le noyau où il se lie à un HIF-bêta pour former un hétérodimère. Ce dernier associé à des coactivateurs se lie à des séquences promotrices du gène de l'EPO ce qui initie et/ou accroît la production d'EPO (Haase, 2013) (figure 5). En situation d'hypoxie, la production cellulaire d'EPO peut ainsi être multipliée par 1000 (Ebert et Bunn, 1999).

Figure 10 : Régulation de l'activité de HIF-2alpha par l'oxygène (modifiée à partir de Cernaro *et al.*, 2019).



3) Actions de l'érythropoïétine

a. Stimulation de l'érythropoïèse

Le récepteur à l'EPO (EPOr) est une homodimère transmembranaire constitué de deux sous-unités de 508 acides aminés de la famille des récepteurs à tyrosine kinase (Winkelmann *et al.*, 1990). Cette liaison entraîne une autophosphorylation de la tyrosine kinase janus kinase 2 (JAK2). La JAK2 activée phosphoryle plusieurs sites tyrosine intra-cytoplasmique des EPOr ce qui déclenche une cascade de phosphorylation aboutissant à la réponse cellulaire (Jelkmann *et al.*, 2008).

L'expression maximale du récepteur EPOr est mise en évidence dans les cellules de la lignée érythroïde, aux stades CFU-E et proérythroblaste. Chaque cellule CFU-E et proérythroblaste exprime environ 1000 récepteurs EPOr à sa surface (Hilton *et al.*, 1995). La quantité de récepteurs

exprimés décroît progressivement à partir du stade érythroblaste basophile tardif. L'EPO agit donc sur toutes les cellules progénitrices et précurseures de la lignée rouge mais avec un pic d'action au stade CFU-E et proérythroblastes. Il a été démontré *in vivo* qu'en l'absence d'EPO, les BFU-E et les CFU-E se développent normalement mais sont incapables de poursuivre leur différenciation. Cela montre que l'EPO n'est pas nécessaire à l'engagement dans la lignée érythroïde des cellules souches oligopotentes. L'EPO permet la survie des cellules CFU-E par blocage de l'apoptose et entraîne leur différenciation irréversible. Elle a la même action sur les cellules précurseures. Cette action est de moins en moins importante au fur et à mesure de la maturation du précurseur notamment à partir du stade érythroblaste basophile car la quantité de récepteurs exprimés décroît progressivement à partir du stade érythroblaste basophile tardif (Wu *et al.*, 1995).

b. Les actions non-érythropoïétiques de l'EPO

L'EPO interagit également avec un hétérorécepteur complexe constitué d'un EPOr et d'une sous unité du récepteur spécifique des interleukines 5 et 6 ainsi que du granulocyte macrophage – colony stimulating factor (GM-CSF). L'affinité de l'EPO est plus faible pour cet hétérorécepteur que pour le récepteur EPOr-EPOr (Cernaro *et al.*, 2014). Ce récepteur se retrouve sur de nombreuses cellules de l'organisme et est responsable d'effets non-érythropoïétiques dits pléiotropiques notamment au niveau d'organes et de tissus incluant le cerveau, les vaisseaux sanguins et le cœur (Debeljak *et al.*, 2014). L'ensemble des effets non-érythropoïétiques de l'EPO sont résumés dans le tableau suivant (Tableau 1).

Tableau 1 : Effets pléiotropiques de l'EPO (d'après Wang *et al.*, 2014 ; Suresh *et al.*, 2020)

Tissus/organes	Effets
Vaisseaux sanguins	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Stimulation de l'angiogenèse dans tous les tissus leur conférant une protection contre l'hypoxie. ➤ Stimulation de la production d'oxyde nitrique (NO)
Cœur	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Protection des cardiomyocytes lors d'un événement ischémique ou un infarctus du muscle cardiaque par un effet anti-apoptose sur les myocytes, et le maintien des niveaux d'ATP cellulaire ➤ Protection indirecte par stimulation de la production endothéliale d'oxyde Nitrique (NO)
Tissus adipeux	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Régulation du métabolisme des graisses en limitant leur accumulation ➤ Réduction de la résistance à l'insuline ➤ Augmentation de la tolérance au glucose ➤ Action anti-inflammatoire sur le tissu adipeux
Cerveau	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Action hypothalamique entraînant une diminution de la prise alimentaire et une augmentation de la dépense énergétique ➤ Action neuroprotectrice par blocage de l'apoptose, stimulation de la survie et de la prolifération neuronale. Effet mis en évidence lors d'hypoxie ou d'ischémie cérébrale, de phénomènes inflammatoires et de toxicité au glutamate
Pancréas	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Stimulation de la croissance et de la survie des cellules bêta des ilots de Langerhans ➤ Protection contre le diabète

Système immunitaire	➤ Action anti-inflammatoire et immunomodulatrice ciblée sur les macrophages
Os	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Stimulation de la prolifération et de la minéralisation osseuse notamment lors de fractures ➤ Réduction du volume des trabécules osseux au sein de la moelle ➤ Stimulation de la différenciation des cellules souches de la moelle osseuse en ostéoclastes et ostéoblastes
Muscles squelettiques	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Stimulation de la prolifération des myoblastes et de leur survie favorisant la régénération musculaire suite à une blessure ➤ Inhibe la différenciation des myoblastes ➤ Favorise la production des fibres musculaires de type 1 et l'activité oxydative des mitochondries

De manière générale, l'EPO agit comme un facteur de croissance qui permet la régénération et la protection des tissus rénaux, cardiaques, musculaires et nerveux de par ses propriétés anti-apoptotiques et pro-angiogéniques (Buemi *et al.*, 2009b). Elle agit également comme un régulateur des métabolismes énergétiques en régulant la masse graisseuse, la prise alimentaire, et la dépense énergétique. Son action sur le pancréas et les graisses ralentit l'apparition de diabète. Enfin, elle agit également sur les ostéoclastes et les ostéoblastes, favorisant la formation et le maintien de l'os (Suresh *et al.*, 2020). Ces effets pléiotropiques de l'EPO expliquent les effets secondaires des traitements aux analogues de l'EPO que nous détaillerons ultérieurement.

B. Le fer, un acteur essentiel de l'érythropoïèse

Le fer est à la fois un substrat indispensable à l'érythropoïèse et un agent de sa régulation.

1) *Le métabolisme du fer*

a. Distribution et formes du fer dans l'organisme

Les mammifères ont approximativement entre 20 mg et 48,5 mg de fer par kilogramme de poids vif, avec environ 1 mg de fer contenu dans 2 ml de sang (McCown et Specht, 2011). La majorité du fer de l'organisme est mobilisé dans l'hémoglobine des globules rouges (Tableau 2).

Tableau 2 : Distribution du fer dans l'organisme chez les mammifères (d'après Harvey, 2012b)

Molécules contenant du fer	Pourcentage
Hémoglobine	60 à 70% (3,4 mg de fer par gramme d'hémoglobine)
Ferritine et hémosidérine	30% (Principalement dans les macrophages)
Myoglobine	3 à 7 % (Plutôt dans la tranche haute chez le chien)
Hémoprotéine et Flavoprotéine	1%
Transferrine	0,1%

Le fer existe sous 3 formes au sein de l'organisme : sous les formes ioniques ferreuse Fe^{2+} et ferrique Fe^{3+} et sous différentes formes liées au sein de nombreuses enzymes ou d'un hème (fer héminique). L'hème est une porphyrine associée à un ion ferreux Fe^{2+} . On retrouve 4 hèmes associés à chacune des 4 globines de l'hémoglobine. Au sein de l'hème, le fer a la capacité de fixer une molécule d'oxygène, il permet donc à l'hémoglobine de remplir sa fonction de transporteur d' O_2 .

b. Le cycle d'utilisation du fer dans l'organisme

i. *L'absorption du fer*

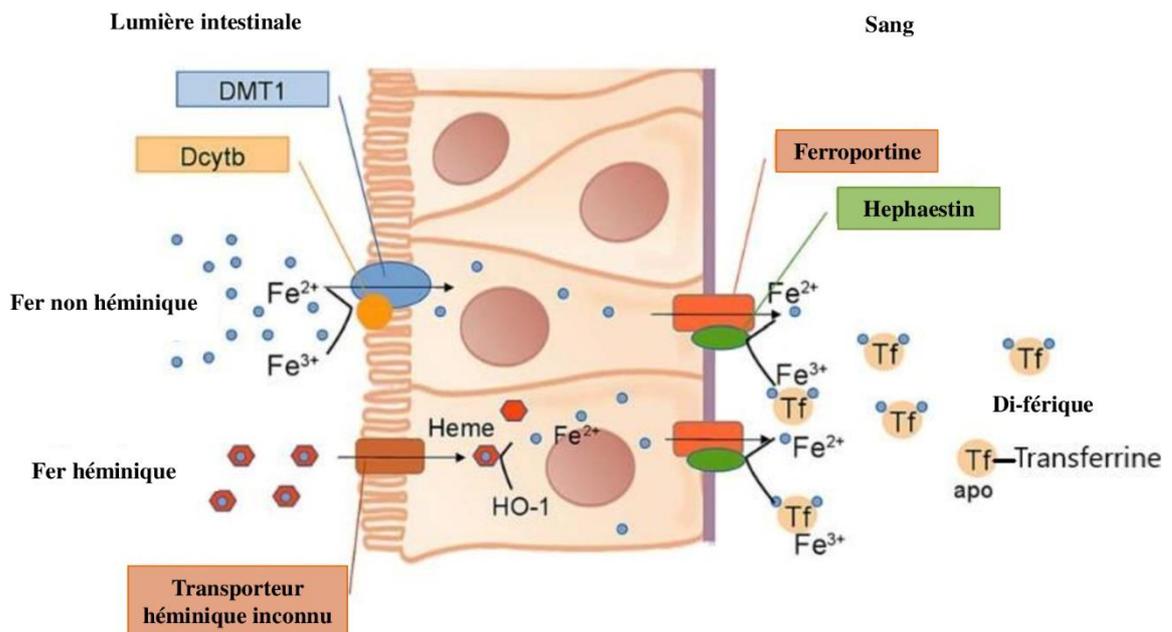
Chez l'animal sain, le fer entre dans l'organisme uniquement par l'alimentation. Il y a actuellement peu d'informations sur les besoins en fer du chien adulte. Les apports dans l'alimentation recommandés dans la littérature se situent entre 0,36 et 0,5 mg/kg/jours en fonction de la biodisponibilité du fer dans les aliments utilisés. Chez le chat, il n'y a pas de données disponibles sur les besoins en fer et les apports à fournir dans l'alimentation. On considère qu'un apport suffisant pour une bonne croissance est adéquat, ce qui correspond à environ 1,25 mg/kg/jour de fer (McCown et Specht, 2011).

En situation physiologique, le fer circule en système quasiment clos car l'élimination du fer est très faible. En effet, il n'y a pas de voie physiologique d'excrétion du fer spécifique chez les mammifères. Ainsi, la régulation de l'absorption du fer à partir de l'alimentation joue donc un rôle clé dans le maintien de son homéostasie (McCown et Specht, 2011 ; Harvey, 2012b).

Une faible proportion du fer contenu dans le bol alimentaire est absorbée chez l'animal adulte sain. Cette absorption a lieu à travers les entérocytes du duodénum et du jéjunum proximal. La voie d'absorption du fer non héminique la plus importante utilise le Di Metal Transporter (DMT1). Le fer ferrique Fe^{3+} doit être réduit en Fe^{2+} pour pouvoir être transporté par les entérocytes *via* le DMT1. Cette réduction est réalisée principalement par des ferriréductases telles que le Duodenal Cytochrome b (Dcytb). Cependant le Fe^{3+} peut également être absorbé directement par les entérocytes par d'autres voies non décrites. Par exemple, chez l'homme l'absorption intestinale du fer non héminique se fait majoritairement sous la forme Fe^{2+} alors que chez le chien les deux valences sont absorbées de manière équivalente (Harvey, 2012b). Le fer héminique est transporté dans l'entérocyte par un transporteur inconnu puis le Fe^{2+} est extrait de l'hème par catabolisme.

Le fer ferreux est ensuite transporté vers la face basolatérale de l'entérocyte par des mécanismes inconnus. La ferroportine permet la sortie du Fe^{2+} vers le sang où il est immédiatement oxydé en Fe^{3+} par l'héphaestine avant de se lier à la transferrine qui assure son transport plasmatique (figure 11).

Figure 11 : Absorption intestinale du fer (modifiée à partir de Papanikolaou et Pantopoulos, 2017)

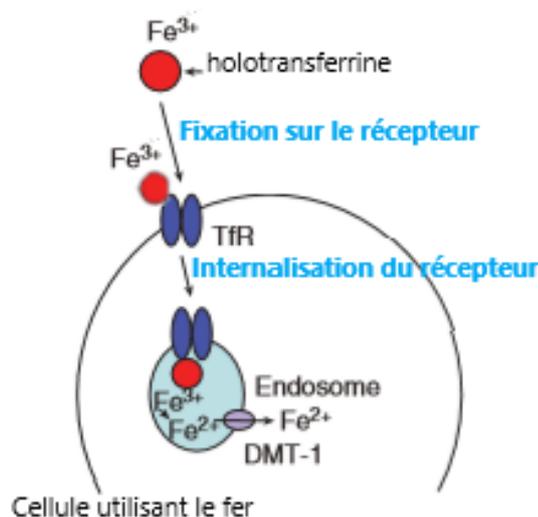


ii. Le Transport du fer

La transferrine des mammifères est une protéine soluble d'environ 80 KDa spécialisée dans le transport plasmatique du fer. C'est la protéine de transport du fer en circulation qui représente seulement 0,1% de la fraction totale du fer de l'organisme. Une molécule de transferrine peut fixer un ou deux atomes de fer sous forme ferrique. La transferrine saturée en fer est dite holo-transferrine et la ferritine non saturée est appelée apo-transferrine (McCown et Specht, 2011 ; Harvey, 2012b).

La transferrine transporte le fer vers toutes les cellules de l'organisme. Les cellules qui utilisent la majorité du fer circulant sont les progéniteurs et précurseurs des globules rouges dans la moelle osseuse, puis les cellules musculaires pour synthétiser la myoglobine, puis les cellules spécialisées dans le stockage du fer (figure 13). L'entrée du fer dans les cellules est assurée par la fixation de la transferrine aux récepteurs TfR1 présents sur la membrane plasmique. Puis le complexe transferrine-récepteur est internalisé par formation d'un endosome. Des pompes à protons acidifient l'intérieur de l'endosome ce qui diminue l'affinité transferrine-fer et permet la libération de Fe^{3+} . Le Fe^{3+} est réduit en Fe^{2+} par la ferriréductase steap 3. Le fer ferreux quitte l'endosome par un récepteur DMT1 et rejoint le cytosol (figure 12). L'entrée du fer dans les macrophages est aussi réalisée par phagocytose des hématies sénescents (Figure 13) (Olver *et al.*, 2010 ; McCown et Specht, 2011 ; Harvey, 2012b ; Daher et Karim, 2017).

Figure 12 : Entrée du fer dans les cellules (Modifiée à partir d'Olver *et al.*, 2010)



iii. Le stockage du fer

Au sein de l'organisme, 30% du fer est stocké dans les macrophages spléniques et dans les hépatocytes. Dans ces cellules, la protéine de stockage du fer est la ferritine, une coquille protéique sphérique constituée de 24 sous-unités pouvant stocker jusqu'à 4500 atomes de fer. On retrouve également l'hémosidérine qui permet le stockage de 5% du fer stocké dans le foie (McCown et Specht, 2011). Les macrophages mais aussi les autres cellules de stockage du fer et toutes les cellules de l'organisme peuvent libérer du fer selon les besoins de l'organisme ou en cas d'excès de fer intracellulaire. La sortie du fer des cellules se fait *via* la ferroportine (Daher et Karim, 2017).

iv. Utilisation du fer durant l'érythropoïèse

La mobilisation du fer pour l'érythropoïèse se fait durant les stades précurseurs des globules rouges, à partir du proérythroblaste lorsque les cellules synthétisent l'hémoglobine. L'entrée du fer dans la cellule érythropoïétique se fait par un récepteur membranaire, le transferrine receptor 1 (TfR1). Le pic d'expression de ce récepteur est au stade érythroblaste basophile tardif, c'est donc à ce stade que la mobilisation du fer pour la synthèse d'hémoglobine est la plus intense (Harms et Kaiser, 2015). Une fois dans le cytosol de ces cellules, le fer est associé à une porphyrine dans les mitochondries pour former un hème qui sera utilisé pour la synthèse de l'hémoglobine. Mais on retrouve également des hèmes dans de nombreuses molécules comme les cytochromes à qui ils confèrent des propriétés oxydatives utilisées par exemple dans la chaîne respiratoire de toutes les cellules de l'organisme. (Olver *et al.*, 2010 ; Daher et Karim, 2017).

Le besoin quotidien en fer de l'érythropoïèse est plus de 10 fois supérieur à l'absorption intestinale de fer, il y a donc un système de recyclage du fer assuré par les macrophages phagocytant les érythrocytes sénescents. Les macrophages constituent une réserve de fer, ils libèrent celui-ci au besoin en fonction de différents signaux (Papanikolaou et Pantopoulos, 2017).

c. Explorations biochimiques

L'exploration biochimique des stocks de fer dans l'organisme est bien documentée chez l'homme et est fréquemment réalisée en pratique. Par exemple, la mesure de la quantité de ferritine sérique reflète la totalité du fer stocké. En effet, 1 ng/mL de ferritine correspond à 10 mg de fer stocké au total (Finch *et al.*, 1986). Cependant, la quantité de ferritine sérique est accrue par les phénomènes inflammatoires notamment les infections et les tumeurs. Ainsi, dans ce contexte, l'interprétation des taux de ferritine sérique peut être décorrélée de la quantité de fer stocké dans l'organisme (Fahmy et Young, 1993). De même, en situation physiologique, les sites de fixation du fer des transferrines plasmatiques sont saturés à environ 30%. Cette saturation est une valeur mesurable qui donne une information sur les stocks de fer de l'organisme (Elsayed *et al.*, 2016).

En médecine vétérinaire, l'exploration biochimique du métabolisme du fer est très peu réalisée en pratique en raison d'une faible disponibilité des tests et également en raison de leur manque de fiabilité. La fraction sérique du fer ne représente que 0,1% du fer de l'organisme ce qui en fait un mauvais indicateur des stocks de fer de l'organisme. La concentration sérique en ferritine est très influencée par l'inflammation et une partie des carences en fer ne s'accompagne pas d'une diminution de cette concentration ce qui en fait également un marqueur peu sensible et peu spécifique. La concentration en ferritine sérique est une mesure considérée fiable uniquement chez l'animal sain. Enfin, la concentration sérique en transferrine est minorée par l'inflammation et majorée par les affections hépatiques chroniques chez le chien, elle est donc également peu fiable. La saturation de la transferrine chez les carnivores domestiques est estimée entre 20 et 50% (Bohn, 2013).

La concentration en hémoglobine des réticulocytes (RET-He) est un marqueur diagnostique de la carence en fer qui a été étudiée chez l'homme et chez le chien. Les études chez le chien ont mis en évidence une corrélation entre une valeur basse de RET-He et une carence en fer. Une étude chez des chiens souffrant d'anémie a déterminé une valeur seuil de RET-He de 20,9 pg. Cette valeur permet de distinguer les chiens anémiés qui ont une carence en fer et ceux qui n'en ont pas avec une sensibilité et une spécificité associée de respectivement 85% et 99%. Ainsi, cette mesure renseigne avec précision sur le besoin ou non de compléter en fer un chien anémié. Chez l'homme l'utilisation de la RET-He pour renseigner une carence en fer a été particulièrement étudiée chez les patients souffrants d'anémie d'origine rénale. La RET-He est une donnée très intéressante en médecine vétérinaire car elle est de plus en plus mesurée par les automates de laboratoires que l'on retrouve en clinique, c'est donc un donnée de plus en plus disponible (Garzia *et al.*, 2007 ; Fuchs *et al.*, 2017a ; Fuchs *et al.*, 2017b).

2) ***Régulations au sein du métabolisme du fer***

a. Régulation du fer par l'axe hepcidine-ferroportine

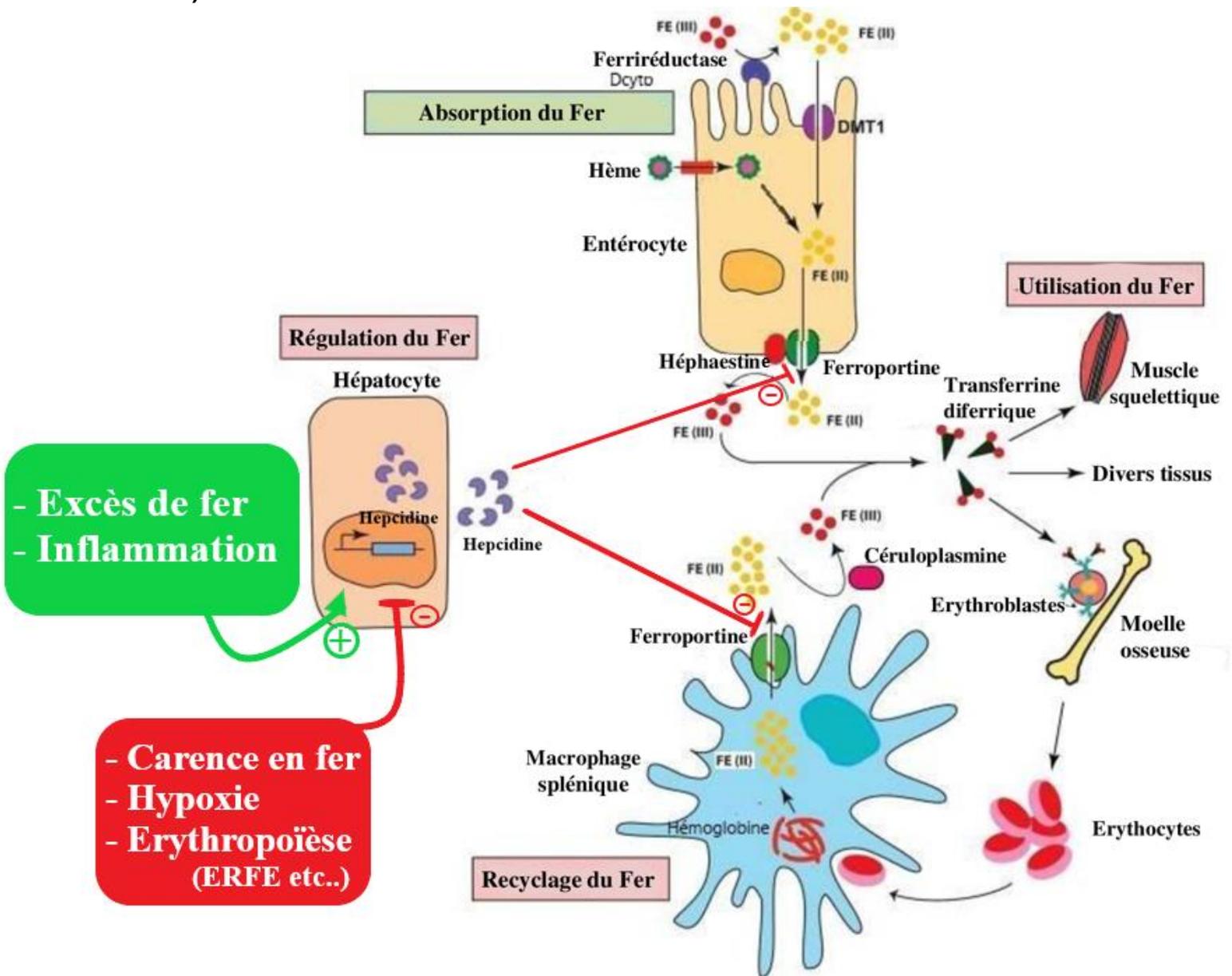
L'hepcidine est la principale molécule de régulation du fer dans l'organisme. C'est un peptide produit par les hépatocytes qui limite l'entrée de fer dans le sang. Elle agit en se fixant sur la ferroportine des entérocytes, des macrophages ou des cellules hépatiques causant son internalisation et sa dégradation (Nemeth *et al.*, 2004 ; Ganz, 2019). Ainsi, l'hepcidine limite l'absorption intestinale en fer et diminue la disponibilité du fer stocké par les macrophages spléniques ou les hépatocytes (figure 13).

La transcription de l'hepcidine est stimulée par un excès de fer et plus particulièrement par une augmentation des réserves hépatiques en fer. Ainsi, lorsque la quantité de fer est élevée dans l'organisme, l'augmentation de la synthèse d'hepcidine limite l'absorption intestinale de fer (Oliver *et*

al., 2010 ; Pantopoulos *et al.*, 2012). L'inflammation stimule également la synthèse de l'hepcidine (figure 13). En effet, certaines cytokines inflammatoires telles qu'IL-6 stimulent la transcription du gène codant pour l'hepcidine (Nicolas *et al.*, 2002 ; Olver *et al.*, 2010). Ce contrôle de la synthèse de l'hepcidine jouerait un rôle dans la défense immunitaire en cas d'infection par différents mécanismes. Un des mécanismes mis en évidence est l'appauvrissement du milieu extracellulaire en fer, ce dernier ne pouvant plus servir de substrat aux micro-organismes infectieux, ce qui limite leur développement (Michels *et al.*, 2015).

L'expression de l'hepcidine est inhibée par une carence en fer ou l'hypoxie de façon directe. L'anémie a quant à elle une action indirecte sur l'hepcidine. En effet, l'anémie stimule la production d'EPO qui stimule à son tour la production de différents signaux dont une molécule appelée érythroferrone (ERFE) par les cellules progénitrices BFU-E et CFU-E. Ses signaux agissent sur le foie et inhibent la production d'hepcidine (figure 13). Une activité érythropoïétique intense inhibe donc l'expression de l'hepcidine. Ainsi, l'érythropoïèse a une action directe sur la mobilisation du fer qui est un substrat indispensable à celle-ci. (Pantopoulos *et al.*, 2012 ; Girelli *et al.*, 2016 ; Latour *et al.*, 2017).

Figure 13 : Le métabolisme du fer et sa régulation (modifiée à partir de Pantopoulos *et al.*, 2012)



b. Régulation de l'érythropoïèse par le fer

Le fer a plusieurs actions sur l'érythropoïèse. Il a d'une part une action sur la synthèse d'EPO par les cellules rénales REP. En effet, par l'intermédiaire d'une protéine de régulation du fer IRP1, une déficience en fer diminue la transcription du gène codant l'EPO (Anderson *et al.*, 2013).

De plus, une carence en fer a une action directe sur la moelle en diminuant la sensibilité des cellules de la lignée érythroïde pour l'EPO. La carence en fer inhibe également la différenciation de cellules progénitrices des globules rouges. Ainsi, une carence en fer inhibe l'érythropoïèse qui représente la plus importante consommation en fer de l'organisme et par cela le fer est épargné pour les autres cellules qui l'utilisent (Camaschella *et al.* 2016).

Enfin, le fer est un substrat indispensable pour l'hémoglobine et est donc activement utilisé par les cellules progénitrices et précurseurs des globules rouges. L'efficacité de l'érythropoïèse repose sur un équilibre entre la production d'érythrocytes, la disponibilité en fer et la synthèse d'hémoglobine (Papanikolaou et Pantopoulos, 2017).

D'autres acteurs interviennent dans le contrôle de l'érythropoïèse. Il a été mis en évidence que l'angiotensine II stimule l'érythropoïèse en fonctionnant comme un facteur de croissance sur les progéniteurs érythroïdes de la moelle osseuse et par une action directe sur la production d'érythropoïétine (Vlahakos *et al.*, 2010). Les hormones thyroïdiennes sont également un facteur de croissance des colonies érythroïdes de la moelle osseuse aux stades BFU-E et CFU-E (Malgor *et al.*, 1975 ; Antonijević *et al.*, 1999). De plus de nombreux substrats métaboliques sont nécessaires à l'érythropoïèse, c'est le cas par exemple des vitamines B12, B9, B6, B3 et de la L-carnitine. Une carence en un de ces éléments est délétère à l'activité érythropoïétique (Olver, 2010).

Deuxième partie : Les érythropoïétines de synthèse, un traitement de certaines anémies

Beaucoup d'anémies répondent au traitement par des agents stimulants l'érythropoïèse (ESA) et notamment des érythropoïétines de synthèse. Ces anémies ont des causes très diverses et sont pour la plupart peu régénératives. Dans cette partie nous abordons, la physiopathologie de ces anémies particulières puis nous nous intéresserons à l'utilisation des érythropoïétines de synthèses plus particulièrement chez les carnivores domestiques.

1. Les Anémies traitées aux érythropoïétines de synthèse

L'anémie est une situation fréquemment rencontrée chez les carnivores domestiques. Elle se définit comme une baisse de la quantité totale d'hémoglobine circulante. Elle est objectivée sous une valeur de 13 g/dL chez l'homme et 12 g/dL chez la femme. Chez les carnivores domestiques l'anémie peut être objectivée par des valeurs de concentration d'hémoglobine circulante inférieures à 12 g/dL chez le chien (Rizzi *et al.*, 2010a) et 8 g/dL chez le chat (Rizzi *et al.*, 2010b). Cependant en médecine vétérinaire, les valeurs d'hématocrite servent de mesure indirecte de l'hémoglobine circulante. Le tableau 3 montre les différents niveaux de sévérité de l'anémie en fonction de la valeur d'hématocrite mesurée chez le chien et le chat.

Tableau 3 : Classification des anémies en fonction de la valeur de l'hématocrite (d'après Bellier et Cordonnier, 2010)

Degré de l'anémie	Valeur de l'hématocrite en %	
	Chien	Chat
Légère	30-37	20-26
Modérée	20-29	14-19
Grave	13-19	10-13
Très Grave	<13	<10

Les érythropoïétines de synthèse sont appelées « *erythropoiesis-stimulating-agents* » (ESA) et sont des recombinants humains de l'érythropoïétine. La forte homologie entre l'érythropoïétine

humaine et celle des carnivores domestiques explique la bonne affinité des ESA humains recombinants pour le récepteur EPOr des animaux traités (Langston *et al.*, 2003). Parmi l'ensemble des ESA utilisés chez l'Homme, les époétines alpha, bêta et la darbépoétine alpha sont utilisées chez l'animal.

Chez les carnivores domestiques, la très grande majorité des cas d'utilisation d'un traitement aux érythropoïétines de synthèse concernent l'anémie liée à une maladie rénale chronique. Cette indication est également importante chez l'homme. Cependant, et plus particulièrement chez l'homme, il existe d'autres contextes dans lesquels ce traitement peut être administré, notamment pour traiter les anémies inflammatoires ou les anémies liées à un cancer par exemple.

A. La maladie rénale chronique et l'anémie associée

La maladie rénale Chronique (MRC) est l'affection rénale la plus rencontrée chez le chat et le chien. Elle est définie comme toute anomalie fonctionnelle ou structurelle d'un seul ou des deux reins présente de façon continue durant au moins trois mois. Les reins des animaux touchés par la MRC sont caractérisés par une réduction permanente du nombre de néphrons fonctionnels et une modification de l'ultrastructure du rein. L'insuffisance rénale associée se déclare lorsque 75% des néphrons ne sont plus fonctionnels. C'est une maladie irréversible et dégénérative (Polzin, 2011).

La MRC est une maladie fréquente des carnivores domestiques qui touche davantage le chat que le chien. Certaines études estiment la prévalence de cette maladie entre 0,5% et 1,5% de la population totale chez le chien et entre 1% et 3% de la population totale chez le chat (Brown, 2007).

Cette maladie touche principalement le sujet âgé puisque qu'une étude menée sur des chats de 9 mois à 22 ans, montrait que 53% des chats atteints de MRC avaient plus de 7 ans (DiBartola *et al.*, 1987).

1) *Physiopathologie de la maladie rénale chronique*

a. Origines de la maladie

De nombreux facteurs initiaux conduisant à la MRC ont été mis en évidence. Parmi ces causes, on peut citer les maladies auto-immunes, les infections systémiques, les infections du tractus urinaire, les néphrolithiases, les urétérolithiases, les obstructions du tractus urinaire, les molécules néphrotoxiques, l'hypertension systémique ou glomérulaire, l'hypoperfusion rénale chronique, les affections rénales primaires, l'amyloïdose et d'autres encore. Les affections rénales primaires sont également nombreuses et comptent notamment la polykystose rénale, le lymphome rénal, les glomérulonéphrites non infectieuses et la néphrite tubulo-interstitielle idiopathique. Cette dernière est la plus courante chez le chat. Dans une étude portant sur 47 chats souffrant de MRC, 66,2% étaient atteints de néphrite tubulo-interstitielle, 14,2% étaient atteints de glomérulopathie, 10,6% étaient atteints de lymphome rénal, les autres étaient atteints de polykystose rénal, de pyélonéphrite ou d'amyloïdose dans des pourcentages autour de 2% (Minkus *et al.*, 1994). En pratique la cause primaire de la maladie rénale est rarement identifiée.

Quelle que soit la lésion initiale provoquant l'insuffisance rénale, la maladie rénale progresse irrémédiablement avec le déclin du nombre de néphrons fonctionnels. Il a été montré que l'induction d'une insuffisance rénale expérimentale chez le rat par destruction du parenchyme rénal entraînait

une augmentation de la filtration individuelle des néphrons restants. Ce mécanisme appelé hyperfiltration entraîne l'apparition progressive d'une fibrose des néphrons initialement sains qui explique la détérioration spontanée observée lors de MRC (Brenner *et al.*, 1982 ; Hostetter *et al.*, 2001).

b. Progression histologique de la maladie

Un modèle de la progression de la maladie rénale chronique a été établi en médecine humaine. Ce modèle comporte 6 étapes qui se déroulent successivement dans tout rein endommagé par une cause initiale quelconque :

- La première étape correspond à l'hyperfiltration des néphrons épargnés par la lésion initiale qui entraîne une fuite protéique glomérulaire vers le tubule.
- Cette protéinurie accompagnée par une augmentation de la production locale d'angiotensine II, facilite l'émission de cytokines ce qui induit une accumulation de cellules mononuclées dans la zone interstitielle.
- Il y a ensuite apparition de granulocytes neutrophiles dans le milieu interstitiel mais ceux-ci sont rapidement remplacés par une réponse immunitaire néphrogénique caractérisée par l'affluence de macrophages et de lymphocytes T causant une néphrite interstitielle.
- Cette inflammation affectant l'épithélium tubulaire induit une désagrégation de la membrane basale qui fait perdre la cohésion entre les cellules épithéliales et les cellules adjacentes.
- Certaines cellules tubulo-interstitielles, notamment les cellules REP, se transforment en fibroblastes qui produisent une matrice extracellulaire perturbant les tubules restants, c'est le début de la fibrose rénale qui constitue la cinquième étape du processus.
- Enfin, les cellules isolées de leur facteur de survie par cette matrice extracellulaire meurent en laissant une cicatrice acellulaire (Harris et Neilson, 2006).

L'évolution de la maladie rénale met en jeu différents processus physiopathologiques incluant un phénomène inflammatoire et le développement de fibrose évoluant progressivement vers un état de sclérose.

c. Manifestations cliniques et métaboliques de la maladie

La perte progressive de la fonction rénale entraîne une azotémie qui augmente avec l'étendue des lésions. Parmi les autres modifications biochimiques décelables en laboratoire, on retrouve de façon inconstante des hyperphosphatémies, des dyskaliémies, des dsycalcémies, des acidoses métaboliques et des hypermagnésémies. A l'analyse d'urine, il peut y avoir une diminution de la densité urinaire, une protéinurie et une glycosurie sans hyperglycémie associée. La bandelette urinaire peut révéler des signes d'infection urinaire que l'on peut confirmer à l'uroculture. Toutes ces modifications biochimiques sont liées à une altération de la fonction rénale.

Les principaux signes cliniques rencontrés lors de la maladie rénale chronique sont la polyurie, la polydipsie, un amaigrissement, une amyotrophie et de la dysorexie. Certains signes cliniques sont spécifiques de l'étiologie, comme l'existence de masses rénales palpables lors de tumeur ou de

polykystose rénale par exemple. L'existence d'une pyélonéphrite peut aussi se manifester par l'émission d'urine trouble et malodorante, des nausées et une hyperthermie.

A des stades avancés de la maladie, l'urémie chronique du sujet atteint cause des manifestations gastro-intestinales avec notamment de la dysorexie ou de l'anorexie, des nausées, des vomissements, des ulcérations intestinales ou buccales, de l'halitose, des stomatites, des maladies parodontales. L'urémie provoque également de l'hypothermie, de la léthargie ou de la faiblesse, une perte de poids, une amyotrophie, des trémulations musculaires, des péricardites urémiques, des pneumonies urémiques et des encéphalopathies urémiques provoquant une modification du comportement (Brown, 2007 ; Polzin, 2011).

d. Progression clinique de la maladie : Les stades IRIS.

Lors de l'établissement du diagnostic de MRC, il est nécessaire d'estimer le niveau de son avancement afin d'adapter sa prise en charge. L'International Renal Interest Society a proposé une classification par stade de la maladie rénale chronique chez le chien et le chat. Cette classification est basée sur le degré d'azotémie (Tableau 4).

Tableau 4 : Classification IRIS des stades de la MRC (d'après Elliott et Watson, 2014)

Stade	Azotémie (en mg /L)	Commentaires
A risque	Egale au stade 1	Présence de facteurs prédisposants, augmentant le risque de développer une MRC dans le futur (âge, race, exposition à des néphrotoxiques, haute prévalence de certaines maladies infectieuses dans la zone etc...)
1	<14 (Chien) <16 (Chat)	Stade non-azotémique avec indices d'atteinte rénale (palpation rénale ou imagerie rénale anormale, protéinurie d'origine rénale, biopsie rénale anormale, diminution de la capacité de concentration des urines sans causes non rénales identifiables etc...)
2	14-20 (Chien) 16-28 (Chat)	Azotémie légère, signes cliniques absents à discrets
3	20-50 (Chien) 28-50 (Chat)	Azotémie modérée. De nombreux signes cliniques extrarénaux peuvent être présents.
4	>50 (Chat et chien)	Azotémie sévère. De nombreux signes cliniques extrarénaux fréquemment présents.

Des sous stades ont également été définis par l'IRIS en fonction de la protéinurie et de la pression artérielle (Tableaux 5 et 6). Le contrôle de ces deux paramètres dans le cadre du suivi d'une maladie rénale chronique est important car ils représentent des facteurs pronostiques négatifs. La protéinurie est responsable d'une toxicité sur l'appareil glomérulaire alors qu'une hypertension artérielle entraîne des lésions de certains organes comme le cœur, le cerveau, l'œil et aussi le rein.

Tableau 5 : Sous-stades selon la protéinurie de la classification IRIS (d'après Elliott et Watson, 2014)

RPCU	Sous-stade
< 0,2 (chat en chien)	NP : Non Protéinurique
0,2-0,4 (chat) 0,2-0,5 (chien)	BP : Protéinurique borderline
> 0,4 (chat) > 0,5 (chien)	P : Protéinurique

* Rapport entre la concentration en protéines et la concentration en créatinine d'un même échantillon d'urine

Tableau 6 : Sous-stades selon les valeurs de pression artérielle systémique de la classification IRIS (d'après Elliott et Watson, 2014)

Pression systolique (mmHg)	Pression diastolique (mmHg)	Risque sur les organes sensibles*	Sous-Stade
< 150	< 95	Nul ou minime	AP0
150-159	95-99	Faible	AP1
160-179	100-119	Modéré	AP2
> ou =180	> ou = 120	Élevé	AP3

* Organes sensibles à une élévation de la pression artérielle : le cœur, les yeux, le cerveau, le rein

La détermination du Stade IRIS n'est applicable qu'à des chiens ou des chats dont la maladie rénale est stabilisée. Il est important de s'assurer qu'il n'y a pas d'affection rénale concomitante pouvant majorée l'azotémie et que cette azotémie n'a pas de composante pré- ou post-rénale, lorsque l'on veut établir le stade IRIS d'un animal atteint de MRC. En cas d'affection rénale aiguë concomitante ou de décompensation de la MRC (épisode d'insuffisance rénale aiguë sur fond de MRC), il faut prendre en charge l'épisode aigu et attendre une stabilisation de l'état de l'animal avant d'envisager d'établir le stade IRIS, ce qui peut prendre plusieurs semaines.

Cette classification est aujourd'hui très utilisée par les vétérinaires praticiens car elle donne des informations fiables sur le pronostic et aide à identifier les conséquences de la maladie à surveiller et à traiter aux différents stades de dysfonctionnement de la maladie. Elle permet un suivi précis de la progression de la maladie, ce qui aide à orienter le traitement (Elliott et Watson, 2014).

e. Complications de la maladie rénale chronique

La première complication que l'on peut citer est l'hypertension artérielle systémique. Elle est présente chez 20-60% des chats et des chiens suivis pour leur MRC, indépendamment du stade IRIS de l'animal. L'hypertension peut provoquer des lésions sur les organes sensibles à partir d'une pression artérielle systolique de 150 mmHg (Brown, 2007). Elle peut aussi entraîner le développement d'une cardiomyopathie hypertrophique. Cette hypertension est en partie liée à l'activation du système rénine-angiotensine-aldostérone, à un tonus sympathique augmenté et à une augmentation de la concentration plasmatique en vasopressine. Le consensus actuel est de traiter l'hypertension artérielle pour maintenir la pression systolique en dessous de 160 mmHg dans le cadre de la MRC (Bartges, 2012).

La seconde complication est l'hyperparathyroïdie secondaire. C'est une complication présente dès les stades précoces de la MRC et qui est très fréquente. Une étude a déterminé une prévalence de 84% d'hyperparathyroïdie secondaire chez les chats atteints de MRC (Elliott et Barber, 1998 ; Polzin, 2011). Son origine est multifactorielle. Lors de MRC, une diminution de la production de la vitamine D3 par le rein en raison de sa fibrose diminue l'absorption intestinale de calcium. De plus, la diminution du débit de filtration glomérulaire entraîne un défaut d'excrétion de phosphore. L'hypocalcémie et l'hyperphosphatémie ainsi induites stimulent la production et l'excrétion d'hormone parathyroïdienne (PTH) par la glande parathyroïde (Polzin, 2011).

Une autre complication est l'anorexie qui n'est pas rare chez le chien et le chat en MRC. L'anorexie concerne 40% à 64% des chats insuffisants rénaux chroniques selon les auteurs (Langston, 2008). Elle est le plus souvent plurifactorielle : la déshydratation, les altérations biochimiques (acidose métabolique, les toxines urémiques, azotémie, déséquilibres ioniques) l'hypergastrinémie, les ulcères buccaux et gastro-intestinaux, les vomissements et l'anémie elle-même concourent à son apparition et son maintien dans le temps (Bartges, 2012). Mais d'autres causes sont également à l'origine de ces carences.

Les carnivores domestiques atteints de maladie rénale chronique sont sujets à des infections bactériennes du tractus urinaires (ITU). L'incidence des ITU est de 20% chez ces animaux. Parmi les origines de cette sensibilité accrue, on compte une urine diluée, une apoptose prématurée des globules blancs, une diminution du recrutement et de l'activité des globules blancs et une diminution de la concentration en immunoglobuline dans les urines des chats et des chiens atteints de MRC (Bartges, 2012).

Toutes ces complications aggravent les lésions rénales et accentuent l'évolution de la maladie rénale chronique, il est donc important les contrôler.

La dernière complication de la MRC que nous allons plus particulièrement détailler ici est l'anémie.

2) *L'Anémie d'origine Rénale*

a. Caractéristiques

i. Présentation de l'anémie

L'anémie d'origine rénale est classiquement normochrome normocytaire et hyporégénérative chez le chat et le chien (Bartges, 2012). Le myélogramme est caractérisé par une hypoplasie des précurseurs érythroïdes avec peu ou pas d'interférences avec la leucopoïèse et la mégacaryopoïèse (Polzin, 2017).

Chez nos carnivores domestiques, la sévérité de l'anémie est corrélée au degré d'avancement de la maladie rénale chronique (Brown, 2007 ; Polzin, 2011).

ii. Prévalence

L'anémie est une complication commune de la maladie rénale chronique chez le chat et chez le chien (Hasler, 2012). Elle affecte 32 à 65% des chats souffrants de MRC (DiBartola *et al.*, 1987 ; Elliott et Barber, 1998). Il y a peu de données épidémiologiques chez le chien. Dans une étude de 1992, 12 des 17 chiens (70,6%) atteints de MRC était anémiés (King *et al.*, 1992). Dans une étude plus récente réalisée sur des boxers atteints de néphropathie juvénile, 44% d'entre eux étaient anémiés (Chandler *et al.*, 2007).

Une étude chez le chat s'est intéressée à la prévalence de l'anémie en fonction du stade IRIS de la maladie (tableau 7).

Tableau 7 : Créatinine et hématokrite en fonction du stade IRIS des chats de l'étude de King et al (modifié à partir de King et al., 2007)

Paramètres	Ensemble des chats (n=190)		Stade IRIS II (n=109)		Stade IRIS III (n=65)		Stade IRIS IV (n=16)	
	Moyenne	% de chats > ou < à la valeur de référence	Moyenne	% de chats > ou < à la valeur de référence	Moyenne	% de chats > ou < à la valeur de référence	Moyenne	% de chats > ou < à la valeur de référence
Créatininémie (mg/l)	31+/-14	93,1%>	24+/-3	88%>	35+/-6	100%>	68+/-15	100%>
Hématocrite (%)	33,4+/-7,0	13,3%<	35,3+/-6,5	4,8%<	32,3+/-6,8	17,7%<	25,7+/-5,0	53,3%<

* Valeurs de référence utilisées dans l'étude : créatinine plasmatique : 2.3-20 mg/L ; Hématocrite : 25-48 %

D'après les résultats présentés dans ce tableau, on note que l'anémie est présente dès les stades précoces d'insuffisance rénale chronique et non pas seulement aux stades les plus avancés. Selon les valeurs de l'hématocrite, 5% des individus en stade 2 sont concernés par une anémie, 18% en stade 3 et plus de la moitié des individus en stade 4 (King *et al.*, 2007).

Des données similaires ont été collectées chez le chien (Tableau 8).

Tableau 8 : Moyennes et intervalles des valeurs de la créatinine et de l'hématocrite en fonction du stade IRIS des chiens de l'étude de Rudinsky et al (d'après Rudinsky et al., 2018)

	Ensemble des chiens (n=27)	MRC stade IRIS II (n=9)	MRC stade IRIS III (n=12)	MRC stade IRIS IV (n=6)
Créatinine (mg/dL)	2,6 [1,4 ;12,9]	1,7 [1,4 ;2]	3,25 [2,4 ;4,8]	8,2 [6,3 ;12,9]
Hématocrite (%)	39 [23 ;61]	45 [35 ;61]	36,5 [24 ;47]	36,5 [23 ;42]

Dans cette étude, les données sont moins précises que dans l'étude précédente. Cependant, si on se réfère aux valeurs seuils de l'anémie donnée dans le tableau 3, on observe grâce aux intervalles renseignés dans l'étude que certains chiens ont une anémie légère (valeur comprise entre 30 % et 37 %) dès le stade IRIS 2. Des cas d'anémie modérée (valeur comprise entre 20 % et 29 %) apparaissent au stade 3 et 4. Ainsi, chez le chien également, des cas d'anémie sont présents dès les stades précoces de la MRC (Rudinsky et al., 2018).

iii. Signes cliniques

Les signes cliniques de l'anémie chez les carnivores domestiques atteints de MRC sont similaires à ceux que l'on retrouve couramment dans les autres anémies incluant une pâleur des muqueuses et de la peau, de la tachycardie, de la tachypnée, une léthargie, une faiblesse, et de l'anorexie. Ces problèmes augmentent la morbidité et la mortalité de la MRC (Hasler, 2012 ; Polzin, 2017).

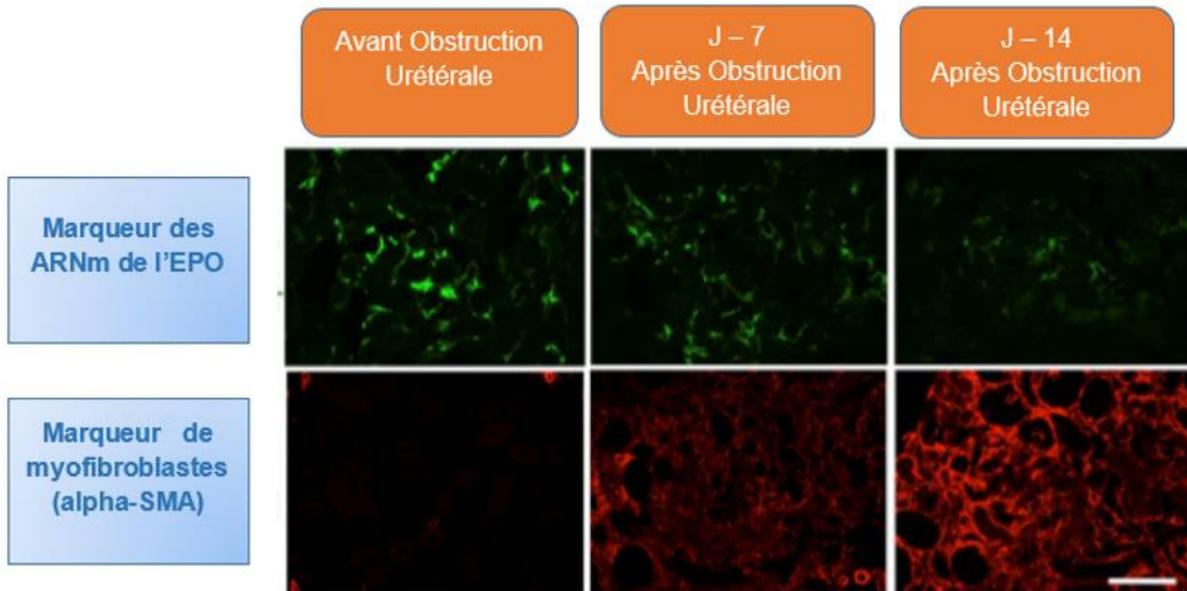
b. Etiologie

Bien qu'une carence en EPO soit la principale cause de l'anémie rénale, cette anémie est multifactorielle et peut être exacerbée par une maladie intercurrente et une alimentation déséquilibrée (Polzin, 2011). Dans la littérature, on retrouve les causes et les facteurs aggravants suivants :

i. Diminution de la synthèse d'EPO

Le défaut de production d'EPO est la principale cause de l'anémie liée à la MRC. Les mécanismes conduisant à une carence en EPO lors de MRC sont encore flous. Une étude expérimentale sur des souris a montré un lien entre la fibrose rénale et un défaut de production d'EPO. Les auteurs ont provoqué une fibrose rénale chez des souris par ligature d'un uretère et ont observé l'effet sur les cellules REP interstitielles, productrices d'EPO (figure 14). Ils ont mis en évidence que les cellules REP, qui sont des fibroblastes, passent alors d'un phénotype physiologique caractérisé par une activité de production de l'EPO à un phénotype pathologique caractérisé par une activité fibrogénique et une diminution de la sécrétion d'EPO, en réponse à un signal microenvironnemental d'origine inflammatoire. Ils ont également montré que la majorité des myofibroblastes impliqués dans la fibrose rénale étaient issus de cette modification de phénotype des cellules REP (Souma et al., 2013).

Figure 14 : Marquage immunohistochimique du tissu rénal lors d'un processus de fibrose provoqué par une obstruction urétérale chez une souris (modifiée à partir de Souma *et al.*, 2013)



Une seconde étude a montré que l'activité érythropoïétique des myofibroblastes rénaux issus des cellules REP lors de MRC n'était pas nulle mais fortement diminuée. Cependant, les mécanismes sous-tendant la réponse moindre des cellules REP myofibroblastiques de reins fibrotiques à une stimulation hypoxique restent élusifs. Un défaut dans la transduction du signal hypoxique médié par les HIF pourrait être l'un de ces mécanismes (Chang *et al.*, 2016)

Ces résultats démontrent que les cellules REP ont une plasticité cellulaire et suggèrent que la transition phénotypique des cellules REP en myofibroblastes, modulée par des molécules inflammatoires, peut expliquer le défaut de production d'EPO lors de MRC.

D'autre part, 10% de l'EPO circulante n'est pas produite par le rein mais par d'autres sources comme le foie, le cerveau, les testicules et plus anecdotiquement par les poumons et la rate. Cependant, pour des raisons inconnues, ces sources alternatives ne compensent pas le défaut de production rénale en EPO lors de MRC (Polzin, 2011).

Les études chez les carnivores domestiques ont montré que les animaux atteints de MRC et anémiques ont une carence en EPO relative plutôt qu'un déficit absolu. Il a été rapporté dans plusieurs études, des chats anémiés par une MRC avec des concentrations plasmatiques en EPO dans les normes. Cependant, la concentration plasmatique en EPO de ces animaux était basse par rapport à la sévérité de leur anémie, objectivée par un hémocrite très bas. L'hypoxie rénale associée à l'anémie devrait en temps normal provoquer une forte élévation de la concentration plasmatique en EPO par rapport aux normes physiologiques (King *et al.*, 1992 ; Cook et Lothrop, 1994 ; Pechereau *et al.*, 1997 ; Polzin, 2011).

ii. Les carences

Comme vu précédemment, l'une des complications de la MRC est le développement d'une anorexie qui peut être à l'origine de carences en fer ou en vitamines.

- Carence en fer

Le fer est un élément indispensable à l'érythropoïèse. Comme nous l'avons vu précédemment, le maintien de l'homéostasie du fer est lié à la régulation de son absorption intestinale, elle-même dépendante de sa biodisponibilité dans l'alimentation. Ainsi, lors d'anorexie associée à la MRC, l'absorption en fer diminue ce qui peut entraîner une réduction des stocks de fer. Cette baisse des taux en fer de l'organisme peut encore être accentuée par l'existence de saignement digestifs aggravant la perte de fer (*cf* ci-dessous).

La restriction de l'érythropoïèse du fait d'une carence en fer est une situation fréquente chez les sujets insuffisants rénaux, humains ou animaux. Deux catégories de déficits en fer peuvent exister lors de MRC: un déficit absolu en fer (carence d'apport, malnutrition) et un déficit fonctionnel (augmentation de la consommation ou augmentation des pertes) (Langston, 2008 ; McCown et Specht, 2011 ; Bohn, 2013). Le déficit en fer est relativement courant chez le chat et le chien en MRC. En effet beaucoup de chiens et de chats atteints de MRC ont une concentration sérique en fer subnormal et un taux de saturation de la transferrine inférieur à 20%. Cependant, il est difficile de savoir lequel des mécanismes précédemment cités est prépondérant dans la mise en place de ce déficit (Cowgill, 1992 ; Hasler, 2012).

- Carences en vitamines

Une étude menée chez le chien a montré que les concentrations sanguines en cobalamine, vitamine E, vitamine B7 et en pantothénate des chiens atteints de MRC n'étaient pas significativement différents des chiens sains alors que les concentrations sanguines en vitamine D et en folate des chiens atteints de MRC étaient diminuées par rapport aux chiens sains. Les vitamines B1, B2 et B6 étaient augmentées chez les chiens en MRC par rapport aux chiens sains. La carence en vitamine B12 semble rare en cas de MRC (Galler *et al.*, 2012).

Parmi ces vitamines seules les carences en B6 et B9 semblent jouer un rôle dans l'anémie :

- La vitamine B6 (pyridoxine) est un cofacteur indispensable à la première étape de la synthèse de l'hème. Des cas d'anémies secondaires à une carence sont décrits chez le chat et le chien mais uniquement en conditions expérimentales (Smith *et al.*, 1943 ; Bai *et al.*, 1989).
- Les folates sont nécessaires à la synthèse de l'ADN. Un déficit en folates entraîne une anomalie de synthèse des acides nucléiques et une érythropoïèse anormale. L'asynchronisme entre la maturation nucléaire et la maturation cytoplasmique a pour conséquence une érythropoïèse inefficace. Chez l'Homme, le développement d'une anémie mégaloblastique secondaire à une carence en vitamine B9 (folates ou acide folique) est bien connu (Kaneko *et al.*, 2008). Ces anémies sont en revanche très rarement rapportées chez le chat ou le chien.

Chez l'homme ces carences peuvent aussi être occasionnées par des pertes durant l'hémodialyse mais les carences sont rares en raison de la prise en charge nutritionnelle fréquemment mise en place chez ces patients (Babitt et Lin, 2012).

Ces carences semblent être des facteurs aggravant l'anémie plutôt qu'une cause de l'anémie.

iii. « Toxines Urémiques »

L'existence d'inhibiteurs de l'érythropoïétine induit par l'urémie des patients atteints de maladie rénale chronique a été mis en évidence dans plusieurs publications (Radtke *et al.*, 1979 ; Radtke *et al.*, 1981 ; Brunati *et al.*, 1992). Ces toxines raccourciraient la durée de vie des hématies notamment par une action oxydative et aurait également une action directe sur les précurseurs de la lignée rouge (Lahera *et al.*, 2006 ; Chalhoub *et al.*, 2011). Aujourd'hui ces inhibiteurs induits par l'urémie sont encore mentionnés dans les publications traitant de l'anémie d'origine rénale mais leur rôle dans cette anémie est sujet à controverse (Babitt et Lin, 2012). De plus, l'efficacité des érythropoïétines de synthèse dans la correction de cette anémie démontre que l'action de ces toxines sur l'érythropoïèse n'est pas significative (Shih *et al.*, 2018).

Parmi ces toxines ont été identifiées les polyamines (spermine, spermidine, putrécine et cadavérine) dont les concentrations plasmatiques sont élevées chez les patients urémiques (Macdougall, 2001). Les cytokines inflammatoires et la PTH sont considérées dans certaines études anciennes comme des inhibiteurs de l'érythropoïétine induit par l'urémie mais elles sont dans les études plus récentes traitées comme des entités à part. Aucune autre toxine urémique n'est clairement identifiée à ce jour (Babitt et Lin, 2012).

L'implication de ces toxines dans l'anémie d'origine rénale semble réduite mais elles sont incriminées dans d'autres anomalies liées à la MRC comme les thrombocytopathies et les saignements.

iv. Saignements digestifs

Lors de MRC, des saignements digestifs peuvent aussi être à l'origine d'une aggravation de la carence en fer. Ces phénomènes sont liés à un taux d'urée plasmatique important entraînant des ulcérations digestives, ainsi qu'à des troubles de la coagulation.

- Importance chez l'homme

Chez l'homme, il a été montré que les patients azotémiques sous hémodialyse ou non ont des pertes sanguines intestinales augmentées par rapport au reste de la population (Rosenblatt *et al.*, 1982). Ces pertes sanguines sont la plupart du temps occultes. La prévalence de ces saignements occultes chez les patients atteints de MRC a été estimée à 19% par des tests sur des prélèvements de matière fécale (Akmal *et al.*, 1994). Une étude chez des patients atteints de MRC et de saignements intestinaux occultes a montré par vidéo-endoscopie par capsule, l'absence d'une source identifiable des saignements de type ulcère ou angiodysplasie chez 29,4% des patients testés.

- Importance chez le chien

Chez le chien, une étude s'intéressant aux lésions histologiques gastriques trouvées à l'autopsie chez 28 chiens atteints de MRC a mis en évidence des lésions de la paroi gastrique chez la plupart des chiens (22/28). Cependant, les lésions retrouvées étaient majoritairement de type œdème, vasculopathie et minéralisations. Les résultats de cette étude mettent en évidence que les lésions de type ulcérations sont rares chez le chien contrairement à l'homme chez qui ces ulcérations sont la dominante pathologique en cas d'atteinte intestinale urémique (Peters *et al.*, 2005). Une seconde étude chez le chien a mis en évidence une haute fréquence des saignements gastro-intestinaux

occultes lors de MRC avec une incidence significativement plus importante que chez les chiens sains. Dans cette étude, 90% des chiens avec une MRC de stade IRIS 2 présentaient des saignements intestinaux occultes et seulement 20% étaient anémiés. L'incidence des saignements digestifs occultes augmentait avec le stade IRIS de la MRC dans cette étude (Crivellenti *et al.*, 2017). Ainsi, le chien atteint de MRC présente des saignements digestifs qui peuvent notamment être à l'origine d'une perte de fer.

- Importance chez le chat

Chez le chat, une étude s'intéressant aux lésions histologiques gastriques trouvées à l'autopsie chez 37 chats atteints de MRC montrait une plus faible incidence des lésions de la paroi gastrique chez ces chats MRC que chez le chien. Dans cette étude, les lésions histologiques les plus importantes observées étaient la minéralisation pariétale (38%) et la fibrose (43%). Il n'y avait des signes d'ulcérations, d'œdème ou de vasculopathie chez aucun des chats de l'étude. De plus la gastrinémie était significativement plus élevée chez les chats atteints de MRC que chez les chats sains (McLeland *et al.*, 2014). Une seconde étude menée chez le chat a comparé le pH gastrique et la gastrinémie entre des chats atteints de MRC et des chats sains. Cette étude n'a mis en évidence aucune différence significative des pH gastriques et des gastrinémies entre les deux groupes (Tolbert *et al.*, 2017). Cette dernière étude comportait cependant beaucoup moins de cas que la précédente. Les résultats de ces deux études montrent que les gastropathies urémiques du chat liées à la MRC sont différentes de ce qui est décrit chez les autres espèces. Ainsi, l'hypothèse selon laquelle une augmentation de la gastrinémie par diminution de sa clairance rénale chez les animaux atteints de MRC serait à l'origine d'une hyperacidité gastrique provoquant des ulcères et des saignements de la paroi de l'estomac est invalidée chez le chat par ces deux études.

v. *Hyperparathyroïdie secondaire d'origine rénale*

L'hyperparathyroïdie secondaire est une complication de la MRC fréquemment rencontrée chez les carnivores domestiques. Plus la maladie rénale est avancée, plus l'hyperparathyroïdie secondaire est prononcée (Bartges, 2012). C'est une cause d'anémie rénale moins reconnue mais qui dans l'état des preuves actuelles est potentiellement significative. Chez l'homme, certaines études chez des patients ayant une fonction rénale normale mais atteints d'hyperparathyroïdie primaire ont mis en évidence l'apparition d'une anémie liée à un excès de PTH. (Macdougall, 2001 ; Tanaka *et al.*, 2018). De plus, il a été mis en évidence chez des patients anémiés et atteints d'hyperparathyroïdie secondaire à une MRC que la correction de cette hyperparathyroïdie par parathyroïdectomie, calcimimétiques ou des activateurs des récepteurs à la vitamine D, améliorait l'anémie de ces patients (Tanaka *et al.*, 2018). Une autre étude a démontré que de hautes concentrations sériques en PTH chez des patients sous dialyse étaient associées à une réponse anormalement faible au traitement aux érythropoïétines de synthèse (Kalantar-Zadeh *et al.*, 2009).

Plusieurs pathogénies de l'anémie rénale liée à l'hyperparathyroïdie ont été mises en évidence :

Le premier mécanisme impliqué serait une myélofibrose induite par la PTH. Une étude a mis en évidence que les patients qui répondent mal au traitement aux érythropoïétines de synthèse ont des pourcentages plus élevés de surfaces osseuses ostéoclastiques et érodées, et un degré de

myélofibrose plus important associé à des valeurs plus élevées de la PTH sanguine que les patients avec une bonne réponse au traitement (Rao *et al.*, 1993).

La seconde pathogénie mise en évidence est une inhibition directe de la synthèse d'EPO au niveau rénal. En effet la réalisation d'une parathyroïdectomie chez des patients anémiés et atteints d'hyperparathyroïdie secondaire à une MRC entraîne une augmentation significative de la concentration sanguine en érythropoïétine. Le mécanisme de cette inhibition n'est pas connu (Ureña *et al.*, 1991 ; Washio *et al.*, 1992).

Enfin, un troisième mécanisme serait une inhibition directe des cellules progénitrices de la lignée rouge dans la moelle osseuse. Par des injections de PTH, des chercheurs ont augmenté la concentration sanguine en cette hormone chez des souris jusqu'à des seuils rencontrés chez les patients urémiques. L'observation de la moelle osseuse de ces souris a révélé une inhibition marquée des cellules BFU-E (Meytes *et al.*, 1981). Cependant, des études ultérieures similaires n'ont pas reproduit ce résultat ce qui remet en cause une action directe de la PTH sur la moelle osseuse (Tanaka *et al.*, 2018).

Un quatrième mécanisme est la réduction de la durée de vie des hématies. La PTH induit une fragilité osmotique des hématies en favorisant l'entrée de calcium dans celles-ci (Bogin *et al.*, 1982).

vi. *Inflammation et carence en fer*

- *Urémie et inflammation chez l'Homme*

Chez l'homme, les patients souffrants de MRC sont caractérisés par un état inflammatoire systémique (Cernaro *et al.*, 2019). Même en l'absence de tout processus infectieux ou inflammatoire initial, de nombreux individus urémiques présentent une concentration sérique accrue en protéines de la phase aiguë de l'inflammation (CRP, ferritine, fibrinogène, IL-6, IL-1, TNF- α , IFN- γ et autres cytokines...)(Panichi *et al.*, 2000 ; Pecoits-Filho *et al.*, 2003). L'état inflammatoire associé à l'insuffisance rénale chronique est souvent faible à modéré (Macdougall et Cooper, 2005 ; Raj, 2009).

Plusieurs éléments peuvent expliquer le développement d'un état inflammatoire chronique chez les individus urémiques. Tout d'abord, le microenvironnement inflammatoire existant lors d'urémie est directement responsable d'une activation des cellules immunitaires, monocytes et lymphocytes T. Intervient ensuite la clairance défectueuse des cytokines pro-inflammatoires, à laquelle peuvent s'ajouter une infection sous-jacente non révélée, l'accumulation des déchets glyqués et la diminution de l'activité anti-oxydante du plasma (Macdougall et Cooper, 2005). Enfin, l'hypoxie chronique, la fibrose tubulo-interstitielle et la glomérulosclérose mises en place lors de MRC constitueraient également des facteurs d'apparition, de maintien et d'aggravation de l'inflammation et de l'insuffisance rénale. L'origine de l'hypoxie est plurifactorielle : l'anémie, la diminution du flux capillaire dans la microvascularisation rénale, l'augmentation de la distance de diffusion liée à l'accumulation de matrice extracellulaire, l'augmentation des facteurs vasoconstricteurs (angiotensine II), la diminution des facteurs vasodilatateurs (oxyde nitrique), l'augmentation des besoins métaboliques des supers néphrons qui produisent eux-mêmes un excès de substances oxydantes réactives, sont autant de causes d'hypoxie chronique (Norman et Fine, 2006 ; Gobe *et al.*, 2007 ; Lee *et al.*, 2008). Pour finir, il n'est pas rare que les MRC soient associées à des comorbidités diverses, elles-mêmes responsables d'une inflammation systémique (maladies infectieuses, auto-immunes, diabète, hypertension artérielle, insuffisance cardiaque congestive...) (Thorpe *et al.*, 2009).

- Chez les carnivores domestiques

Chez le chat, une étude comparant les concentrations sanguines en certaines protéines de la phase aigüe (SAA et hepcidine) entre des chats atteints de MRC et de chats sains a mis en évidence des concentrations significativement plus élevées en ces protéines chez les chats atteints de MRC. Dans cette étude, il y avait une corrélation significativement positive entre la concentration sérique en créatinine et les concentrations sériques en SAA et hepcidine. Ces données suggèrent que la MRC est associée à une inflammation systémique chez le chat (Javard *et al.*, 2017)

Chez le chien, une étude a mis en évidence une élévation marquée des protéines de l'inflammation (cytokines IL-1 α , IL-1 β , TNF- α et l'enzyme 5-LO) chez les chiens atteints de MRC ou d'insuffisance rénale aigüe (IRA) par rapport aux chiens sains. Il n'y avait pas de différence significative de concentrations sériques des différentes protéines inflammatoires entre le groupe IRA et le groupe MRC. Ces données suggèrent que la MRC est associée à une inflammation systémique chez le chien (Nentwig *et al.*, 2016)..

Le lien entre l'inflammation et l'anémie est abordé dans la partie suivante.

vii. Durée de vie érythrocytaire

La durée de vie des hématies lors de MRC est comprise entre un tiers et deux tiers de la durée de vie normale selon différentes études. Cependant ces études sont difficilement comparables car elles n'utilisent pas les mêmes méthodes d'analyse et n'ont, pour la plupart, pas de groupe témoin. L'étude la plus récente utilisant un groupe témoin a mesuré une diminution de 20% de la durée de vie des hématies lors de MRC chez l'homme (Vos *et al.*, 2011). La réduction de la durée vie des hématies lors de MRC est multifactorielle. Les mécanismes explicatifs proposés par la littérature scientifique sont l'environnement urémique et l'hyperparathyroïdie secondaire comme vu précédemment. A cela il faut ajouter, l'inflammation, cause pour laquelle le mécanisme explicatif est abordé ultérieurement et le stress oxydatif principalement relié aux toxines urémiques. Une étude a mis en évidence une augmentation de certains marqueurs du stress oxydatif intra-érythrocytaire et sérique chez les chiens atteints de MRC (Kogika *et al.*, 2015). Chez l'homme l'hémodialyse est également responsable d'une lésion mécanique des hématies.

c. Pronostic

Le pronostic de l'anémie d'origine rénale est à relier avec celui de la maladie rénale chronique

i. Pronostic de la maladie rénale chronique

Chez le chat et le chien atteints de MRC, la classification IRIS est un véritable outil pronostic. Une étude chez le chien et une étude chez le chat se sont intéressées aux temps de survie de ces animaux en fonction de leur stade IRIS (tableaux 9 et 10).

Tableau 9 : Temps de survie en fonction du stade IRIS chez les chats atteints de MRC (modifié à partir de Boyd *et al.*, 2008)

Survie (en jours)	Stade IRIS II	Stade IRIS III	Stade IRIS IV
Survie à partir du diagnostic	1151 [1014 ; 1565]	778 [445 ; 910]	103 [37 ; 216]
Survie après correction de l'azotémie prérénale	1151 [1014 ; 1565]	679 [445 ; 910]	35 [21 ; 99]

*Les deux temps de survie au stade IRIS II ne sont pas significativement différents entre eux, sinon tous les temps de survie du tableau sont significativement différents deux à deux.

Tableau 10 : Temps de survie en fonction du stade IRIS chez les chiens atteints de MRC (d'après Rudinsky *et al.*, 2018)

Survie (en mois)	Stade IRIS II	Stade IRIS III	Stade IRIS IV
Survie à partir du diagnostic	14,78 [9,14 ; 37,39]	11,14 [0,46 ; 38,35]	1,98 [0,32 ; 12,78]

*Les temps de survie du tableau sont significativement différents deux à deux

ii. Influence de l'anémie sur le pronostic de la maladie rénale chronique

L'étude, précédemment citée, de King *et al.* ayant permis d'établir la prévalence de l'anémie chez le chat atteint de MRC en fonction de son stade IRIS s'est intéressée aux facteurs influençant le pronostic des chats de leur étude. Dans cette étude, les chats ayant un hémocrite inférieur à 25% et/ou une concentration en hémoglobine inférieure à 9 g/dL avaient en moyenne 3,5 fois plus de risques d'atteindre le terme final de l'étude ou pour simplifier, de mourir de leur insuffisance rénale. Ainsi, l'anémie chez le chat atteint de MRC aggrave significativement le pronostic vital des individus. Selon la même étude, plus l'on progresse dans les stades IRIS de la MRC, plus l'anémie est fréquente, plus elle s'aggrave, et plus le risque mortel associé s'accroît (King *et al.*, 2007). Chez le chat atteint de MRC, il est donc important de prendre en charge toute anémie dès les stades précoces pour améliorer le pronostic vital des individus.

Chez le chien, un travail identique a été réalisé dans l'étude de Rudinsky *et al.*, précédemment citée. Dans cette étude, la valeur de l'hématocrite n'était pas associée à la survie du chien de manière significative. Ainsi dans cette étude, l'anémie n'était pas associée à une durée de vie raccourcie et n'avait donc pas d'influence sur le pronostic de la MRC (Rudinsky *et al.*, 2018). Le traitement de l'anémie d'origine rénale chez le chien aurait donc comme intérêt principal la résolution des symptômes de cette anémie et l'amélioration du confort de vie de l'animal.

Chez l'homme, une étude menée chez des patients atteints de MRC dans le cadre d'une néphropathie diabétique a classé 29 paramètres selon leur capacité à prédire un risque accru d'atteindre le stade terminal de la MRC pour ces patients. L'hémoglobinémie s'est placée en troisième position après la protéinurie et la créatinémie. Ainsi les patients avec une faible valeur initial d'hémoglobinémie ont un fort risque de progression de leur MRC jusqu'au stade terminal indépendamment de leur fonction rénale et de la protéinurie initiale (Shahinfar *et al.*, 2005).

L'influence de l'anémie sur le pronostic de la MRC observée chez le chat et l'homme s'explique par les effets de l'hypoxie sur le tissu rénal. En effet, l'anémie provoque ou aggrave l'hypoxie du tubule rénal. Cette hypoxie majore l'installation de la fibrose tubulo-interstitielle rénale et accélère l'évolution de la MRC (Schmiedt *et al.*, 2016).

B. Les Anémies d'origine inflammatoire

1) *Présentation de l'anémie inflammatoire*

a. Contexte

Chez l'homme, l'anémie Inflammatoire est un phénomène physiopathologique que l'on retrouve dans de nombreuses maladies notamment les infections chroniques, les maladies auto-immunes, les cancers, la maladie rénale chronique et dans les défaillances cardiaques. D'autres exemples moins documentés peuvent être cités comme les maladies pulmonaires obstructives chroniques, l'hypertension artérielle pulmonaire, l'obésité, les maladies hépatiques chroniques et l'athérosclérose (Naigamwalla *et al.*, 2012 ; Madu et Ughasoro, 2017 ; Weiss *et al.*, 2019).

Chez les carnivores domestiques, l'anémie inflammatoire est associée à diverses maladies comme des infections, des maladies inflammatoires, des maladies auto-immunes et des cancers (Fry, 2010 ; Waner et Harrus, 2012).

b. Incidence

L'anémie inflammatoire est qualifiée par certains auteurs comme l'anémie la plus commune en médecine vétérinaire et humaine mais elle reste largement sous-diagnostiquée (Fry, 2010 ; Waner et Harrus, 2012 ; Chikazawa et Dunning, 2016)

Chez le chien, une étude recensant les causes d'anémie de 456 chiens en excluant les hémorragies a placé l'anémie d'origine inflammatoire comme la seconde cause la plus fréquente d'anémie (28,5%). Cependant, seuls les chiens avec une inflammation mais sans signe d'infection, de cancer ou de maladie auto-immune étaient comptabilisés comme atteint d'anémie inflammatoire. Les auteurs ont souligné ce fait comme une limite de leur étude car les infections, les cancers et les maladies auto-immunes s'accompagnent fréquemment de phénomènes inflammatoires mais dans ces cas, il est difficile de déterminer le mécanisme prépondérant de l'anémie (Chervier *et al.*, 2012). Ainsi, l'incidence de l'anémie d'origine inflammatoire pourrait être sous-évaluée.

Chez le chat, dans une étude portant sur 180 chats et visant à classer les anémies selon leur étiologie, les maladies infectieuses étaient la première cause (21,7% des cas) et l'anémie des maladies inflammatoires chroniques représentaient seulement 6,1% des cas. Cependant, l'anémie d'origine inflammatoire se développe aussi dans le cadre de maladies infectieuses, or les auteurs classent chaque cas dans une unique catégorie étiologique. La proportion d'anémie des maladies inflammatoires chroniques est donc certainement sous-estimée dans cette étude (Korman *et al.*, 2013).

c. Description de l'anémie

i. Caractéristiques hématologiques

Chez l'homme comme chez les carnivores domestiques, l'anémie inflammatoire est caractérisée généralement comme une anémie légère à modérée normochrome, normocytaire et

hyporégénérative associée une hypoférrémie et une diminution de la capacité totale de fixation du fer de l'organisme (qui correspond à la capacité de saturation de la transferrine) (Fry, 2010 ; Weiss *et al.*, 2019). L'hématocrite descend rarement en dessous de 20% chez le chien et de 15% chez le chat (Waner et Harrus, 2012).

Le myélogramme est caractérisé par une hypoplasie érythroïde souvent associée à une hyperplasie myéloïde (Abella-Bourgès *et al.*, 2005)

Avec le temps, l'anémie inflammatoire peut évoluer vers une anémie hypochrome et microcytaire. Pour cette raison, beaucoup d'auteurs dans la littérature vétérinaire et humaine insistent sur le risque de confusion de l'anémie inflammatoire avec une anémie purement martiale (c'est-à-dire par carence en fer). Cette dernière se distingue de l'anémie inflammatoire par des niveaux de ferritine plasmatique très bas, une absence de régénération inconstante et par son caractère hypochrome et microcytaire dès ses premières manifestations (Naigamwalla *et al.*, 2012 ; Waner et Harrus, 2012 ; Madu et Ughasoro, 2017 ; Weiss *et al.*, 2019).

ii. Signes cliniques

Les signes cliniques de l'anémie inflammatoire chez les chiens et les chats sont similaires à ceux que l'on retrouve couramment dans les autres anémies incluant une pâleur des muqueuses et de la peau, de la tachycardie, de la tachypnée, une léthargie, une faiblesse, et de l'anorexie. A ces symptômes peuvent être associés une large variété d'autres signes cliniques liés à l'affection sous-jacente causant l'anémie (Waner et Harrus, 2012).

2) Physiopathologie de l'anémie inflammatoire

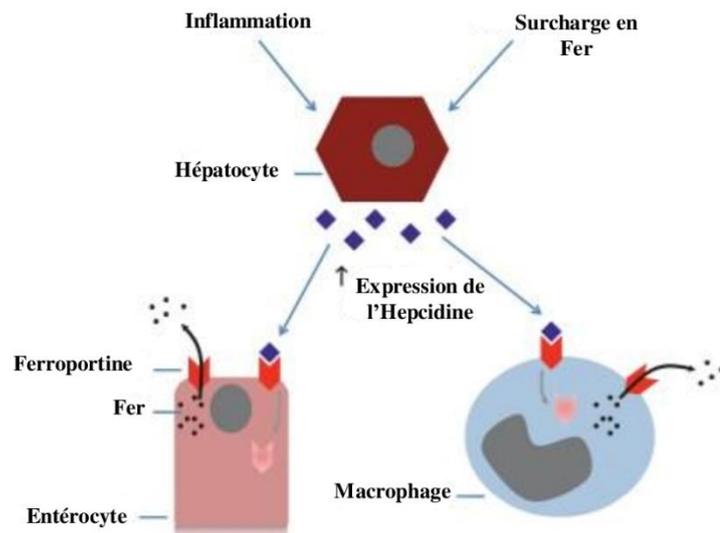
L'anémie inflammatoire s'explique par 3 mécanismes physiopathologiques communs à toutes ces maladies et par des mécanismes spécifiques à chacune de ces maladies.

a. Réduction de l'absorption du fer

En réponse à des antigènes microbiens comme les LPSs, des auto-antigènes, ou des antigènes tumoraux, de nombreuses cytokines inflammatoires sont libérées par les cellules du système immunitaire. Celles-ci altèrent le métabolisme du fer. On suppose que de nombreuses cytokines sont impliquées mais l'action de l'interleukine 6 a été clairement mise en évidence.

Comme détaillé précédemment, les cytokines inflammatoires ont une action sur les hépatocytes. Celles-ci induisent la libération d'hepcidine ce qui à terme provoque la réduction de l'absorption intestinale de fer et la séquestration de ce dernier dans les macrophages par destruction de la ferroportine (figure 15). Les LPS bactériens et IL-6 sont particulièrement impliqués dans ce mécanisme (Galushko, 2014). Il a été de plus démontré qu'à de hautes concentrations plasmatiques, l'hepcidine pourrait inhiber les flux de fer en bloquant directement la ferroportine (Aschemeyer *et al.*, 2018).

Figure 15 : Action de l'inflammation sur la disponibilité du fer *via* l'hepcidine (modifiée à partir de Fry, 2010)



D'autres mécanismes expliquant la déficience en fer durant une inflammation ont été mis en évidence :

- Les Tumor Necrosis Factors (TNF) réduisent l'absorption duodénale du fer par un mécanisme encore peu connu mais indépendant de l'hepcidine (Atkinson *et al.*, 2008).
- Les cytokines IL-1, IL-6, IL-10 ou encore TNF-alpha stimulent l'entrée de fer dans les macrophages par des récepteurs à transferrine (TfR) ou des transporteurs de métal divalent (DMT1). Ce fer est ensuite séquestré en raison de la destruction de la ferroportine par action de l'hepcidine (Nairz *et al.*, 2017).
- Les LPS et l'interféron gamma bloquent la transcription de la ferroportine et empêchent ainsi la sortie de fer des macrophages et entérocytes. Ils stimulent également l'entrée de fer dans les cellules *via* l'expression cellulaire de DMT1. Ainsi il y a moins de fer disponible dans le sang (Ludwiczek *et al.*, 2003).

Il existe encore un grand nombre de mécanismes mis en évidence. Tous ces événements conduisent à une carence en fer médiée par l'inflammation. Comme précédemment abordé, ces mécanismes sont une réaction de défense de l'organisme contre de possibles infections par retrait du fer du milieu extracellulaire.

La carence en fer conduit à une anémie par des actions sur l'érythropoïèse déjà détaillées précédemment.

b. Suppression de l'activité érythropoïétique

L'action directe de l'inflammation sur l'érythropoïèse se joue sur trois axes principaux.

Tout d'abord, l'inflammation réduit la production d'EPO. Des études *in vitro* ont montré que l'exposition aux cytokines IL-1, IL-6 et TNF-alpha réduit la production d'EPO par les cellules qui les

produisent (Jelkmann, 1998). Une étude a également mis en évidence une inhibition de l'activation des HIF par IL-1 en situation d'hypoxie dans les cellules produisant l'EPO, inhibant donc la transcription de l'EPO (Krajewski *et al.*, 2007). Cette action sur la production de l'EPO par l'inflammation est un élément clé de cette étude car elle justifie l'essai des traitements à base d'érythropoïétine de synthèse lors d'anémies inflammatoire.

Ensuite, l'inflammation entraîne une diminution de la réponse des récepteurs EPO_r à l'EPO. Une étude a montré qu'IL-6 et TNF-alpha sont impliqués dans ce mécanisme. Ces deux cytokines n'agissent pas sur la transcription du récepteur EPO_r, leur nombre à la surface des cellules progénitrices ne variant pas à leur exposition à IL-6 et TNF, mais inhibent directement la voie de transduction impliquant JAK2 et ainsi la réponse à l'EPO (Okonko *et al.*, 2013). L'IFN-gamma, quant à lui, régule négativement la transcription des récepteurs EPO_r des cellules progénitrices (Taniguchi *et al.*, 1997).

Enfin, l'inflammation a une action directe sur les cellules de la lignée rouge. Une étude montre que l'IFN-gamma sensibilise fortement les cellules CFU-E au stress oxydatif qui est lui-même une composante de l'inflammation. Cette sensibilisation entraîne une augmentation du taux d'apoptose des CFU-Es durant l'inflammation (Dallalio et Means, 2003).

Tous ces événements contribuent à réduire l'activité érythropoïétique et à provoquer une anémie. De plus, la réduction de la production d'EPO, de son effet sur les cellules progénitrices et la diminution de la prolifération de celles-ci, aboutissent à une diminution de la synthèse d'ERFE, molécule inhibant la synthèse d'hepcidine par le foie. Ainsi, cette action sur l'érythropoïèse contribue également à créer une carence en fer à son tour délétère à l'érythropoïèse.

c. Diminution de la survie des hématies

La destruction des hématies est un facteur mineur de l'anémie inflammatoire mais il est bien réel. Des études ont montré le lien entre la réduction de l'espérance de vie des hématies et l'exposition aux cytokines TNF-alpha et IFN-gamma (Moldawer *et al.*, 1989 ; Libregts *et al.*, 2011). De plus, l'inflammation provoque une augmentation de la phagocytose des hématies par les cellules hépatiques et spléniques expliquée par un dépôt non spécifique d'anticorps sur les hématies. Enfin, les phénomènes inflammatoires sont à l'origine de microangiopathies causant des dommages sur les hématies à leur passage (Weiss *et al.*, 2019).

3) **Pronostic**

Dans la littérature vétérinaire, il y a très peu de données sur le pronostic de l'anémie inflammatoire mais ce dernier semble fortement dépendant de la nature et de la résolution de l'affection causant cette anémie. Dans une étude rétrospective portant sur 21 chats atteints d'anémie inflammatoire associée à un pyothorax, des abcès ou à de la stéatonecrose, l'hématocrite se normalisait entre 2 et 39 jours après le traitement de la pathologie sous-jacente (Ottenjann *et al.*, 2006).

De plus, l'anémie inflammatoire peut être un facteur pronostic négatif de la maladie à l'origine de celle-ci. Ainsi dans une étude évaluant l'impact de l'anémie sur le temps de survie de chiens atteints de lymphome traité par chimiothérapie, l'anémie s'est révélée être un facteur de risque en faveur d'un pronostic sombre et d'une courte durée de survie (Abbo et Lucroy, 2007). Mais ce n'est pas le cas pour toutes les affections.

2. Traitement aux érythropoïétines de synthèse

A. Propriétés des érythropoïétines de synthèse

Les érythropoïétines de synthèse sont des ESA. Les ESA utilisées en médecine vétérinaire sont les mêmes qu'en médecine humaine, ce sont des recombinants humains de l'érythropoïétine. L'érythropoïétine est une glycoprotéique caractérisée par une chaîne d'acides aminés plus ou moins substitués par des résidus osidiques. La séquence d'acides aminés de l'érythropoïétine canine a 81,3% d'homologies avec l'érythropoïétine humaine contre 83,3% pour la féline. Cette haute conservation interspécifique de la séquence explique notamment la bonne réponse biologique des animaux traités par les recombinants de l'érythropoïétine humaine (Langston *et al.*, 2003).

1) *Synthèse et structure des ESAs*

a. Principe

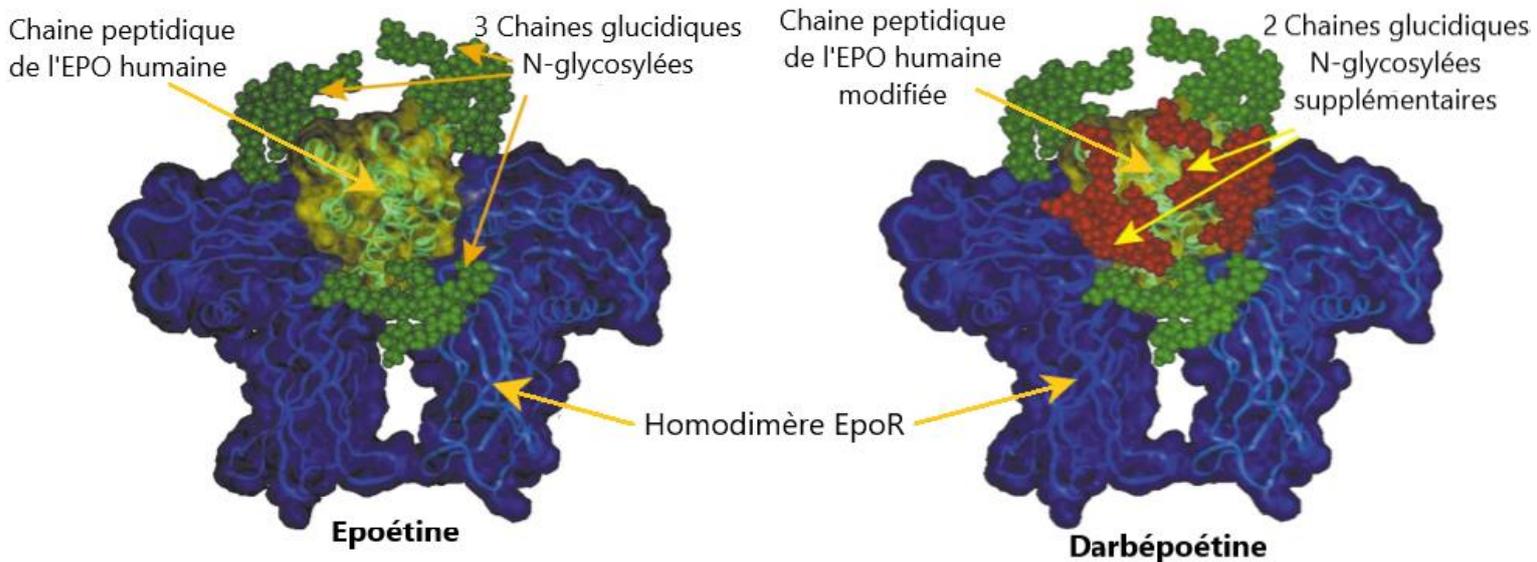
Différentes études ont montré que les chaînes glucidiques glycosylées sur l'EPO étaient différentes notamment en taille, en ramification et en quantité d'acide sialique qu'elles contiennent, selon la cellule qui exprimait ce gène. Ces différences de glycosylation aboutissent à différentes isoformes de l'érythropoïétine et une multitude d'isoformes peuvent être produites par une même cellule à partir du même gène de l'EPO. En utilisant cette propriété, il est possible d'introduire le gène de l'EPO humaine dans des cellules de différentes lignées pour obtenir de nouvelles isoformes que l'on nomme alors époétines (Storring *et al.*, 1998). Les trois époétines les plus répandues et utilisées en médecine vétérinaire sont l'époétine alpha, l'époétine bêta et la darbépoétine alpha. Compte tenu de la méthode de synthèse utilisée, les époétines ne diffèrent de l'EPO que par la nature et le nombre des glycosylations.

Des expériences comparant des isoformes différentes par la quantité d'acide sialique contenu sur leurs chaînes glucidiques, ont démontré qu'il y a une relation directe entre le nombre et la position des acides sialiques de l'EPO, sa pharmacocinétique et son activité biologique *in vivo*. Les chaînes de N-glycosylations semblent être impliquées dans cette relation alors que la chaîne d'O-glycosylation ne semble jouer aucun rôle. Ainsi, les isoformes d'EPO privées de leur O-glycosylation entraînent une réponse strictement similaire sur l'érythropoïèse que l'EPO, alors que les isoformes dépourvues de chaînes N-glycosylées sont inactives sur l'érythropoïèse (Testa, 2010 ; Uversky et Redwan, 2016).

Des expériences ont été menées par Egrie *et al* pour prouver l'existence d'un lien entre le nombre de résidus sialiques et l'activité biologique de l'isoforme. Pour réaliser ces expériences, des isoformes ont été séparées en fonction de leur nombre de résidus sialiques et chacune ont été injectées dans des groupes de souris différents. Les résultats de ces expériences montrent que plus le nombre de résidus sialiques portés par l'isoforme est élevé, plus la demi-vie d'élimination plasmatique est longue mais plus l'affinité pour le récepteur est faible. Ainsi, ces résultats indiquent que les chaînes glucidiques de l'EPO jouent un rôle important dans son activité biologique *in vivo* (Egrie *et al.*, 1993).

b. Synthèse et structure

Figure 16 : Structure de l'époétine alpha et de la darbépoétine fixées aux récepteur EPOr (Modifiée à partir d'Elliott *et al.*, 2003)



i. Les époétines alpha et bêta

Les époétines alpha et bêta sont des érythropoïétines synthétisées par l'introduction du gène de l'EPO humaine dans le génome de cellules d'ovaire d'hamster chinois (CHO). Ces deux produits diffèrent par le processus de purification qu'ils subissent. Comme l'EPO humaine, les époétines possèdent un site de O-glycosylation et trois sites de N-glycosylation (figure 16) (Uversky et Redwan, 2016). Elles ont également toutes deux la même masse moléculaire que l'EPO humaine soit 30,4 KDa. Des études chromatographiques, densitométriques, électrophorétiques et de caractérisation isoélectrique ont comparé les époétines alpha et bêta commercialisées par différents laboratoires pharmaceutiques. Ces études ont montré qu'il y a une subtile différence des isoformes contenues dans des époétines alpha et bêta en fonction du laboratoire qui les commercialise. Ces études ont mis en évidence cinq isoformes dans les différentes époétines alpha commercialisées et entre six et sept isoformes dans les époétines bêta commercialisées. Les isoformes contenues dans l'époétine bêta ont en moyenne des chaînes glucidiques plus légères, contenant moins d'acide sialique que celles de l'époétine alpha (Storring *et al.*, 1998).

ii. La darbépoétine

La darbépoétine alpha est obtenue par la modification génétique du gène de l'EPO. Cette modification consiste en un changement de 5 acides aminés de la chaîne peptidique de l'EPO. Ce gène modifié a également été inclus dans le génome de cellules d'ovaire d'hamster chinois. Le résultat de cette modification est la présence de deux nouvelles N-glycosylations sur la chaîne peptidique, ce qui porte le total à 5 N-glycosylations (figure 16). La darbépoétine alpha contient plus de chaînes polysacharides. Elle contient 4 résidus d'acide sialique chargés négativement de plus

que les époétines alpha et bêta, elle a donc une charge négative plus importante que ces époétines. Sa masse moléculaire est plus importante que l'EPO humaine et que les époétines alpha et bêta, elle est de 37 KDa (Testa, 2010 ; Uversky et Redwan, 2016).

La darbépoétine possédant beaucoup plus de résidus sialiques dans son glyco-calix que les époétines alpha et bêta, on peut s'attendre à ce qu'elle ait une demi-vie d'élimination plasmatique plus longue et une affinité plus faible pour son récepteur EPOr que ces époétines (Egrie *et al.*, 2003).

2) **Pharmacologie de la darbépoétine**

Dans cette partie nous nous intéressons plus spécifiquement aux données relatives à la pharmacologie de la darbépoétine.

a. Pharmacocinétique

i. *Absorption*

La darbépoétine est une glycoprotéine, elle est donc digérée après administration orale et sa biodisponibilité est nulle par voie entérale. Elle est donc administrable uniquement par injection intraveineuse ou par injection sous cutanée. Chez l'homme, la biodisponibilité après injection sous cutanée est d'environ 37 – 48 % après une dose de 0,75 µg/kg. Cette biodisponibilité assez faible est probablement liée à l'existence d'enzymes lymphatiques protéolytiques qui sont responsables d'une dégradation de la molécule au point d'injection. Néanmoins, ce phénomène est saturable et les données montrent que la biodisponibilité peut monter jusqu'à 78 % chez l'Homme, après une dose de 8µg/kg (Agoram *et al.*, 2007).

Le temps nécessaire pour atteindre la concentration sérique maximale (T_{max}) après injection sous-cutanée de la molécule est très long, pouvant aller de 24 h jusqu'à 54 h suivant les études chez l'Homme (Macdougall *et al.*, 1999). L'absorption de la molécule est relativement lente avec une demi-vie d'absorption égale à environ 32.7 h (Agoram *et al.*, 2007).

ii. *Distribution*

Chez l'Homme, le volume de distribution (Vd) est approximativement égal au volume plasmatique (0,5L/kg) ce qui suggère que la distribution de la darbépoétine est essentiellement limitée au compartiment vasculaire. Néanmoins, les modélisations pharmacocinétiques suggèrent que l'évolution de la concentration en darbépoétine au cours du temps est décrite par un modèle bi-compartimental, ce qui suggère l'existence d'une phase non négligeable de distribution (Agoram *et al.*, 2007 ; An *et al.*, 2017). Des études suggèrent que la darbépoétine pourrait subir une redistribution à la lymphe, grâce à un passage au travers de capillaires fenestrés. Cela pourrait ainsi expliquer l'existence d'un second compartiment bien que les structures protéiques soient théoriquement confinées au compartiment plasmatique (Doshi *et al.*, 2010).

iii. *Métabolisme et élimination*

Les données concernant les voies de métabolisme et de l'élimination de la darbépoétine sont assez peu nombreuses. L'hypothèse la plus communément admise est aujourd'hui que cette molécule n'est pas métabolisée ni éliminée par les voies conventionnelles mais reste fixée de manière irréversible aux récepteurs à l'EPO avant d'être endocytée (Gross et Lodish, 2006 ; Agoram *et al.*, 2009). Cette hypothèse a été validée sur des modèles *in vitro* montrant que les seules cellules capables de dégrader les époétines sont celles qui expriment le récepteur EPOr. Cette hypothèse permet d'expliquer que les molécules ayant la plus faible affinité pour l'EPOr (en l'occurrence la

darbépoétine) ont donc une élimination prolongée (Doshi *et al.*, 2010). Néanmoins, l'une des implications de cette hypothèse est que la pharmacocinétique des ESA serait non linéaire avec des phénomènes de saturation, ce qui n'est pas observé aujourd'hui (Agoram *et al.*, 2007 ; An *et al.*, 2017). Il est donc probable que d'autres mécanismes soient impliqués.

Une très faible fraction de la dose administrée se retrouve dans les urines et des expériences menées chez des chiens néphrectomisés montrent que cela n'influence pas la vitesse d'élimination de l'EPO (Fu *et al.*, 1988). De la même façon, les données cliniques obtenues chez l'Homme montrent aussi que la pharmacocinétique de la darbépoétine n'est pas influencée par l'existence d'une insuffisance rénale. D'autres études ont aussi montré que la clairance de la darbépoétine est identique chez les patients atteints d'insuffisance rénale ou volontaire sains (Zhang *et al.*, 2009 ; Testa, 2010). Les études précliniques n'ont montré qu'une clairance rénale minimale (jusqu'à 2 % de la clairance totale) qui n'a aucune influence sur la demi-vie d'élimination plasmatique. Chez l'Homme, la clairance de la darbépoétine alfa est de 1,9 ml/h/kg.

La demi-vie d'élimination plasmatique de la darbépoétine est d'environ 23,5 h après une injection intraveineuse et de 70 h par injection sous-cutanée. (Zhang *et al.*, 2009 ; Testa, 2010). La demi-vie d'élimination terminale prolongée de la darbépoétine administrée par voie sous-cutanée comparée est donc plus importante que celle après administration par voie intraveineuse. Cela provient du fait que la demi-vie d'absorption de la molécule est relativement élevée (entre 24 h et 54 h, cf ci-dessus). Cette proximité entre la demi-vie d'élimination et d'absorption est responsable d'un phénomène de flip-flop pharmacocinétique qui entraîne une influence de la vitesse d'absorption sur la vitesse d'élimination (Agoram *et al.*, 2007 ; An *et al.*, 2017). Cela explique que la darbépoétine ait donc une demi-vie variable suivant la voie d'administration.

Dans tous les cas, on notera que les temps de demi-vie d'élimination plasmatique des autres époétines alpha et bêta après administration par voie intraveineuse est beaucoup plus faible que celui de la darbépoétine, puisqu'ils sont généralement compris entre 5 et 11 h. En cela, les époétines alpha et bêta ont une demi-vie proche de l'EPO, variant entre 6 et 10h. Leur temps de demi-vie d'élimination après administration par voie sous-cutanée est compris entre 20 et 25h (Testa, 2010). Chez le chien, la demi-vie d'élimination plasmatique de la darbépoétine après injection intraveineuse est de 25 heures contre 7,2 heures pour les époétines alpha ou bêta (Egrie *et al.*, 2003).

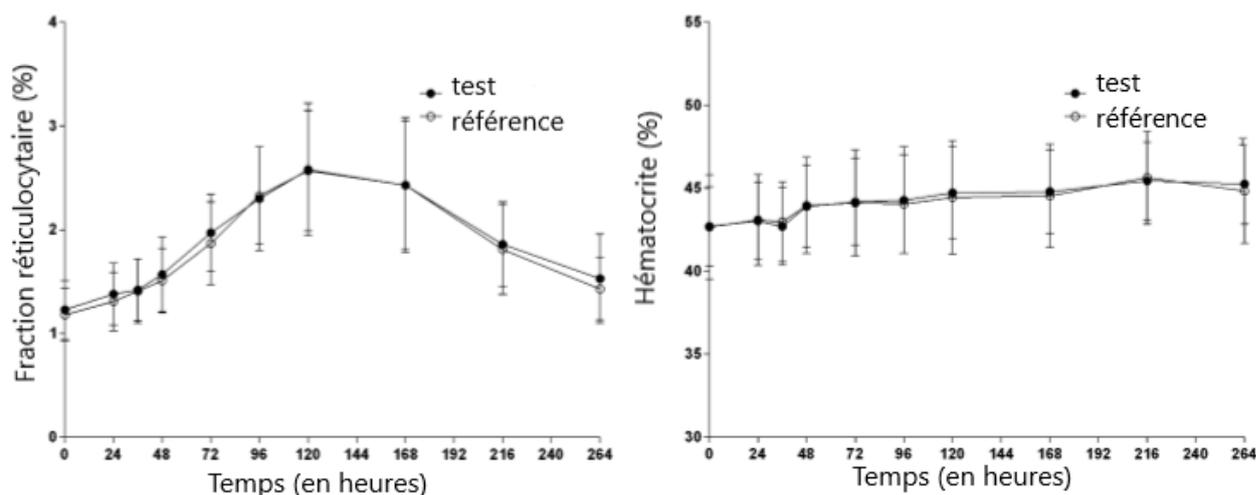
Les caractéristiques uniques de la darbépoétine en font une molécule très intéressante puisque sa très longue demi-vie autorise une administration unique par semaine pour maintenir un effet identique à celui des autres époétines.

b. Pharmacodynamique

Une étude a testé les propriétés pharmacologiques d'une nouvelle darbépoétine (CJ40001) chez des sujets humains sains en prenant comme référence la darbépoétine alpha (Nesp ND).

Dans cette étude, le temps médian pour atteindre la réponse biologique maximale après une injection intraveineuse de darbépoétine était de 120,1 h si l'on considérait l'augmentation de la fraction réticulocytaire et de 215,9 h si l'on considérait l'augmentation de l'hématocrite (figure 17).

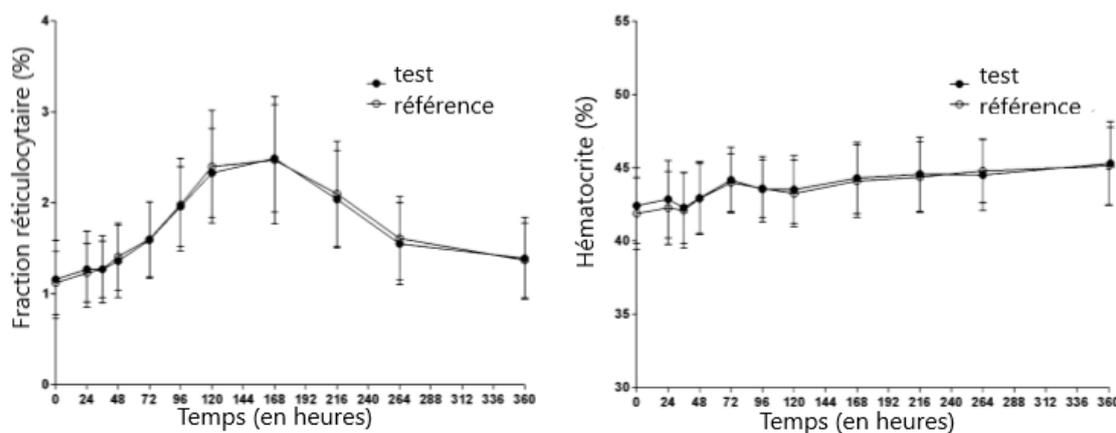
Figure 17 : Effets de deux darbépoétines sur l'hématocrite et la fraction réticulocytaire après injection par voie intraveineuse (Modifiée à partir de Kim *et al.*, 2019)



* test : darbépoétine CJ40001, référence : darbépoétine-alpha

Le temps médian pour atteindre la réponse biologique maximale après une injection sous-cutanée de darbépoétine était de 168 h que l'on considère l'augmentation de la fraction réticulocytaire ou de l'hématocrite (figure 18).

Figure 18 : Effets de deux darbépoétines sur l'hématocrite et la fraction réticulocytaire après injection sous-cutanée (Modifiée à partir de Kim *et al.*, 2019)



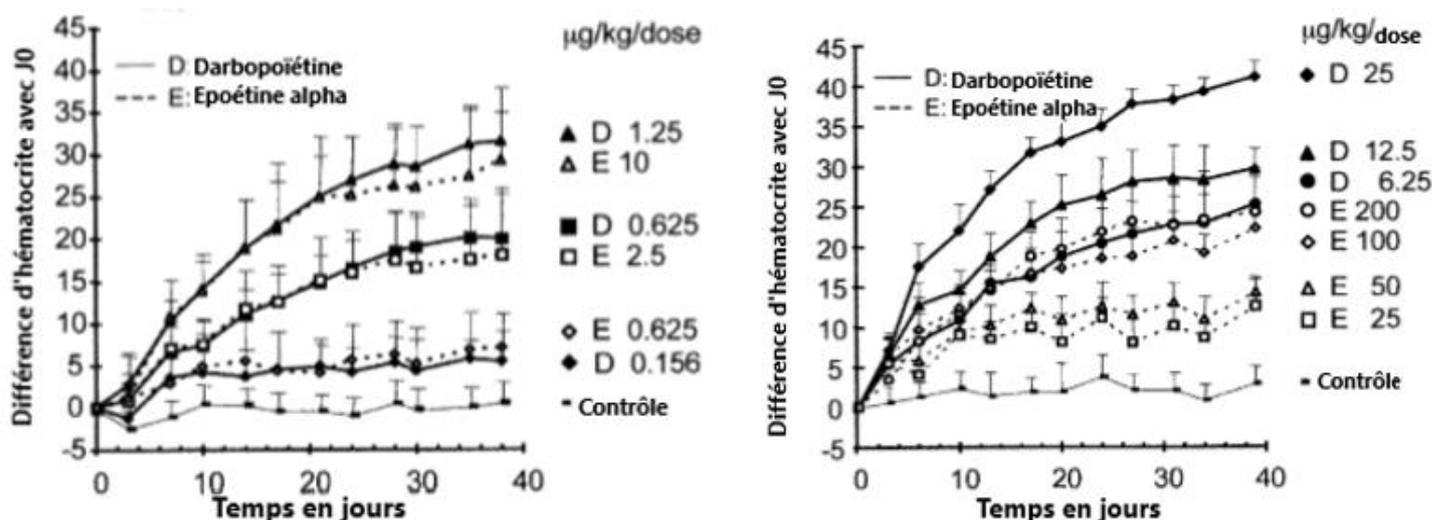
* test : darbépoétine CJ40001, référence : darbépoétine-alpha

On peut donc en déduire que le temps de réponse moyen sera d'environ 6-7 jours après une administration de darbépoétine sous cutanée. Cela justifie donc la posologie aujourd'hui recommandée d'une injection toutes les semaines.

L'efficacité biologique a été étudiée chez le rat par l'étude de la variation de l'hématocrite post-injection. Pour une administration trihebdomadaire, une dose 3 à 4 fois supérieure en époétine alpha était nécessaire pour obtenir la même réponse biologique que la darbépoétine. Pour une même dose trihebdomadaire (0,625µg/kg), l'élévation initiale de l'hématocrite est d'en moyenne 0,42 points par jour pour l'époétine alpha et de 0,89 points par jour pour la darbépoétine, soit un facteur supérieur à deux de différence (figure 16). Pour une administration hebdomadaire, l'écart se creuse

encore. Pour une dose de 6,25 µg/kg une fois par semaine, il n'y avait aucune augmentation de l'hématocrite dans le cas de l'époétine alpha contre une augmentation de 25 points en 38 jours dans le cas de la darbépoétine. La réponse de l'hématocrite était parfaitement comparable entre une injection hebdomadaire de darbépoétine à une dose donnée (7,5 µg/kg) et une injection trihebdomadaire d'époétine alpha à une dose trois fois plus faible (2,5 µg/kg) (figure 19). L'administration toutes les deux semaines de darbépoétine permettait une élévation plus importante qu'une administration hebdomadaire d'époétine à la même dose (100µg/kg par injection). Le passage d'une administration trihebdomadaire à une administration hebdomadaire nécessite, pour conserver une même réponse biologique, une augmentation de 14 à 15 fois la dose dans le cas de l'époétine alpha contre une augmentation 4 fois la dose pour la darbépoétine. Le passage d'une administration hebdomadaire à une administration toutes les deux semaines de darbépoétine nécessite une augmentation de 2,6 fois la dose pour conserver la même réponse biologique.

Figure 19 : Evolution de l'hématocrite en réponse à des injections intraveineuses trihebdomadaires (à gauche) ou hebdomadaires (à droite) de darbépoétine ou d'époétine alpha chez le chien (modifiée à partir de Egrie *et al.*, 2003)



Ainsi cette étude montre que l'élimination de la darbépoétine augmente la durée de sa réponse biologique par rapport à l'époétine alpha. Cette étude montre que pour une même réponse biologique souhaitée, la darbépoétine permet une administration moins fréquente avec une faible augmentation de la dose nécessaire. Ce n'est pas le cas de l'époétine alpha (Egrie *et al.*, 2003). Chez le chat, une étude a permis d'évaluer le temps médian de réponse à 21 j pour la darbépoétine en se fondant sur l'élévation de l'hématocrite (Chalhoub *et al.*, 2012).

c. Effets secondaires

i. *Chez l'homme*

En médecine humaine, les études montrent que la darbépoétine et les époétines ont des effets secondaires similaires (Macdougall, 2000). Cependant une étude menée en 2019 au Japon sur 194 698 patients sous hémodialyse, traités aux ESAs et suivis pendant deux ans a mis en évidence que les effets secondaires étaient plus marqués chez les patients traités aux ESA longue action dont

la darbépoétine que chez ceux traités aux ESA courte action. Le groupe recevant des ESA de longue action avait un taux de mortalité supérieur de 13% à celui du groupe recevant les ESA de courte action et ce même groupe était associé à un taux de mortalité plus important pour des causes de maladies cardiaques, d'infections et de néoplasies (Sakaguchi *et al.*, 2019).

Les effets secondaires des ESA, rapportés sont une hypertension artérielle, des crises cardiaques, des accidents ischémiques transitoires, des accidents vasculaires cérébraux, des convulsions, des infarctus du myocarde, des thromboses vasculaires, une douleur au site d'injection, une carence en fer, des diarrhées, des vomissements, une polycythémie, une hyperkaliémie et des réactions cutanées (Cowgill *et al.*, 1998 ; Spinowitz *et al.*, 2008 ; Mel *et al.*, 2008 ; Frei *et al.*, 2009 ; Pergola *et al.*, 2009 ; Pfeffer *et al.*, 2009 ; Schmid et Schiffli, 2010 ; Schaefer *et al.*, 2016 ; Begum et Latunde-Dada, 2019). L'hypertension apparaît ou s'accroît chez 25 à 35% des patients traités aux ESA. De plus malgré la haute prévalence de l'anémie dans le cas de cancers, l'utilisation des ESA est de moins en moins fréquente en raison de la multiplication des études montrant une progression du cancer plus rapide et une diminution de l'espérance de vie des patients souffrant d'anémie liée à un cancer et traités aux ESA (Schmid et Schiffli, 2010). En effet, l'érythropoïétine favorise la croissance tumorale en stimulant l'angiogenèse de la tumeur (Ribatti, 2009). Les effets secondaires des ESA notamment sur le cœur et la circulation sont fréquemment associés à l'administration de hautes doses (Keller *et al.*, 2015).

La dernière complication du traitement est la « *pure red cell aplasia* » (PRCA). Il s'agit d'une disparition presque complète des précurseurs de la lignée rouge dans la moelle osseuse érythropoïétique, caractérisée par une anémie arégénérative sévère. Dans le cas du traitement aux ESA, elle est due à la production d'anticorps anti-érythropoïétine de synthèse qui par réaction-croisée s'attaquent dans certains cas à l'érythropoïétine endogène, elle est appelée PRCA médiée par anticorps (Macdougall, 2005). Chez l'homme, la production d'anticorps anti-érythropoïétine lors du traitement aux ESA est extrêmement rare. Elle a été étudiée dans deux études chez des patients sous hémodialyse chronique et traités aux époétines. La prévalence de la production de ces anticorps chez ces patients était de 1,27 ‰ dans la première étude et de 1,1% dans la seconde (Kharagjitsingh *et al.*, 2005 ; Stoffel *et al.*, 2007). Parmi les patients traités aux ESAs produisant ces anticorps, seule une très faible proportion développe une PRCA. La PRCA est donc chez l'homme une complication extrêmement rare du traitement aux ESAs. Entre 1988 et 2005, seuls 206 cas de PRCA médiée par anticorps ont été confirmés dans le monde (Macdougall, 2005). La plupart des cas recensés concernent l'utilisation de l'époétine alpha et seulement de rares cas de PRCA causée par l'utilisation de darbépoétine sont rapportés dans la littérature.

ii. Chez les carnivores domestiques

Chez le chien et le chat plusieurs effets secondaires ont également été mis en évidence. Parmi eux, l'hypertension artérielle semble un effet secondaire fréquent qui apparaît chez 40 à 50% des chiens et des chats traités par époétine (alpha ou bêta) (Langston *et al.*, 2003). Ces chiffres semblent similaires dans les études utilisant la darbépoétine (Chalhoub *et al.*, 2011 ; Chalhoub *et al.*, 2012 ; Fiocchi *et al.*, 2017). L'apparition de crises convulsives après la mise en place d'un traitement aux ESA chez des chiens et des chats qui n'en avaient jamais fait auparavant est rapportée dans plusieurs études. Selon ses études 14 à 18% des animaux étaient touchés (Cowgill, 1992 ; Cowgill *et al.*, 1998 ; Langston *et al.*, 2003 ; Chalhoub *et al.*, 2012 ; Fiocchi *et al.*, 2017). Des études mettent également en évidence l'apparition d'une polycythémie lors du traitement aux ESA mais le plus

souvent en cas d'une forte dose. Cette complication est rare (Cowgill, 1992 ; Randolph *et al.*, 2004). Une étude sur l'utilisation de la darbépoétine chez le chien a révélé l'apparition d'une hyperkaliémie chez 42% des chiens. Cette même étude a mis en évidence l'apparition d'une thrombocytose chez 12% des chiens. (Fiocchi *et al.*, 2017). Une carence en fer objectivée par une saturation de la transferrine en fer inférieure à 20% et ce malgré une complémentation en fer a aussi été notée chez des chiens et des chats traités aux ESA (Cowgill *et al.*, 1998 ; Randolph *et al.*, 2004). Des vomissements et de la fièvre sont régulièrement associés aux traitements par les ESA dans la littérature (Cowgill, 1992 ; Chalhoub *et al.*, 2012).

Il faut cependant nuancer ces constatations car toutes les études qui nous ont permis de dresser cette liste de complications chez les carnivores domestiques ont été exclusivement menées chez des chiens et des chats atteints de MRC, sans comparaison à un groupe témoin. Ainsi, les auteurs s'accordent sur le fait qu'il est difficile, pour certaines de ces complications, de distinguer si ce sont des manifestations ou complications de la maladie rénale, ou si ce sont des complications liées au traitement. C'est le cas notamment de la fièvre, des vomissements, de l'hyperkaliémie, de la thrombocytose et de l'hypertension. De plus dans ces études, l'apparition des crises convulsives étaient souvent associées à une azotémie élevée et à l'apparition d'une hypertension, signes qui peuvent être provoqués par la MRC (Cowgill, 1992 ; Chalhoub *et al.*, 2012).

Chez les carnivores domestiques, la PRCA est une complication de l'administration des ESA plus préoccupante. Elle a une incidence beaucoup plus importante que chez l'homme. Comme précédemment indiqué, l'homologie entre l'érythropoïétine humaine et celle du chat et du chien n'est pas parfaite (83,3% avec le chat et 81,3% avec le chien). La plupart des auteurs émettent l'hypothèse que cette homologie imparfaite serait à l'origine du déclenchement d'une réponse immunitaire chez les carnivores domestiques traités aux recombinants humains de l'érythropoïétine se traduisant par une production importante d'anticorps anti-érythropoïétine, ce qui expliquerait le taux de PRCA plus important chez ces derniers (Wen *et al.*, 1993 ; Cowgill *et al.*, 1998). Une étude de Cowgill *et al.* sur des chiens et des chats traités aux époétines suite à une anémie, a mis une évidence l'apparition d'une anémie réfractaire attribuable à des anticorps anti-époétine suite au traitement chez 5 chats sur 7 et 2 chiens sur 3, ce qui laisse supposer une forte incidence de la PRCA médiée par anticorps lors d'utilisation d'époétine (Cowgill *et al.*, 1998). Une autre étude ayant étudié l'inoculation d'époétine chez des chiens sains a mis en évidence l'apparition d'anticorps anti-érythropoïétine endogène chez plus 50% des chiens dont 33% ont développé une anémie (Cowgill *et al.*, 1994). On trouve dans la littérature une incidence de la PRCA comprise entre 25 et 30% chez les chiens et les chats recevant des époétines (Chalhoub *et al.*, 2011). En ce qui concerne la darbépoétine, une étude chez le chien a estimé de manière incertaine l'apparition d'une potentielle PRCA chez 6% des chien avec une anémie liée à une maladie rénale chronique traitée par darbépoétine (Fiocchi *et al.*, 2017). Certains auteurs estiment sur la base de leur expérience personnelle que l'incidence de l'apparition de la PRCA chez les chats traités par darbépoétine est proche de 10% et est moins importante que lors de l'utilisation d'époétines alpha ou bêta (Chalhoub *et al.*, 2011). Cependant, toutes les études sur le sujet manquent de pouvoir statistique en raison de la faible taille des échantillons. De plus, la confirmation de la PRCA par myélogramme est très rarement faite dans ces études, les statistiques sont faites sur des suspicions de PRCA basée sur une chute brutale de l'hématocrite après un temps d'amélioration couplé à la présence d'anticorps anti-érythropoïétine.

Afin de limiter le risque d'apparition de PRCA chez les animaux traités, des recombinantes de l'EPO ont été produits à partir du gène de l'EPO canine et féline. Chez le chien anémié, l'utilisation d'un recombinant canin de l'érythropoïétine entraîne une augmentation de l'hématocrite sans provoquer de PRCA. Chez le chat anémié, l'utilisation d'un recombinant félin de l'érythropoïétine permet la correction de l'anémie mais des cas de PRCA ont tout de même été recensés. Ces deux molécules ne sont pas commercialisées (Randolph *et al.*, 1999 ; Randolph *et al.*, 2004).

B. Mise en place du traitement

1) *Recommandations*

a. Indications

i. Maladies traitées

- *Chez l'homme*

Chez l'homme, l'utilisation des érythropoïétines de synthèse quelles qu'elles soient (darbépoétine ou époétine alpha et bêta) ont été approuvées dans le traitement des anémies associées à une MRC nécessitant ou non une hémodialyse, des anémies associées à des cancers, à une insuffisance cardiaque, à un traitement de chimiothérapie, à un traitement à la zidovudine contre le virus d'immunodéficience humaine (VIH) et à des syndromes myélodysplasiques (Butt *et al.*, 2011 ; Garelius *et al.*, 2017 ; Thavarajah et Choi, 2019). L'utilisation des ESA dans le cadre d'une anémie associée à une maladie inflammatoire chronique (arthrites rhumatoïdes, MICI etc...) a été également largement approuvée (Weiss, 2002 ; Avni *et al.*, 2013). Leur utilisation chez les enfants prématurés nécessite encore des recherches (Ohlsson et Aher, 2017). L'utilisation de ces agents pour réduire le nombre de transfusion des patients en soins intensifs est décrite (Piagnerelli et Vincent, 2012). L'utilisation des érythropoïétines de synthèse est également décrite pour réduire le nombre de transfusions nécessaires lors de chirurgies de patients anémiés ou pour augmenter le volume de sang prélevé en préopératoire chez des patients sains en prévision de transfusions autologues lors de chirurgies sanglantes (Goodnough et Marcus, 1994).

Plus récemment, les scientifiques étudient les actions pléiotropiques de l'EPO et tentent de développer des érythropoïétines de synthèses ciblant ces effets qui pourront être intéressants dans le traitement d'affections autres que les anémies. Ainsi des études s'intéressent notamment à l'utilisation des ESA pour leurs propriétés neuroprotectrices, cardioprotectrices, leur action sur le système vasculaire et toutes leurs propriétés de protection cellulaire en général (Kagaya *et al.*, 2012 ; Todaro *et al.*, 2013 ; Messier et Ohls, 2014 ; Chen *et al.*, 2014).

- *Chez l'animal*

Chez le chien et le chat, la très grande majorité des cas d'utilisation des érythropoïétines de synthèse concernent le traitement de l'anémie associée à une MRC. La littérature ne rapporte pas de cas d'utilisation de ces agents dans le cas de cancers ou de maladies inflammatoires chroniques.

Chez le chat, Arai *et al.* ont étudié l'utilisation de l'époétine alpha dans le traitement de l'anémie liée au virus d'immunodéficience féline (FIV). Les auteurs constataient une augmentation de l'hémoglobininémie, de l'hématocrite et de la numération érythrocytaire mais aussi une discrète augmentation de la numération des leucocytes non associée au développement d'anticorps ou à l'augmentation de la charge virale. Les ESA pourraient ainsi être utilisés chez les chats anémiés infectés par le FIV. Cependant cette étude ne portait que sur un petit nombre d'individus (4 chats) et évaluait les conséquences du traitement à très court terme (2 semaines) (Arai *et al.*, 2000).

Chez le chien un cas d'utilisation de recombinants humains de l'EPO associé à de la prednisone a été rapporté pour traiter un chien atteint de syndrome myélodysplasique avec prédominance érythroïde et présentant une anémie sévère (hématocrite de 10% au moment du diagnostic). L'emploi de ce protocole avait permis une normalisation de l'hématocrite en 8 semaines et une rémission clinique au bout de 30 mois (Boone *et al.*, 1998).

Deux études ont permis de démontrer chez le chien l'efficacité des ESA dans la correction de l'anémie par pertes sanguines notamment au cours de chirurgies et comme traitement adjuvant dans la constitution de banques d'autotransfusion (Koumegawa *et al.*, 1990 ; Suzuki, 1998).

Chez le chien comme chez l'Homme, les ESA sont également utilisées comme produit dopant pour améliorer les performances des chiens de courses. On recense quelques études notamment sur des chiens greyhounds qui ont permis de développer des tests de détection de ces substances dans les urines (Bartlett *et al.*, 2006 ; Timms *et al.*, 2016).

Enfin, des chercheurs ont exploité les capacités de recrutement des progéniteurs des cellules endothéliales, de stimulation de la maturation cellulaire et d'activateur de l'angiogenèse de l'EPO en étudiant l'effet d'inhalations de recombinants humains de l'EPO sur la croissance du tissu pulmonaire de chiens après une pneumonectomie partielle chirurgicale. Ces inhalations permettaient une amélioration du développement alvéolo-capillaire des chiens traités par rapport au groupe témoin. Cette administration par inhalation n'était associée à aucun effet sur l'hématocrite et l'hémoglobine des chiens de l'étude en raison de l'absorption, probablement extrêmement limitée des ESA par voie respiratoire (Dane *et al.*, 2019).

ii. Mise en place du traitement

Chez l'homme, le « *Kidney Disease : Improving Global Outcomes* » (KDIGO) a mis en place des directives de traitement dans son guide pratique de la gestion de l'anémie liée à la MRC. Il recommande de ne pas mettre en place de traitement aux érythropoïétines de synthèse si la valeur de la concentration en hémoglobine sanguine est supérieure à 10 g/dL, pour les patients qui ne sont pas traités par dialyse. Pour les patients sous dialyse, le traitement est initié pour des valeurs situées entre 9 et 10 g/dL pour éviter de passer sous le seuil des 9 g/dL. Chez tous les patients nécessitant un traitement aux érythropoïétines de synthèse, il est recommandé de ne pas atteindre intentionnellement des valeurs d'hémoglobine supérieures à 13 g/dL mais plutôt de maintenir la concentration à une cible en hémoglobine inférieure à 11,5 g/dL (Drüeke et Parfrey, 2012).

Chez les carnivores domestiques, il n'y a aucune recommandation sur les conditions justifiant la mise en place du traitement. D'après Polzin, en raison des effets secondaires des ESA, leur administration est réservée aux patients à un stade d'insuffisance rénale avancé et pour lesquels l'anémie a des conséquences sur la qualité de vie (Polzin, 2011).

b. Posologie

i. Posologie des époétines alpha et bêta

Chez le chien et le chat, la dose initiale recommandée est de 100 UI/kg soit 0,84 µg/kg (1 UI = 0,0084 µg soit 8,4 ng) par voie sous cutanée trois fois par semaine jusqu'à ce que l'hématocrite atteigne la borne inférieure de l'intervalle cible (25 à 30% chez le chat, 30 à 35%-40% chez le chien), ce qui prend généralement entre 4 et 12 semaines. Une fois cette valeur atteinte, la fréquence d'administration peut être diminuée à deux fois par semaine jusqu'à ce que l'hématocrite

atteigne approximativement le milieu de l'intervalle cible. Ensuite, on ajuste le traitement à une dose de maintenance généralement comprise entre 50 et 100 UI/kg une à deux fois par semaine pour maintenir l'hématocrite proche du milieu de l'intervalle cible. Un contrôle régulier de l'hématocrite est nécessaire (Langston *et al.*, 2003).

ii. Posologie de la darbépoétine

Il n'y a aujourd'hui aucune posologie de darbépoétine optimale reconnue chez le chat et le chien contrairement à l'homme.

- Chez l'homme

Chez l'homme, des doses de darbépoétines comprises entre 0,45 et 0,75 µg/kg par injection sous cutanée ou intraveineuse hebdomadaire ont montré des réponses optimales (définies comme une augmentation de 1 à 3 g/dL de la concentration sanguine en hémoglobine après quatre semaines de traitement) dans le traitement de l'anémie associée à la MRC (Macdougall, 2002).

- Chez le chat

Une étude rétrospective sur l'utilisation de la darbépoétine chez des chats atteints de MRC a été réalisée en 2012. Les chats traités étaient plus nombreux à répondre à une dose initiale de 1 µg/kg qu'à une dose de 0,45 µg/kg par injection sous cutanée hebdomadaire. Une dose de 1 µg/kg hebdomadaire était également plus efficace pour atteindre l'hématocrite cible (hématocrite supérieur à 25 % dans cette étude) qu'une dose de 0,45 µg/kg. Cette étude semble indiquer la nécessité d'une dose plus importante chez le chat que chez l'homme, autour de 1 µg/kg par injection sous cutanée hebdomadaire, mais la nature rétrospective de l'étude et le faible nombre de cas observés (25 chats) ne permet pas de faire de réelles recommandations de posologie basée sur cette étude d'après les auteurs (Chalhoub *et al.*, 2012). Cependant, dans la littérature, de nombreux auteurs retiennent aujourd'hui la dose de 1 µg/kg par injection sous cutanée hebdomadaire chez le chat mais aussi chez le chien (Polzin, 2013).

- Cas du chien

Chez le chien, la posologie recommandée dans la littérature est extrapolée de la médecine humaine et de l'étude précédente sur le chat. Cette recommandation est une posologie de 0,45 µg/kg à 1,5 µg/kg par voie sous cutanée une fois par semaine jusqu'à atteindre l'hématocrite cible. Une étude similaire à la précédente a été conduite chez des chiens atteints de maladie rénale chronique en 2017. La dose optimale initiale n'a pas été déterminée mais une dose de 0,8 µg/kg par injection sous cutanée une fois par semaine était associée à une plus grande proportion de réponse qu'une dose de 0,5 µg/kg par injection sous cutanée une fois par semaine. Cette étude préconise une augmentation de l'intervalle de temps entre deux administrations après avoir atteint l'hématocrite cible (hématocrite supérieur à 30% dans cette étude), sans donner de précision sur cette augmentation. L'intervalle de temps entre deux administrations doit être ajusté pour permettre le maintien de l'hématocrite autour de la valeur cible. L'intervalle maximum entre deux administrations ayant permis le maintien de l'hématocrite chez un chien de l'étude était de 21 jours, tous les chiens ayant dépassé cet intervalle de 21 jours ont eu une chute de leur hématocrite. Cette étude préconise donc de ne pas dépasser un délai de 21 jours entre deux administrations (Fiocchi *et al.*, 2017).

c. Thérapies associées

i. Supplémentation en fer

Elle est fortement conseillée dans le cas de l'anémie d'origine rénale mais pas dans le cas de l'anémie inflammatoire car le fer représente un facteur de croissance essentiel pour les micro-organismes et les tissus (Ottenjann *et al.*, 2006).

- Chez l'homme

Chez l'homme, une évaluation des niveaux de fer dans l'organisme est réalisée chez tous les patients traités par des ESA. Cette évaluation repose sur la concentration sérique en ferritine et le taux de saturation de la transferrine sanguine. Une complémentation en fer est adaptée en fonction des résultats de cette évaluation. Dans son guide pratique de la gestion de l'anémie liée à la MRC, le KDIGO recommande chez les patients malades rénaux ne nécessitant pas de dialyse de maintenir le pourcentage de saturation de la transferrine au-dessus de 20% mais de ne pas dépasser 30% et de maintenir la concentration sérique en ferritine au-dessus de 100 ng/L mais de ne pas dépasser 500 ng/L. Chez les patients nécessitant des dialyses, il est conseillé de maintenir le pourcentage de saturation de la transferrine au-dessus de 30% et la concentration sérique en ferritine au-dessus de 500 ng/L. De hauts niveaux de ferritine sont associés à une mortalité plus élevée mais il est difficile de différencier une forte concentration sérique en ferritine due à une administration excessive de fer ou à un phénomène inflammatoire aigue non-spécifique. La concentration sérique en ferritine est donc un paramètre difficile à utiliser. Enfin, une étude récente a montré que des patients avec des niveaux de ferritine entre 500 et 1200 ng/L répondent à une administration de fer par une augmentation de leur concentration en hémoglobine sanguine. Ceci mène de nombreux médecins à adopter une limite haute de ferritine à 1200 ng/L (Drüeke et Parfrey, 2012 ; Nakhoul et Simon, 2016).

- Chez les carnivores domestiques

Chez le chien et le chat, aucune corrélation entre une carence en fer et la non-réponse au traitement aux ESA n'a été statistiquement démontrée mais elle est fortement suspectée par les auteurs des études sur l'utilisation des ESA chez nos carnivores domestiques. Certains auteurs conseillent comme chez l'homme une évaluation des niveaux de fer dans l'organisme mais les analyses nécessaires à cette évaluation sont peu disponibles et sont rarement réalisées en pratique. Ainsi, une grande majorité des auteurs préconisent une supplémentation en fer systématique lors de l'utilisation des ESA chez le chien et le chat (Langston *et al.*, 2003 ; Chalhoub *et al.*, 2012 ; Bartges, 2012 ; Polzin, 2013 ; Fiocchi *et al.*, 2017). La supplémentation en fer peut être réalisée par voie orale par l'administration quotidienne de sulfate ferreux à hauteur de 100 à 300 mg/animal chez le chien et de 50 à 100 mg/animal chez le chat. Elle peut être réalisée par injection intramusculaire de fer dextran à hauteur de 10 à 20 mg/kg chez le chien et de 50 mg/animal chez le chat renouvelable toutes les 3 à 4 semaines. Les troubles digestifs ou une suspicion de saignements digestifs contre-indiquent l'administration de fer par voie orale, il faut alors privilégier l'injection de fer dextran. De plus chez le chat, le goût amer du sulfate ferreux rend son administration souvent difficile. L'injection de fer dextran peut, en de rares occasions, provoquer une réaction anaphylactique, il faut donc surveiller le patient les quelques heures suivants l'injection. Enfin, bien qu'une seule injection en fer dextran soit souvent suffisante pour couvrir les besoins en fer, on peut la renouveler (au moins 3 à 4 semaines après la première injection) notamment si le traitement aux ESA est inefficace (Langston *et al.*, 2003 ; Plumb, 2011 ; Bartges, 2012 ; Polzin, 2013)

ii. Autres thérapies

Chez les carnivores domestiques, une complémentation en vitamine B12 lors d'un traitement aux ESA est parfois recommandée dans la littérature, cependant les conditions de cette complémentation ne sont pas claires. Il est en tout cas conseillé de mesurer la cobalaminémie en cas de non-réponse au traitement. En fonction des résultats, une complémentation en vitamine peut être mise en place (Polzin, 2013). Les carences en autres vitamines ou en L-carnitine chez le chien et le chat traités par des ESA ne sont pas documentées.

Toute infection et inflammation doivent être rapidement traitées pour minimiser la séquestration en fer qui pourrait réduire l'efficacité du traitement (Bartges, 2012).

En cas d'hypertension due au traitement, une correction de cette hypertension peut être mise en place. Dans cette situation, la plupart des auteurs utilisent l'amlodipine à la dose quotidienne de 0,625 à 1,25 mg/animal par voie orale pour un chat ou à la dose quotidienne de 0,1 à 1 mg/kg par voie orale pour un chien (Langston *et al.*, 2003).

2) Suivi thérapeutique pharmacologique

a. Réussite du traitement

i. Objectifs du traitement

Chez l'homme comme chez l'animal, l'objectif principal du traitement est de réduire les signes cliniques associés à l'anémie et ainsi d'améliorer la qualité de vie du patient. On compte parmi ces signes une pâleur des muqueuses et de la peau, de la tachycardie, de la tachypnée, une léthargie, une faiblesse, et de l'anorexie. Ce traitement a également pour but de prolonger la durée de vie du patient.

Le second objectif du traitement est de limiter au maximum le nombre de transfusions sanguines nécessaire chez les patients anémiés. Une étude rétrospective menée sur les patients traités par hémodialyses aux États-Unis a mis en évidence une diminution de plus de moitié du taux de transfusions nécessaires chez ces patients entre 1992 et 2005. Cette diminution a été la plus importante dans les 5 premières années de l'étude (1992-1997), période qui correspond à l'introduction des érythropoïétines de synthèse dans les protocoles de traitement des patients sous hémodialyse aux États-Unis (Ibrahim *et al.*, 2008). Cet objectif est également, important en médecine vétérinaire en raison de la faible disponibilité de sang pour réaliser des transfusions. Cependant, la seule étude menée sur des chiens et des chats traités par hémodialyse entre juin 1997 et septembre 2012 n'a pas mis en évidence une diminution de la nécessité des transfusions sanguines chez les chats et les chiens recevant des érythropoïétines de synthèse par rapport à ceux qui n'en reçoivent pas (Langston *et al.*, 2017).

La réussite du traitement et son suivi sont classiquement objectivés par l'évolution de la concentration sanguine en hémoglobine chez l'homme et plutôt par l'évolution de l'hématocrite chez le chien et le chat. Chez l'homme les études ont mis en évidence une dangerosité de l'administration de hautes doses d'érythropoïétines de synthèse. Un objectif élevé sur la concentration en hémoglobine chez les patients traités est significativement associé à un plus grand risque d'hypertension, de crises cardiaques, d'incidents cardiovasculaires et à une mortalité plus élevée. Ainsi, les études recommandent d'atteindre une hémoglobinémie supérieure à 10 g/dL mais de ne pas dépasser 11,5 g/dL (Drüeke *et al.*, 2006 ; Singh *et al.*, 2006 ; Goodkin, 2009 ; Pfeffer *et al.*,

2009). Les mécanismes d'apparition de ces effets secondaires à haute dose ne sont pas totalement établis mais une action sur l'hétérorécepteur à l'érythropoïétine responsable de son action non-érythropoïétique est suspectée.

Chez le chien et le chat, aucune étude n'a été menée pour établir les objectifs du traitement aux érythropoïétines sur l'hématocrite. De même, chez ces espèces, l'existence d'un effet délétère de l'utilisation de ces agents à haute dose n'a pas été démontrée. Le consensus actuel est de maintenir l'hématocrite de l'animal traité entre 25 et 30% chez le chat et entre 30 et 35% voire 40% chez le chien (Langston *et al.*, 2003 ; Fiocchi *et al.*, 2017).

ii. Efficacité attendue

Chez l'homme une réponse satisfaisante au traitement aux ESA est observée chez environ 90% des patients atteints de MRC (Macdougall, 2002 ; Sibbel *et al.*, 2015). Dans certaines études ce chiffre se situe plutôt entre 60 à 70% de réponse au traitement en 4 semaines, pour une injection hebdomadaire de darbépoétine (Macdougall, 2002 ; Macdougall, 2008). Les chiffres sont très variables d'une étude à l'autre en fonction des critères de réussite fixés par les auteurs. Les ESA semblent moins efficaces pour traiter les anémies d'origine inflammatoire. En effet, une étude réalisée sur des patients atteints d'arthrite rhumatoïde comptait seulement 14,6% de réussite (Nordström *et al.*, 1997) et une méta-analyse n'a montré aucune efficacité significative dans le traitement des MICI (Avni *et al.*, 2013). Une méta-analyse sur les résultats du traitement aux ESA chez des patients atteints d'anémie associée à un cancer a mis en évidence une augmentation significative de l'hémoglobine des patients au cours des 4 premières semaines du traitement et une réduction significative du nombre de transfusions sanguines nécessaires (Li *et al.*, 2014).

Chez le chien et le chat, il y a très peu de données disponibles dans la littérature sur l'efficacité du traitement. Dans l'étude de Fiocchi *et al.* sur l'utilisation de la darbépoétine chez le chien atteint de MRC, 85% des chiens traités ont atteint un hématocrite supérieur à 30% après une période de traitement médiane de 3 à 4 semaines. Sur la même période médiane, 67% des chiens ont eu une augmentation de leur hématocrite de plus de 10 points. Dans l'étude de Chalhoub *et al.* sur l'utilisation de la darbépoétine chez le chat atteint de MRC, 56% des chats de l'étude ont répondu au traitement selon leurs objectifs sur l'hématocrite (atteindre un hématocrite supérieur ou égal à 25%). La durée nécessaire pour atteindre l'hématocrite cible était comprise entre une et six semaines avec une médiane de 21 jours (Chalhoub *et al.*, 2012 ; Fiocchi *et al.*, 2017). D'après l'étude de Cowgill *et al.* sur l'utilisation des époétines sur des chiens atteints de MRC, on peut espérer une augmentation de l'hématocrite de 0,5 à 1% par jour et une restauration de la masse de globules rouges sanguins en environ un mois (Cowgill *et al.*, 1998)

b. Echec du traitement

i. Définition d'un défaut de réponse aux ESA

Chez l'homme, le guide des bonnes pratiques Européens (EBPG) définit le défaut de réponse au traitement par les ESA comme l'impossibilité d'atteindre l'objectif sur la concentration sanguine en hémoglobine malgré l'administration de doses hebdomadaires d'époétine supérieures à 300 UI/kg par voie sous-cutanée ou de doses hebdomadaires de darbépoétine supérieures à 1,5 µg/kg par voie sous-cutanée, ou la nécessité d'une administration continue de ces fortes doses pour maintenir la concentration sanguine en hémoglobine dans les valeurs cibles. Ce défaut de réponse peut se manifester dès le début du traitement ou apparaître avec le temps (Kwack et Balakrishnan, 2006).

Chez le chien et le chat, aucun consensus n'existe pour définir ce concept. Dans la littérature, chaque étude fixe ses critères discriminant la réponse et la non-réponse au traitement mais la définition établie en médecine humaine peut s'appliquer en médecine vétérinaire selon certains auteurs (Chalhoub *et al.*, 2011).

ii. Causes

Chez l'homme de nombreuses causes de défaut de réponse ont été identifiées mais il n'existe pas d'études les confirmant également chez nos animaux domestiques, bien qu'elles soient fortement suspectées chez le chien et le chat (Chalhoub *et al.*, 2011).

- Chez l'homme

En médecine humaine, la première cause d'échec du traitement aux ESA est la carence en fer. Elle est observée chez 25 à 38% des patients anémiés en raison d'une maladie rénale chronique. L'origine de cette carence est multifactorielle et peut-être notamment due à un épuisement des stocks par la demande accrue en fer d'une intensification de l'érythropoïèse induite par le traitement aux ESA. D'autres causes de défaut de réponse aux ESA, qui seront citées dans cette partie, ont une action directe causant ce défaut et une action indirecte en favorisant une carence en fer. C'est le cas notamment de l'inflammation ou encore des saignements chroniques (Kwack et Balakrishnan, 2006).

La deuxième cause de défaut de réponses aux ESA est l'inflammation associée ou non à une infection. Comme vu précédemment, les cytokines inflammatoires par leur action sur la synthèse d'hepcidine provoquent une déficience en fer limitant l'érythropoïèse et elles ont également une action suppressive directe sur l'érythropoïèse. Une étude menée sur des patients anémiés et sous hémodialyses a montré des concentrations en protéine C-réactive et en IL-6 plus importantes dans le groupe des patients résistant au traitement aux ESA que dans le groupe répondant au traitement (Shinzato *et al.*, 2008). Cette cause n'est pas négligeable chez les patients atteints de maladie rénale chronique qui est possiblement caractérisée par un état inflammatoire systémique et qui sont sujets aux infections du tractus urinaire.

Une carence en vitamine peut également être responsable d'une non-réponse au traitement. On retrouve les carences en vitamine B12, B9, ou encore moins couramment les vitamines B3 et B6. La carence en L-carnitine est une cause très référencée d'échec du traitement. Les patients souffrants de MRC sont sujets à ces carences en raison de la dysorexie voir l'anorexie provoquée par la maladie (Kwack et Balakrishnan, 2006 ; Chalhoub *et al.*, 2011).

De nombreuses autres causes ont été identifiées chez l'homme. L'utilisation d'inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IECA) ou des antagonistes des récepteurs de l'angiotensine fréquemment utilisés chez des patients souffrants de MRC a été identifiée comme une cause de la résistance aux ESA. Cela s'expliquerait par le blocage de l'action pro-érythropoïèse de l'angiotensine II.

Les tumeurs avec notamment les néoplasies occultes, les syndromes myeloprolifératifs dont on peut citer plus particulièrement le myélome multiple ou la leucémie lymphoïde chronique et les syndromes myélodysplasiques sont régulièrement mis en causes lors de non-réponse aux ESA.

L'hyperparathyroïdie notamment secondaire dans le cas de MRC entraîne un défaut de réponse au traitement par son action sur la sécrétion d'EPO rénale, sur la sensibilité des progéniteurs érythroïdes ou encore son action myélofibrosante qui ont été vues précédemment.

Une dose ou une fréquence inadaptée des hémodialyses sont également rapportées. On estime que les patients sous dialyse perdent en moyenne 1 à 3 grammes de fer par an en raison de pertes sanguines dans le circuit de dialyse. Une hémodialyse trop intensive peut aussi provoquer un défaut en L-carnitine. Mais c'est surtout une hémodialyse insuffisante qui est à l'origine d'un défaut de réponse aux ESA.

Les saignements chroniques et notamment digestifs que l'on peut retrouver dans la maladie rénale chronique (entérite urémique) ont également été identifiés comme une cause responsable de non-réponse au traitement. Enfin, sont rapportés également une mauvaise observance au traitement, une intoxication à l'aluminium, des hémoglobinopathies et des causes d'hémolyses (Kwack et Balakrishnan, 2006 ; Kanbay *et al.*, 2010 ; Chalhoub *et al.*, 2011 ; Nakhoul et Simon, 2016).

Plusieurs études ont montré qu'il n'y a pas de corrélation entre la production d'anticorps anti-EPO et le défaut de réponse aux ESAs. Seul le stade de PRCA provoque une non-réponse grave au traitement (Kharagjitsingh *et al.*, 2005 ; Stoffel *et al.*, 2007 ; Kanbay *et al.*, 2010).

Les causes de défaut de réponse au traitement aux ESAs chez l'homme sont résumées dans le tableau 11.

Tableau 11 : Approche pratique de la gestion d'un défaut de réponse aux ESA (modifiée à partir de Nakhoul et Simon, 2016)

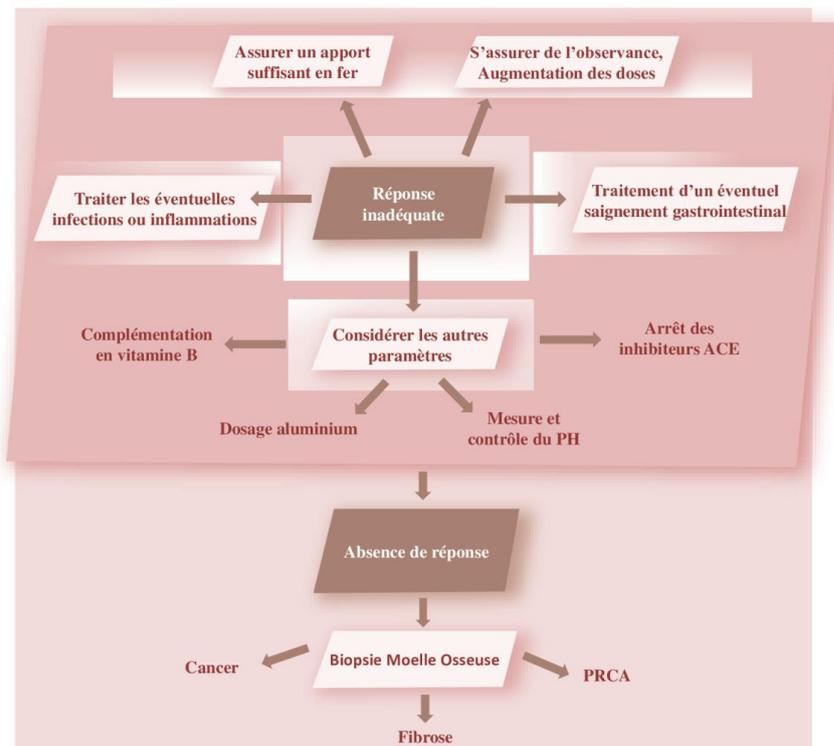
Cause	Test permettant d'objectiver la cause	Actions correctrices possibles et investigations complémentaires
Causes facilement rectifiables		
Carence en fer	Evaluation des niveaux de fer de l'organisme	Complémenter si les niveaux sont faibles
Carence en vitamine B12	Cobalaminémie	Complémenter si les niveaux sont faibles
Carence en vitamine B9	Folatémie	Complémenter si les niveaux sont faibles
Hypothyroïdie	Test de stimulation de l'hormone thyroïdienne	Prise en charge de l'hypothyroïdie
Traitement aux IECAS ou aux inhibiteurs du récepteur à l'angiotensine	Concentration plasmatique en ces médicaments	Arrêt du traitement
Causes potentiellement rectifiables		
Infections ou inflammations	Concentration plasmatique en protéine C-réactive	Si élevé, recherche d'un foyer infectieux ou inflammatoire et traitement

Hyperparathyroïdie	Parathormonémie	Prise en charge de l'hyperparathyroïdie
Dialyse insuffisante	Rapport : $\frac{\text{Clairance en urée de la machine} \times \text{temps de dialyse}}{\text{Volume de distribution de l'urée}}$	Amélioration de l'efficacité de la dialyse
Pertes sanguines ou hémolyse	Comptage réticulocytaire (recherche d'une valeur élevée)	Endoscopie par voie haute, colonoscopie, bilan d'hémolyse
PRCA et certaines affections de la moelle osseuse	Comptage réticulocytaire (recherche d'une valeur basse)	Contrôler la présence d'anticorps anti ESAs, PCR parvovirose, considérer une biopsie de la moelle
Causes non rectifiables		
Hémoglobinopathies	Electrophorèse des protéines sanguines	Référer en hématologie
Certaines affections de la moelle osseuse (ex : Myélofibrose)	Biopsie de la moelle osseuse	Référer en hématologie

- Chez les carnivores domestiques

Chez le chien et le chat, un défaut de réponse aux ESA n'a été statistiquement corrélé avec aucune des causes précédemment citées mais certaines publications donnent des recommandations en cas de non réponse au traitement (Chalhoub *et al.*, 2011).

Figure 20 : Démarche recommandée en cas de défaut de réponse aux ESAs chez les carnivores domestiques (modifiée à partir de Chalhoub *et al.*, 2011)



Ainsi, en cas de non réponse et de bonne observance du traitement, la première chose recommandée est d'augmenter les doses en ESA. En médecine humaine, si l'augmentation du taux d'hémoglobine est insuffisante (moins de 1 g/dL en quatre semaines), la dose peut être augmentée d'environ 25 %. La posologie ne doit pas être augmentée plus d'une fois toutes les quatre semaines. Des données similaires ne sont pas disponibles en médecine vétérinaire

Si cela ne fonctionne pas, on recherche une potentielle insuffisance en fer et on ajuste la complémentation en fonction du résultat. L'étape suivante en l'absence de résultats est la recherche et le traitement d'une potentielle inflammation ou de saignements digestifs. On peut également considérer une carence en vitamines B ou en folate, une intoxication à l'aluminium et arrêter tout traitement aux IECA. Si aucune des solutions précédentes n'a fonctionné, le dernier recours est de réaliser un myélogramme à la recherche d'un PRCA, d'un cancer, d'une myélofibrose ou d'un syndrome myélodysplasique (figure 20).

Troisième partie : Étude rétrospective

1. Introduction

La darbépoétine est un stimulant de l'érythropoïèse dont l'efficacité a déjà été mise en évidence chez le chat et le chien. C'est un traitement de choix lors d'anémies par déficit d'EPO parmi lesquelles on retrouve les anémies liées à la MRC et les anémies inflammatoires. L'utilisation de la darbépoétine chez les carnivores domestiques est documentée dans le premier cas mais pas dans le deuxième.

L'avantage principal de la darbépoétine est sa longue durée d'action. Cela permet une administration à des intervalles de temps plus espacés pour obtenir un maintien de l'hématocrite dans des valeurs satisfaisantes. Chez le chat, la posologie optimale qui semble se dégager de la littérature est de 1 µg/kg par voie sous-cutanée une fois par semaine jusqu'à l'obtention d'une valeur d'hématocrite supérieure à 25 % après quoi, les administrations peuvent être espacées dans le temps. Dans une étude menée chez le chat atteint d'anémie d'origine rénale, 56% des chats répondaient à ce protocole.

Dans cette étude, les auteurs ont considéré les chats comme répondants au traitement si leur hématocrite égalait ou dépassait la valeur seuil de 25%. Dans l'étude similaire réalisée chez le chien, les auteurs ont fait deux analyses différentes en considérant deux critères de réponse différents: le premier était d'atteindre une valeur d'hématocrite supérieur à 30% au cours du traitement, le deuxième était d'augmenter son hématocrite d'au moins 10 points au cours de la période de traitement (Chalhoub *et al.*, 2012 ; Fiocchi *et al.*, 2017). Ainsi la validation des critères d'efficacité n'est pas encore faite.

L'objectif principal de cette étude est de comparer différents critères de réponse au traitement pour déterminer lequel est le plus apte à évaluer la réponse au traitement. Les objectifs secondaires de l'étude sont d'identifier des paramètres permettant de prédire la réponse ou la non réponse au traitement, de discuter les causes d'échecs au traitement et de documenter la prévalence des effets secondaires au traitement.

1. Matériels et méthodes

A. Sélection des cas

1) *Méthode*

Les animaux de cette étude ont été sélectionnés parmi tous les chats ayant un dossier médical au Centre Hospitalier Universitaire d'Alfort (ChuvA) créé entre janvier 2008 et décembre 2019. L'ensemble des cas étaient référencés dans le logiciel « CLOVIS » utilisé au ChuvA pour réaliser le suivi des animaux.

Pour sélectionner les cas de l'étude, nous avons utilisé l'outil de recherche du logiciel « CLOVIS » qui permet de rechercher des mots clés dans l'intégralité de chaque dossier médical. Nous avons utilisé consécutivement les mots clés « darbépoétine », « darbopoiétine », « darbépoiétine », « érythropoïétine », « EPO » et « Aranesp ». Nous avons retenu tous les dossiers médicaux, résultats de ces recherches, qui concernaient des chats. Pour compléter cette recherche nous avons

sélectionné tous les chats ayant reçu de l'Aranesp ND référencés dans une thèse de médecine vétérinaire ayant recruté tous les chats souffrant de lithiases urétérales obstructives traités au ChuvA par la pose d'une dérivation pyélovésicale extra-urétérale (DPVE) entre 2013 et 2018 (Jourdan, 2019).

Cela nous a permis d'obtenir l'ensemble des dossiers médicaux mentionnant la darbépoétine entre janvier 2008 et décembre 2019.

2) Critères d'inclusion

Les critères d'inclusions des chats dans l'étude sont les suivants :

- Avoir reçu au moins une injection de darbépoétine.
- Avoir eu un suivi de l'hématocrite au cours d'une période minimale de 21 jours suivant la première injection de darbépoétine.

La durée de 21 jours a été choisie car elle correspond au temps médian de réponse au traitement à la darbépoétine estimé dans la seule étude s'intéressant à ce traitement chez le chat (Chalhoub *et al.*, 2012).

3) Critères d'exclusion

Les critères d'exclusions des chats dans l'étude sont les suivants :

- Avoir reçu une transfusion de sang total ou de culot globulaire en cours de traitement c'est-à-dire après avoir reçu la première injection.
- Les dossiers manquants ou incomplets.

B. Recueil des données

1) Données anamnestiques et cliniques

Les commémoratifs tels que la race, le sexe, la stérilisation, l'âge lors de la première injection de darbépoétine, la date de décès (si connue), la présence d'une DPVE ainsi que la date de sa pose, ont été relevés. Les données anamnestiques enregistrées étaient l'étiologie supposée de l'anémie, le stade IRIS lors de MRC, la présence éventuelle d'une IRA au moment de l'initiation du traitement, les maladies intercurrentes et les comorbidités.

Les chats étaient considérés en IRA au moment de l'initiation du traitement, s'ils avaient une valeur de créatinémie supérieure à la limite avec des symptômes d'IRA (abattement, anorexie, vomissements...) sans qu'aucun antécédent de MRC ne soit mentionné. Pour les chats en MRC, ils étaient considérés en crise d'IRA sur fond de MRC au moment de l'initiation du traitement si leur créatinémie était à ce moment plus élevée que leur valeur initialement connue (d'au moins 4 points de créatinine) et qu'ils présentaient de symptômes d'IRA (abattement, anorexie, vomissements...) apparus de manière brutale (moins de quinze jours).

La présence de symptômes et leur résolution, les valeurs du poids et de pression artérielle systolique ont été relevées sur la période de traitement à la darbépoétine.

La pression artérielle a été mesurée par la technique oscillométrique haute définition (HDO) ou Doppler. La présence d'une hypertension artérielle systolique était objectivée pour une valeur supérieure ou égale à 160 mmHg.

2) Données biologiques

Les informations recueillies avant la première injection et durant toute la durée du traitement de façon régulière étaient : l'hématocrite, l'hémoglobine, le comptage plaquettaire, le comptage réticulocytaire, la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH), le volume globulaire moyen (VGM) la créatinémie, la Ret-He et la concentration sérique en amyloïde A (SAA).

L'hématocrite initial, les valeurs initiales de l'hémogramme et de l'examen biochimique ont été recueillis dans les 10 jours précédents la première injection de darbépoétine ou dans les 48 heures suivant cette injection.

Les valeurs des différents paramètres biologiques ont été récoltées au ChuvA ou chez le vétérinaire traitant.

Les hémogrammes réalisés au ChuvA ont été réalisés sur le XT 2000i (SYSMEX, Dubai, U.A.E.) ou le ProCyte Dx (IDEXX, Westbrook, Maine, USA). Les paramètres biochimiques mesurés au ChuvA ont été obtenus sur le Vitalab Selectra XL (CLINICAL DATA, Smithfield, Rhode Island, USA) et le Catalyst Dx (IDEXX, Westbrook, Maine, USA). Les mesures de SAA ont été réalisées sur le Konelab 30i (THERMO FISCHER SCIENTIFIC, Waltham, Massachusetts, USA). Concernant les résultats d'analyses obtenus chez les vétérinaires traitants extérieurs au ChuvA, les références des types d'analyseurs utilisés sont inconnues.

Pour les besoins de notre étude, les microhématocrites et les hématocrites mesurés par la numération formule ont été considérés comme équivalents.

3) Sévérité et étiologie de l'anémie

Pour attribuer une étiologie à l'anémie traitée par darbépoétine, nous avons choisi de distinguer les anémies ayant une composante inflammatoire de celles ayant une composante purement d'origine rénale. Trois étiologies ont été considérées : l'anémie d'origine rénale, l'anémie inflammatoire et l'anémie mixte pour les chats atteints de MRC présentant également une composante inflammatoire. Les anémies présentant une composante inflammatoire ont été identifiées soit en utilisant les valeurs de SAA quand elles étaient disponibles, soit sur la base des données anamnestiques et cliniques : tous les chats ayant subi la pose d'une DPVE ou d'un stent urétéral dans le mois précédent la première injection de darbépoétine, les chats ayant une obstruction urétérale, les chats ayant une maladie inflammatoire identifiées au moment du diagnostic de l'anémie (pyélonéphrite, hépatopathie, pancréatite, entéropathie chronique non spécifique, Péritonite infectieuse féline (PIF)) comme ayant une composante inflammatoire à l'origine de l'anémie.

La sévérité de l'anémie des chats est caractérisée selon la classification établie dans la deuxième partie de l'étude bibliographique (Tableau 3).

4) Données sur le traitement

Les doses initiales administrées, les variations de cette dose, la fréquence de l'administration, la complémentation en fer et les autres traitements administrés durant le traitement à la darbépoétine ont été relevés. L'administration de transfusions de sang total ou de culot globulaire dans les deux semaines précédant la première injection a été rapportée.

La présence d'effets secondaires au traitement a également été relevée : hypertension artérielle systémique, vomissements, diarrhée, hyperthermie, convulsions, thrombocytose, thrombose, hyperkaliémie, polycythémie, douleurs articulaires, douleur au point d'injection et réactions cutanées.

C. Traitement des données

1) Analyse des données.

a. Critère de réponse au traitement

Nous avons classé les chats selon trois catégories distinctes :

- Critère 1 : L'hématocrite a dépassé la valeur de 25 % durant la période de traitement.
- Critère 2 : L'hématocrite a augmenté de 10 points par rapport à la valeur initiale au cours de la période de traitement.
- Critère 3 : L'hématocrite a augmenté de 10 points par rapport à sa valeur initiale ou a dépassé la valeur de 25 % au cours du traitement.

La période de traitement a été définie comme la période entre la première injection et la 5^e semaine après la dernière injection de darbépoétine. Ces 5 semaines correspondant à une durée largement supérieure à 7 fois la demi-vie d'élimination après administration sous-cutanée chez le chien. En conséquence, nous avons fait l'hypothèse que ces 5 semaines suffisent pour que l'ensemble de la molécule ait été éliminée de l'organisme après la dernière injection.

Afin de déterminer le critère le plus adéquat pour juger de la réponse au traitement à la darbépoétine (critère primaire de l'étude), chacun des 3 critères présentés ci-dessus ont indépendamment été utilisés comme définition d'un animal répondeur.

b. Temps médian de réponse

Le temps médian de réponse des animaux répondants au traitement à la darbépoétine est défini comme le temps écoulé entre le jour de la première injection de darbépoétine et le jour de mesure du premier hématocrite permettant de répondre au critère considéré, pour chacun des 3 critères considérés. Ce temps a été relevé pour chaque animal répondant s'il s'était écoulé moins de 15 jours entre la mesure du dernier hématocrite ne permettant pas de répondre au critère et la mesure du premier hématocrite permettant de répondre au critère.

2) Analyse statistique

Pour chacun des critères de réponse, nous avons réalisé trois classements des animaux suivant leur caractère répondeur ou non répondeur. Pour chacune des classifications, les taux de survie ont été comparés entre les animaux répondeurs et non-répondeurs. L'analyse de la survie a été réalisée par un test de Logrank, visuellement exprimé par une courbe de Kaplan-Meier grâce au logiciel SigmaPlot 11[®] (SYSTAT SOFTWARE INC, San Jose, CA, USA).

Un test de conformité de Student a été utilisé pour déterminer s'il y avait une différence statistique dans les hématocrites de départ, l'âge de l'animal, le TCMH initial, le VGM initial et le nombre de comorbidités par chat entre le groupe « répondeur » et le groupe « non répondeur ». Tandis qu'un test du Chi-deux d'indépendance a été utilisé pour comparer les taux de réponse suivant les variables suivantes : le sexe, la prise de 100g de poids durant le traitement, la complémentation en fer sous quelque forme que ce soit à l'initiation du traitement ou en cours de traitement, l'existence

d'une DPVE ou d'un stent urétéral, la prise d'IECA ou d'inhibiteurs des récepteurs à l'angiotensine, le fait d'être en IRA à l'initiation du traitement ou enfin le fait d'avoir une anémie avec une composante inflammatoire. Ces tests ont été réalisés avec le logiciel Excel 2013® (MICROSOFT, Redmond, USA)

Pour tous les tests, le seuil de significativité a été fixé à la valeur de $p < 0.05$.

2. Résultats

A. Animaux

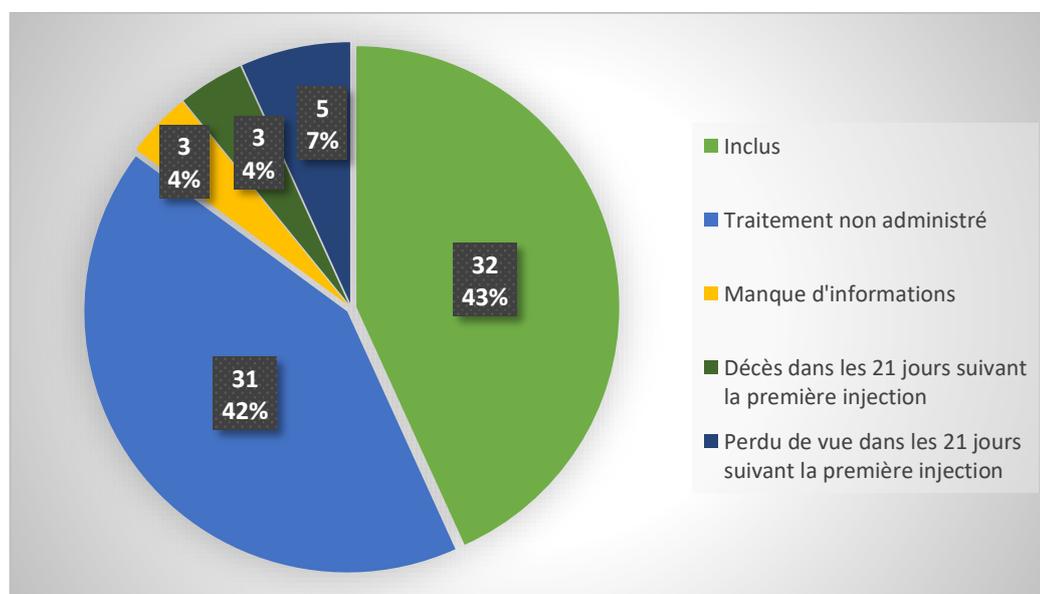
1) Recrutement

a. Inclusion dans l'étude

La recherche des mots clés dans le logiciel « CLOVIS » et la sélection des cas ayant reçu de l'Aranesp ND dans la thèse du docteur Jourdan a permis d'identifier 74 chats suivis au ChuvA ayant potentiellement reçu de la darbépoétine. L'étude des dossiers médicaux de ces chats sur CLOVIS a permis d'identifier 43 chats ayant effectivement reçu au moins une injection de darbépoétine. Sur ces 43 chats, 5 chats ont été exclus car ils ont été perdus de vue moins de 21 jours après la première injection et 3 autres chats ont été exclus car ils sont décédés de manière naturelle ou ont été euthanasiés dans la période de 21 jours suivant la première injection de darbépoétine.

Enfin, 3 chats ont été exclus pour manque d'informations : pour l'un, le traitement a été prescrit et initié dans une autre structure et les informations attenantes à la mise en place du traitement et au suivi de l'hématocrite n'ont pas été communiquées ; pour le second, la prescription d'Aranesp ND a été réalisée au ChuvA pour une réalisation des injections chez le vétérinaire traitant, le chat a été revu en consultation au ChuvA, 4 mois et 10 jours après la consultation ayant abouti à la prescription mais les informations attenantes à la mise en place du traitement et au suivi de l'hématocrite sur cette période n'ont pas été communiquées ; pour le troisième, le premier hématocrite de contrôle disponible a été réalisé 67 jours après la première et seule injection de darbépoétine (figure 21).

Figure 21 : Diagramme des exclusions



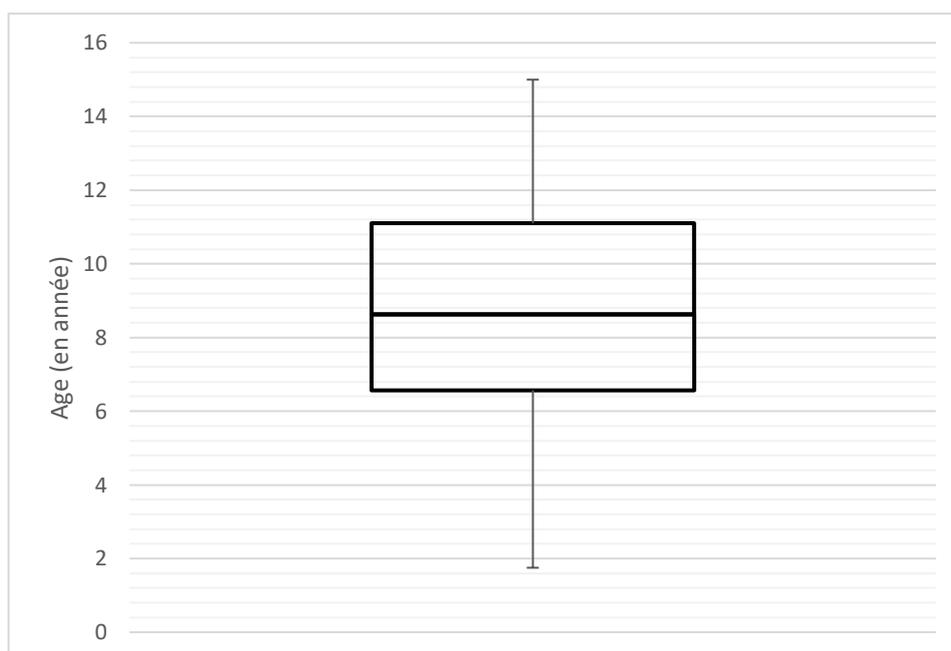
* Dans chaque étiquette, le chiffre du haut correspond au nombre de chats concernés. En dessous de ce chiffre est indiqué le pourcentage correspondant sur un total de 74 chats.

Au final 32 chats ont été inclus dans l'étude. Ces chats suivis au ChuvA ont débuté un traitement à la darbépoétine entre Mars 2012 et Décembre 2019.

b. Signalement

Parmi les chats inclus dans l'étude, la moyenne d'âge à l'initiation du traitement était de 9 ans (plus ou moins trois ans) (figure 22). Il y a 6 races représentées : 23 Européens, 4 Sacrés de Birmanie, 2 Persans, 1 Maine Coon, 1 chartreux et 1 abyssin. On compte 16 femelles dont 15 stérilisées et 16 mâles dont 12 castrés.

Figure 22 : Diagramme de distribution des âges des chats inclus dans l'étude au moment de la première injection de darbépoétine



2) *Étiologie de l'anémie*

La cause de l'anémie était liée à une MRC chez 31 des chats avec une composante inflammatoire identifiées chez 22 d'entre eux. Un seul chat avait une anémie d'origine purement inflammatoire. Les facteurs ayant permis de considérer une composante inflammatoire chez ces 23 chats sont détaillés dans le tableau 12.

Tableau 12 : Facteurs expliquant la composante inflammatoire de l'anémie des 23 chats concernés

		SAA > 10 mg/L	Pose DPVE ou stent récente*	Obstruction urétérale	Pyélonéphrite	Cholangite	Pancréatite	Entéropathie chronique non spécifique	PIF
Chats atteints de MRC	1	X			X		X		
	2				X		X	X	
	3		X						
	4		X		X				
	5		X						
	6		X		X				
	7			X					
	8		X		X				
	9		X		X				
	10		X						
	11			X	X				
	12		X						
	13		X						
	14		X						
	15			X					
	16					X			
	17				X				
	18		X			X			
	19								X
	20		X						
	21					X			
	22					X			X
Anémie purement inflammatoire						X	X	X	

* Pose d'une DPVE ou d'un stent urétéral dans le mois précédent la première injection de darbépoétine

3) Comorbidités

Durant le traitement, 85 comorbidités ont été rapportées chez 31 des 32 chats. Ces comorbidités incluaient des maladies intestinales (3 entéropathies chroniques non spécifiques), des maladies cardiaques (8 pathologies cardiaques identifiées et 15 souffles non explorés), 3 pancréatites, 1 cas de cholangite, 2 cas de FELV, 1 cas de PIF, 5 cas d'épanchement abdominal ainsi que des affections de l'appareil urinaire : 17 infections du tractus urinaire (ITU), 11 pyélonéphrites et 23 cas d'urolithiases.

Le chat atteint d'anémie purement inflammatoire souffrait de l'association d'une cholangite, d'une entéropathie chronique non spécifique et d'une pancréatite chronique.

Sur les 32 chats, 15 avaient une DPVE au moment du traitement, un avait un stent urétéral et un avait à la fois une DPVE et un stent urétéral.

A l'initiation du traitement, 16 chats parmi les 31 atteints de MRC étaient en IRA.

4) **Données biologiques**

a. Données biochimiques et hématologiques à l'initiation du traitement

L'hématocrite initial était disponible pour les 32 chats. Il a été mesuré le jour de la première injection de darbépoétine pour 20 chats, 24h avant la première injection de darbépoétine pour 5 chats, 48h avant pour 3 chats, sept jours, neuf jours, dix jours pour 1 chat à chaque fois et enfin 24h après la première injection de darbépoétine pour 1 chat (tableau 13).

L'hémogramme initial est disponible pour 29 chats. Il a été mesuré, le jour de la première injection pour 10 chats, 24 heures avant pour 4 chats, 48h avant la première injection de darbépoétine pour 3 chats, cinq jours, sept jours, huit jours, neuf jours et dix jours avant la première injection de darbépoétine pour respectivement 1, 4, 1, 2 et 2 chats, et enfin 24h après la première injection de darbépoétine pour 1 chat et 48h après la première injection pour 1 chat (tableau 13).

Pour les 31 chats atteints de MRC, la créatinémie initiale était disponible pour 28 chats. Par rapport à la première injection de darbépoétine, elle a été mesurée le jour même pour 18 chats, un jour avant pour 2 chats, deux jours avant pour 3 chats, sept jours avant pour 1 chat, neuf jours avant pour 1 chat, dix jours avant pour 1 chat et 24h après pour 2 chats (tableau 13).

A l'initiation du traitement à la darbépoétine, le degré d'anémie allait de grave à légère. Six chats avaient un hématocrite compris entre 10 et 14 % exclus (anémie grave), 22 chats avaient un hématocrite compris entre 14 et 20% exclus (anémie modérée) et 4 chats avaient un hématocrite compris entre 20 et 26% (anémie légère). Douze chats sur 29 (41,4%) avaient un comptage réticulocytaire supérieur à 60 000 réticulocytes par μL . Leur anémie était donc régénérative.

Tableau 13 : Valeurs initiales des paramètres hématologiques et biochimiques des chats de inclus dans l'étude

	<i>Effectif</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Ecart Type</i>
<i>Hématocrite initial</i>	32	16,7	3,2
<i>Hémoglobinémié initiale</i>	29	6,1	1,6
<i>Créatinémie initiale*</i>	28	41,5	18,2
<i>VGM initial</i>	28	43,5	6,2
<i>TCMH initial</i>	29	14,5	1,9
<i>Comptage réticulocytaire initial</i>	29	60193	54900
<i>Ret-He initiale</i>	4	17,1	1,6

**16 chats étaient en IRA à l'initiation du traitement*

b. Stade IRIS à l'initiation du traitement

Le stade IRIS des 31 chats en MRC a été évalué en utilisant la créatinémie initiale pour les 15 chats qui n'étaient pas en IRA à l'initiation du traitement, pour les autres le stade IRIS est le stade IRIS de l'animal juste avant l'IRA s'il est connu ou le stade IRIS déterminé après résolution de l'IRA (Tableau 14).

Tableau 14 : Stade IRIS initial des chats atteints de MRC de l'étude

<i>Stade IRIS</i>	<i>Effectif</i>
<i>I</i>	1
<i>II</i>	12
<i>III</i>	15
<i>IV</i>	3

B. Traitement

1) Administration de la darbépoétine

a. Doses

Dans notre structure hospitalière, basée sur les données de la littérature, l'administration de darbépoétine est systématisée à 1 µg/kg par voie sous-cutanée. Ainsi, 29 des 32 chats ont reçu une dose initiale de 1 µg/kg par voie sous-cutanée. Parmi eux un seul chat a reçu une dose différente de 0,5 µg/kg par voie sous-cutanée durant la suite de son traitement, ce qui ne concernait qu'une seule injection sur les 4 qu'il a reçu. Les autres ont reçu la même dose de darbépoétine à chaque injection durant toute la durée de leur traitement.

Trois des 32 chats ont reçu une dose initiale de 0,45 µg/kg par voie sous-cutanée. Parmi eux, un chat a eu sa dose modifiée au cours du traitement passant à 1 µg/kg par voie sous-cutanée jusqu'à la fin du traitement. Les autres ont reçu la même dose de darbépoétine à chaque injection durant toute la durée de leur traitement.

b. Fréquence d'administration

L'administration des injections de darbépoétine a été réalisée intégralement au ChuvA pour 17 chats sur les 32. Pour les autres, l'administration du traitement a été réalisée intégralement ou partiellement par le vétérinaire traitant ou par les propriétaires, avec pour certains quelques injections réalisées tout de même au ChuvA.

La fréquence d'administration était aléatoire et assez mal documentée pour la majorité des chats. Trois chats n'ont reçu qu'une seule injection de darbépoétine.

2) Administration de fer

a. Fer

Vingt-six des 32 chats ont reçu du fer au cours du traitement à la darbépoétine. Vingt-trois chats ont reçu une complémentation en fer à l'initiation du traitement et 11 chats ont reçu du fer après celle-ci. Douzes chats ont reçu une complémentation en fer uniquement à l'initiation du traitement tandis que 3 chats ont été complémentés en fer en cours de traitement mais pas à l'initiation de celui-ci. Aucun chat n'a reçu de fer avant l'initiation du traitement.

Vingt-deux chats ont reçu une ou plusieurs injections de fer dextran par voie intra-musculaire à la dose de 50 mg par chat ou de 10 mg/kg. Parmi eux 1 chat a eu sa dose augmentée à 100 mg par chat. Un chat a reçu uniquement 1 dose à 100 mg par chat. Un autre chat a reçu du citrate d'ammonium ferrique (Fercobsang ND) par voie orale (2 gouttes par jour) puis par voie intramusculaire (plusieurs injections de 1ml). Un chat a reçu du citrate d'ammonium ferrique (fercobsang ND) par voie orale (0,15 ml par prise).

b. Transfusion

Quatre chats ont reçu des transfusions de sang total avant l'administration du traitement à la darbépoétine. Un chat a reçu une transfusion la veille de la première injection, le deuxième a reçu une transfusion 11 jours avant, le troisième a reçu deux transfusions 6 jours et 2 jours avant la première injection de darbépoétine et le dernier a reçu une transfusion plus de trois mois avant le traitement.

C. Réponse au traitement

1) *Réponse*

Nous avons étudié la survie des animaux en fonction de leur statut répondant ou non répondant selon chacun des critères précédemment définis. Dix-sept chats sur 32 ont été suivis jusqu'à leur mort ou leur euthanasie, les 15 autres ont été perdus de vue. Le temps de médian de survie pour les 17 chats concernés était de 166 jours après la première injection de darbépoétine (valeurs marginales 19 jours et 1152 jours).

a. Critère : valeur seuil

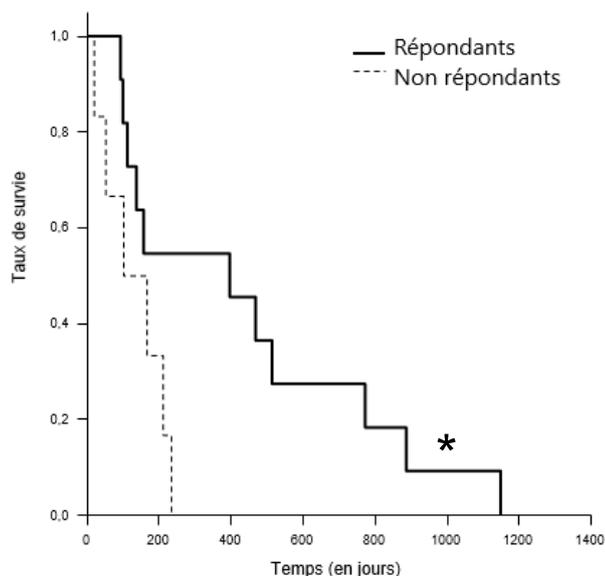
Pour cette analyse de survie, nous avons classé les chats dont l'hématocrite a dépassé ou égalé 25 % au cours du traitement comme répondants. Les autres étaient donc non répondants.

Ainsi selon ce critère, 22 chats (68,8%) étaient répondants. Un temps de survie était disponible pour 12 des répondants et 5 des non répondants. Il n'y avait aucune différence statistique de temps de survie entre les répondants et les non répondants selon ce critère.

b. Critère : augmentation de 10 points par rapport à la base

Les chats ont été considérés répondant si leur hématocrite augmentait d'au moins 10 points durant la période de traitement. Selon ce critère, 20 chats (62,5%) étaient répondants. Un temps de survie était disponible pour 11 des répondants et 6 des non répondants. Les chats répondants avaient un temps de survie statistiquement supérieur aux chats non répondants selon ce critère ($p=0,048$) (figure 23). La médiane de survie était de 133,5 jours pour les non répondants et de 398 jours pour les répondants.

Figure 23 : Courbe de survie de Kaplan-meier basée sur la réponse au traitement à la darbépoétine avec les répondants définis comme les chats dont l'hématocrite a augmenté d'au moins 10 points durant la période de traitement



**p<0.05 entre les groupes*

c. Critère mixte

Les chats ont été considérés répondant si leur hématocrite augmentait d'au moins 10 points et si leur hématocrite dépassait ou égalait 25 % au cours du traitement.

Selon ce critère, 24 chats (75 %) étaient répondants. Il n'y avait aucune différence statistique de temps de survie entre les répondants et les non répondants selon ce critère.

Les conclusions de cette première analyse montrent donc que le critère correspondant à l'augmentation de 10 points de l'hématocrite au cours du traitement permet de distinguer une différence significative de survie entre les répondants et non répondants. Ce critère nous paraît donc être le plus pertinent pour évaluer les capacités d'un animal à répondre ou non au traitement.

Afin de répondre aux objectifs secondaires de l'étude, nous avons, pour la suite, considéré les animaux comme répondants lorsque leur hématocrite augmentait de 10 points après le traitement à la darbépoétine.

2) *Temps de réponse*

Le temps de réponse était disponible pour 14 chats sur les 20 répondants. Le temps médian de réponse était de 19,5 jours (écart type de 13,6 jours).

3) *Comparaison des groupes « répondant » et « non répondant »*

La comparaison des groupes répondants et non répondants n'a mis en évidence aucune différence statistique en ce qui concerne les hématocrites de départ, le nombre de réticulocytes initial, l'âge de l'animal, le TCMH initial, le VGM initial, le nombre de comorbidités par chat, le fait de prendre 100g

durant le traitement, le fait d'être complétement en fer sous quelque forme que ce soit à l'initiation du traitement ou en cours de traitement, avoir une DPVE ou un stent urétéral, de prendre des IECA ou des inhibiteurs des récepteurs à l'angiotensine, le fait d'être en IRA à l'initiation du traitement ou enfin le fait d'avoir une anémie avec une composante inflammatoire ou non (tableaux 15 et 16).

Tableau 15 : Comparaison des groupes répondants et non répondants pour différentes variables par des tests de students

	Effectifs			Moyenne ± Ecart type		p
	Total	Répondant	Non Répondants	Répondant	Non Répondant	
Hématocrite initial (%)	32	20	12	16,1 ± 2,9	17,7 ± 3,4	0,087
Age (Années)	32	20	12	8,6 ± 3,3	9,6 ± 2,9	0,204
TCMH initial (pg)	29	17	12	14,4 ± 2,2	14,7 ± 1,4	0,379
VGM initial (fl)	28	17	11	43,3 ± 7	43,7 ± 4,9	0,443
Comptage réticulocytaire (/mm ³)	29	12	17	58535± 52623	62542± 60281	0,425
Nombre de comorbidités par chat	32	20	12	2,8 ± 1,5	3 ± 1,6	0,360

Tableau 16 : Comparaison des groupes répondants et non répondants pour différentes variables par des tests de Chi2

	Effectifs (animaux concernés/ Total)			p
	Total	Répondant	Non Répondants	
Prise de 100 g au cours du traitement	17/26	12/18	5/8	0,84
Complémentation initiale en fer	23/32	15/20	8/12	0,612
Complémentation en fer en cours de traitement	11/32	8/20	3/12	0,387
Avoir une DPVE ou un stent urétéral	17/32	10/20	7/12	0,647
Prise d'IECA ou d'inhibiteur des récepteurs à l'angiotensine	5/32	3/20	2/12	0,9
IRA à l'initiation du traitement	16/32	9/20	7/12	0,465
Composante inflammatoire de l'anémie	23/32	14/20	9/12	0,761

Le sexe de du chat n'avait pas d'influence sur le fait d'être répondant ou non (p=0,465). Le stade IRIS n'avait pas non plus d'influence (p=0,868).

D'après le tableau 15, le caractère inflammatoire de l'anémie ne semblait pas jouer un rôle dans la réponse au traitement.

D. Effets secondaires

Des effets secondaires au traitement ont été relevés chez 17 des 32 chats de l'étude (53,1%) (tableau 17).

La pression artérielle systolique a été évaluée à l'initiation du traitement ou avant celle-ci chez 9 chats et en cours de traitement chez 11 chats de l'étude. Tous ces chats étaient atteints de MRC.

Trois des 9 chats étaient hypertensifs à l'initiation du traitement (250 mmHg, 160 mmHg, 165 mmHg). Aucun d'entre eux n'a reçu de traitement pour corriger l'hypertension et nous avons des valeurs de pression artérielle systolique de suivi en cours de traitement pour un seul d'entre eux (celui-ci est passé de 250 mmHg à 140 mmHg en une semaine). Six chats ont révélé une hypertension artérielle en cours de traitement. La valeur de pression artérielle initiale était disponible pour uniquement 3 d'entre eux, aucun de ces 3 chats n'étaient hypertendus à l'initiation du traitement. Cinq des 6 chats en hypertension artérielle ont reçu un traitement anti-hypertensif à base d'amlodipine. Sur ces 6 chats, 5 étaient répondant au traitement et notamment les 3 chats pour lesquels la valeur initiale de pression artérielle systolique disponible ne révélait pas d'hypertension.

Dix chats ont présenté des vomissements durant la période de traitement, ces 10 chats étaient tous atteints de MRC. Des valeurs de la kaliémie en cours de traitement étaient disponibles pour 22 chats. Onze chats ont présenté une hyperkaliémie au cours du traitement et 4 de ces chats en présentaient déjà une à l'initiation du traitement.

On dénombre également 2 cas de diarrhées sur des animaux sans cause digestive identifiée. Deux chats ont présenté une hyperthermie en cours de traitement : les deux étaient des chats avec une DPVE, ayants tous deux une pyélonéphrite et l'un deux présentait une entéropathie inflammatoire non spécifique. Sur 23 chats pour lesquels au moins un hémogramme était disponible dans la période de traitement, un chat a présenté une thrombocytose. Un chat est décédé des suites d'une thrombo-embolie aortique (TEA) survenue durant la période de traitement.

Tableau 17 : Récapitulatifs des cas d'effets secondaires de l'étude

<i>Effet indésirable</i>	<i>Effectif monitoré</i>	<i>Nombre de chats ayant manifesté l'effet secondaire durant le traitement</i>
<i>Hypertension artérielle</i>	11	6
<i>Vomissements</i>	32	10
<i>Diarrhée</i>	32	2
<i>Hyperthermie</i>	32	2
<i>Convulsion</i>	32	0
<i>Hyperkaliémie (> 4,5 mmol/L)</i>	22	12
<i>Polycythémie</i>	23	0
<i>Thrombocytose</i>	23	1
<i>Thrombose</i>	32	1
<i>Douleurs articulaires</i>	32	0
<i>Douleurs au site d'injection</i>	32	0
<i>Réactions cutanées</i>	32	0

3. Discussion

A. Réponse au traitement

1) Critère de réponse

Trois critères ont été comparés pour définir la réponse au traitement à la darbépoétine. Pour le premier critère, tous les chats atteignant ou dépassant 25 % d'hématocrite étaient considérés répondants. Pour le deuxième, tous les chats qui augmentaient leur hématocrite de 10 points ou plus étaient considérés comme répondants. Pour le troisième, tous les chats qui répondaient à l'un ou l'autre des deux premiers critères étaient considérés comme répondants au traitement. Ainsi, 68,8 % des chats ont répondu au traitement selon le premier critère, 62,5 % des chats selon le second critère et 75 % des chats selon le troisième critère. Seul l'établissement des groupes répondants et non répondants selon le deuxième critère a montré une différence de survie significative entre les deux groupes. **Une augmentation de l'hématocrite d'au moins 10 points suite à l'administration du traitement semble donc être le critère le plus efficace pour différencier les répondants des non répondants.**

Dans l'étude de Chalhoub *et al.*, le critère de réponse au traitement correspondait au premier critère de notre étude (hématocrite >25 %), ils ont ainsi mis en évidence une différence statistique de survie entre le groupe répondant et le groupe non répondant, contrairement à nos travaux. Dans l'étude de Chalhoub *et al.*, les effectifs étaient cependant plus importants puisque les temps de survie étaient disponibles pour 25 chats contre 17 animaux dans la nôtre (Chalhoub *et al.*, 2012). Dans notre étude, l'absence de différence significative sur la survie avec les groupes classés selon le critère 1 pourrait donc être due à une trop faible puissance statistique.

Malgré l'effectif réduit on trouve cependant une différence statistique de survie selon le deuxième critère ce qui montre que celui-ci est probablement le critère le plus fiable pour objectiver la réponse au traitement à la darbépoétine.

L'utilisation de la valeur seuil de 25 % pour distinguer les chats répondants des chats non répondants semble donc être un critère moins robuste pour évaluer la réponse au traitement. Il y a plusieurs arguments qui permettent d'expliquer ce résultat. Tout d'abord, ce critère permet d'inclure dans le groupe des répondants des chats dont l'hématocrite initial est supérieur ou égal 20 %. L'augmentation de l'hématocrite nécessaire pour atteindre les 25 % peut donc être faible, voire être liée à des facteurs indépendants de l'administration de darbépoétine (déshydratation au moment de la mesure, imprécision de la mesure, *etc.*). Dans notre étude 4 chats possédaient ainsi un hématocrite compris entre 20 et 25 % au moment de l'initiation du traitement. Parmi eux, 3 des chats étaient répondants. La baisse de l'hématocrite peut aussi être liée à des affections aiguës pouvant entraîner une majoration de l'anémie. La simple correction de ces affections peut ainsi suffire à augmenter l'hématocrite des chats atteints et leur permettre ainsi de répondre à l'un des critères sans pour autant répondre réellement au traitement. En effet dans notre étude, 17 chats étaient en IRA au moment de l'initiation du traitement, 13 chats ont été traités par la pose d'un dispositif de DPVE ou d'un stent urétéral dans les deux semaines avant l'initiation du traitement et deux chats ont reçu leur première injection de darbépoétine quand ils étaient en obstruction urétérale dans les 4 jours précédant la pose d'une DPVE ou d'un stent. Ce biais semble influencer davantage la répartition des animaux selon le critère 1 que selon le critère 2 car 23 des 32 chats (72 %) de l'étude présentaient un hématocrite initial strictement supérieur à 15% et donc une augmentation moins

importante de l'hématocrite permettait de les classer comme répondant selon le critère 1 par rapport au critère 2.

Il est intéressant de noter que dans le résumé des caractéristiques produit (RCP) de l'Aranesp ND, il est conseillé, chez des patients humains atteints de MRC, d'augmenter la dose administrée lorsque l'augmentation de l'hémoglobine est insuffisante (moins de 1 g/dL [0,6 mmol/L] en quatre semaines). C'est donc bien ici une augmentation des valeurs de l'hémoglobine qui permet d'objectiver la réponse plutôt qu'une valeur seuil, ce qui est conforme avec le critère 2 plutôt que le critère 1. Dans l'étude de Fiocchi *et al.*, étudiant la réponse à la darbépoétine chez le chien, deux critères de réponse ont été utilisés pour distinguer les chiens répondants des chiens non répondants au traitement. Le premier critère était d'atteindre un hématocrite supérieur à 30% et le deuxième était d'augmenter son hématocrite de 10 points. Il n'y avait pas de différence significative concernant la durée de survie entre le groupe répondant et le groupe non répondant au traitement quel que soit le critère considéré. Il est vraisemblable aussi que la définition de la valeur seuil de 25% qui a été arbitraire soit une valeur insuffisante chez le chat pour améliorer significativement la durée de survie, et devrait être validée.

Les données d'efficacité de la darbépoétine sur la survie n'existent pas à l'heure actuelle chez les carnivores domestiques, néanmoins, l'amélioration de la survie que nous avons observée chez les animaux répondeurs est un argument fort en faveur de son efficacité. Il a été prouvé chez l'homme, le chien et le chat que la correction de l'anémie des patients améliorerait leur qualité de vie (Cowgill *et al.*, 1998 ; Iseki et Kohagura, 2007). De plus, l'anémie est un facteur pronostic négatif chez le chat ainsi on pouvait s'attendre à ce que la correction de l'hématocrite soit corrélée à une augmentation significative de la survie comme c'est le cas dans nos résultats (King *et al.*, 2007). Afin de confirmer ces données et d'objectiver l'efficacité de la darbépoétine chez le chat, il est aujourd'hui nécessaire qu'une étude prospective en comparaison avec un placebo soit conduite.

2) Temps médian de réponse

Le temps médian de réponse était de 19,5 jours dans notre étude si l'on identifiait les chats répondants selon le critère 3. Cependant, nous avons utilisé pour calculer ce temps médian, les temps de réponse des chats pour lesquels le temps entre la date du dernier hématocrite qui ne permettait pas au chat d'être considéré comme répondant et la date du premier hématocrite qui permettait de le considérer comme répondant (soit le premier hématocrite supérieur de 10 points ou plus à l'hématocrite initial) était inférieur à 15 jours. Ainsi le temps de réponse des animaux peut avoir une imprécision allant jusqu'à plus ou moins 15 jours. Le temps médian de réponse obtenu est donc imprécis et peu utilisable sachant que les temps médians de réponse au traitement chez le chien et le chat donnés dans la littérature sont de l'ordre de 3 à 4 semaines. Dans l'étude de Chalhoub *et al.* sur le chat, le temps médian de réponse à la darbépoétine était de 21 jours et correspondait au temps entre la première injection de darbépoétine et le premier hématocrite supérieur ou égal à 25% (Chalhoub *et al.*, 2012 ; Fiocchi *et al.*, 2017).

B. Cause d'échec du traitement

Dans notre étude, l'existence d'animaux répondeurs et non répondeurs pose la question des causes potentielles d'échec au traitement. Parmi l'ensemble des critères étudiés, aucune association significative n'a pu être mise en évidence avec le caractère répondeur ou non. Néanmoins, quelques hypothèses peuvent être avancées concernant les causes potentielles d'échec.

1) ***Influence des conditions de mise en place du traitement***

a. Posologie de la Darbépoétine

Dans notre étude, tous les chats excepté quatre n'ont reçu que des doses de 1 µg/kg. Cette dose est systématique dans les prescriptions faites au Chuva et n'est pas modulée. Ainsi nous ne pouvons pas étudier l'influence de la dose de darbépoétine sur la réponse au traitement dans cette étude et notamment l'influence d'une augmentation de la dose chez les chats ne répondant pas initialement au traitement. Dans l'étude de Chalhoub *et al.*, 2 chats non répondants à la dose initiale de 1 µg/kg par voie sous-cutanée une fois par semaine ont eu leur dose augmentée à 2 µg/kg à la même fréquence sans plus de résultats et six chats non répondants à la dose initiale de 0,5 µg/kg par voie sous-cutanée une fois par semaine ont eu leur dose augmentée à 1 µg/kg à la même fréquence, deux ont répondu. Ainsi, l'augmentation de la dose a permis la réponse au traitement chez des chats non répondants uniquement pour des doses initiales de 0,5 µg/kg. Cependant l'augmentation de la dose n'a concerné que 8 chats dans l'étude ce qui n'est pas suffisant pour conclure. La seule conclusion de l'étude sur la dose était qu'une dose initiale de 1 µg/kg par voie sous-cutanée était plus efficace qu'une dose de 0,45 µg/kg à la même fréquence. Le faible effectif ne permettait cependant pas de faire de recommandation sur la dose (Chalhoub *et al.*, 2012). Notre étude n'apporte pas plus précision sur l'efficacité du traitement en fonction de la dose administrée et sur la posologie recommandable chez le chat.

L'augmentation de la dose en darbépoétine lors de non réponse au traitement est une mesure recommandée. Le fait qu'elle n'ait pas été réalisée chez les chats de notre étude peut être un facteur de non réponse au traitement.

La fréquence et le nombre d'injections est un paramètre qui semble intéressant d'étudier. Dans notre étude, en raison des multiples acteurs impliqués dans le traitement, le nombre de doses et la fréquence des injections ne sont pas déterminés de façon certaine chez tous les animaux. Trois chats ont reçu une seule injection de darbépoétine, un seul chat a répondu au traitement sur les trois.

D'une manière générale, comme précisé dans la partie introductive, la pharmacocinétique de la darbépoétine chez le chat est aujourd'hui relativement mal connue et les doses sont principalement extrapolées de la littérature humaine. Il est possible que certains facteurs que nous n'avons pas étudiés ici puissent être responsables d'une variabilité pharmacocinétique à l'origine d'une variabilité de réponse au traitement. Cet élément est un argument en faveur d'une étude pharmacocinétique de la darbépoétine chez le chat afin d'optimiser la dose et la posologie de la molécule dans cette espèce.

b. Fer

Le fer est un composant essentiel à la formation de l'hémoglobine. La carence en fer peut non seulement nuire à l'érythropoïèse mais aussi à la réponse au traitement aux ESA. Le lien entre la carence en fer et le défaut de réponse aux ESA a été montré chez l'homme comme chez les carnivores domestiques. Chez l'homme, la carence en fer est la première cause de défaut de réponse aux ESA (Cowgill, 1992 ; Randolph *et al.*, 1999 ; Langston *et al.*, 2003 ; Randolph *et al.*, 2004 ; Johnson *et al.*, 2007). La comparaison des données de l'exploration biochimique du fer entre répondants et non répondants peut donc fournir des précisions sur le rôle d'une carence en fer chez les chats qui n'ont pas répondu au traitement. Nous n'avons pas réalisé cette comparaison en raison de la non disponibilité de ces données. Dans l'étude de Chalhoub *et al.*, la capacité de fixation

totale du fer (TBIC), la concentration sérique en ferritine et le pourcentage de saturation de la transferrine étaient disponibles pour 8 chats, ce qui n'était pas suffisant pour établir une différence statistique de ces données entre le groupe répondant et non répondant (Chalhoub *et al.*, 2012).

Pour essayer de renseigner l'implication d'une carence en fer chez les chats non répondants au traitement de notre étude nous avons comparé les TCMH et VGM initiaux des chats répondants et non répondants. Ces deux paramètres, lorsqu'ils sont diminués, signent une anémie ferriprive. Il n'y avait aucune différence statistique entre les groupes répondants et non répondants pour ces deux paramètres. Cependant une étude chez l'homme a conclu que le VGM ou le TCMH n'étaient que « modérément exact dans le diagnostic d'une carence en fer et des valeurs normales de ces paramètres n'excluent pas des stocks de fer très faible chez les patients anémiques » (Åsberg *et al.*, 2014). Ainsi l'absence de différence statistique observée pourrait être liée à une mauvaise sensibilité et spécificité du diagnostic des carences en fer dans notre étude.

Pour renseigner l'implication d'une carence en fer dans la non réponse au traitement, nous aurions pu comparer les valeurs de Ret-He entre le groupe des répondants et le groupe des non répondants. Les études chez le chien ont mis en évidence une corrélation entre une valeur basse de RET-He (inférieure à 20,9 pg) et une carence en fer avec une sensibilité et une spécificité de respectivement 85% et 99%. Ainsi, cette mesure pourrait être utilisée pour objectiver le rôle d'une carence en fer dans la non réponse au traitement à la darbépoétine. Dans notre étude, une Ret-He était disponible à l'initiation du traitement pour seulement 4 chats ce qui était insuffisant pour comparer ce paramètre entre le groupe des répondants et le groupe des non répondants. La RET-He est de plus en plus mesurée par les automates de laboratoires que l'on retrouve en clinique vétérinaire, elle sera donc de plus en plus disponible pour son utilisation dans de futures études (Garzia *et al.*, 2007 ; Fuchs *et al.*, 2017a ; Fuchs *et al.*, 2017b).

Enfin nous nous sommes interrogés sur l'influence d'une complémentation en fer sur la réponse au traitement. Nous avons comparé les groupes répondants et non répondants sur la présence ou non d'une complémentation en fer donnée lors de l'initiation du traitement, puis en cours de traitement. Il n'y avait pas de différences statistiques entre les deux groupes pour l'un ou l'autre de ces paramètres. Cette même comparaison a été faite dans l'étude de Fiocchi *et al.* chez le chien et dans cette étude non plus aucune différence statistique n'a été mise en évidence (Fiocchi *et al.*, 2017).

Cette étude ne permet donc pas de conclure sur le lien entre une carence en fer et un défaut de réponse au traitement à la darbépoétine ou sur l'utilité de la complémentation en fer associée au traitement aux ESA malgré un effet documenté chez l'Homme.

2) *Influence de l'affection initiale*

a. État général et comorbidités

En médecine vétérinaire, le premier objectif du traitement aux ESAs est d'améliorer la qualité de vie. Pour objectiver la reprise d'un bon état général et l'amélioration du confort de vie, nous avons décidé de nous référer à la prise de poids des animaux. Nous avons considéré que la prise de 100g durant le traitement constituait une preuve de l'amélioration de la qualité de vie et de l'état général de l'animal. Dans notre étude, 17 chats avaient un suivi de poids régulier. Parmi eux, 66,7% des répondants et 62,5% des non répondants ont présenté une augmentation du poids de 100 g. Il n'y avait pas différence statistique entre les deux groupes. Dans notre étude, l'amélioration de la qualité de vie n'était donc pas corrélée à l'amélioration de l'hématocrite et la non amélioration ne constituait donc pas un élément favorisant un défaut de réponse. Cependant, la qualité de vie est un concept

difficile à appréhender et n'est pas uniquement reflétée par la reprise du poids. On aurait pu également prendre en compte l'amélioration des symptômes liés à l'anémie pour objectiver l'amélioration de la qualité de vie mais un grand nombre d'entre eux comme l'anorexie ou la faiblesse sont des symptômes qui peuvent être communément rencontrés chez des chats atteints de MRC ou de processus inflammatoire comme le montraient les chats inclus dans l'étude.

L'amélioration de l'état général, la reprise de poids et le taux de survie peuvent être également influencés par la présence de comorbidités. Nous avons comparé la moyenne des comorbidités par chat entre le groupe répondant et le groupe non répondant mais il n'y avait pas de différence statistique ainsi le nombre de comorbidités ne semble pas jouer un rôle dans la réponse au traitement. Cette comparaison a également été réalisée dans l'étude de Fiocchi *et al.* sur le chien, aucune différence significative n'a été montrée (Fiocchi *et al.*, 2017).

Dans notre étude, un grand nombre de chat était équipé d'un système de DPVE ou d'un stent urétéral. Il n'existe pas dans la littérature de publication qui s'intéresse aux traitements par les ESA des animaux ayant ces dispositifs. Nous nous sommes donc intéressés à l'influence de ces dispositifs sur la réponse au traitement. Aucune différence statistique entre le nombre de chats ayant un tel dispositif dans le groupe des répondants ou dans le groupe des non répondants.

b. Gravité et étiologie de l'anémie

Dans notre étude, 31 chats étaient atteints de MRC. Elle représente la très grande majorité des cas de traitement aux ESA chez l'animal. Chez l'homme, le stade d'avancement de la MRC influence la réponse au traitement aux ESA. Ainsi, en stade terminal de MRC, on compte un plus grand nombre de cas de résistance au traitement (Ogawa et Nitta, 2015). Nous avons vérifié cette hypothèse chez les chats de notre étude mais il n'y avait pas de corrélation entre le stade IRIS et la réponse au traitement. Ce résultat semble surprenant et il est possible que dans notre étude, cette corrélation soit masquée par le très grand nombre de chat ayant une composante inflammatoire. En effet, 22 des 31 chats de l'étude atteints de MRC avaient une composante inflammatoire. L'inflammation est avec la carence en fer la principale raison d'un défaut de réponse aux ESA chez l'homme atteints de MRC (Ogawa et Nitta, 2015). Dans notre étude il n'y avait cependant pas de corrélation entre le fait d'avoir une anémie avec une composante inflammatoire et le fait de ne pas répondre au traitement.

Chez l'homme dans la plupart des études ayant mis en évidence la corrélation entre l'inflammation et le défaut de réponse aux ESA, le caractère inflammatoire de l'anémie des patients était confirmé par mesure des protéines de la phase aigüe sérique et notamment, la protéine C-réactive (Johnson *et al.*, 2007 ; Ogawa et Nitta, 2015 ; Ylenia *et al.*, 2019). Nous n'avons pu réaliser cela chez nos chats en raison de la faible disponibilité de mesure de SAA notamment dans les dossiers. Le caractère inflammatoire de l'anémie des chats de l'étude était déterminé par des données cliniques et le diagnostic de maladies inflammatoires, des SAA disponibles pour seulement trois chats ont également aidé à déterminer le caractère inflammatoire ou non de leur anémie.

Dans notre étude, la gravité de l'anémie, estimée avec l'hématocrite initial n'influçait pas non plus la réponse au traitement. Ce résultat est discordant avec l'étude menée chez le chien où la non réponse au traitement était corrélé à un hématocrite de départ plus bas (Fiocchi *et al.*, 2017).

C. Effets secondaires

Dans notre étude, 54,5% des chats monitorés ont présenté de l'hypertension en cours de traitement (6 chats sur 11 pour lesquels des mesures de pression artérielle sont disponibles après la première injection de darbépoétine). L'attribution de cette hypertension au traitement à la darbépoétine est discutable. En premier lieu, ces 6 chats étaient atteints de MRC, affection responsable dans près de 30 à 40 % des cas d'hypertension artérielle systémique chez le chat (Bijsmans *et al.*, 2015). Par ailleurs, la consultation ou l'hospitalisation est un facteur de stress dont l'effet sur la pression artérielle est prouvé chez le chat, le stress fait augmenter la pression artérielle. Cette augmentation de la pression artérielle est d'ailleurs significativement plus importante chez les chats atteints de MRC par rapport aux autres chats (Belew *et al.*, 1999). Enfin, sur les 6 chats qui ont présenté une hypertension durant le traitement, la valeur initiale de la pression artérielle n'était disponible que pour 3 d'entre eux, il n'y avait pas d'hypertension artérielle avant la mise en place du traitement chez ces trois animaux. Ainsi sur tous les chats de l'étude, il y a seulement trois chats pour lesquels nous sommes certains qu'il y a eu une augmentation de la pression artérielle systolique menant à une hypertension à la mise en place du traitement. Dans l'étude de Chalhoub *et al.*, 41% des chats monitorés ont présenté de l'hypertension en cours de traitement.

L'apparition de crises convulsives suite à la mise en place du traitement est une complication qui a été observée dans plusieurs études. Selon ces études 14 à 18% des animaux étaient touchés. (Cowgill, 1992 ; Cowgill *et al.*, 1998 ; Langston *et al.*, 2003 ; Chalhoub *et al.*, 2012 ; Fiocchi *et al.*, 2017). Dans l'étude de Chalhoub *et al.*, 16% des chats ont développé des crises convulsives après mise en place du traitement et 75% de ces chats étaient hypertensifs. Dans notre étude, aucun épisode de convulsion n'a été rapporté après la mise en place du traitement, malgré la présence d'hypertension chez un certain nombre d'entre eux. Cette absence de crises convulsives est difficile à expliquer et pourrait être due à une transmission incomplète des informations de suivi chez les chats principalement suivis par leur vétérinaire traitant mais ce symptôme est souvent très remarqué par les propriétaires donc cela paraît peu probable. Le faible effectif pourrait aussi être avancé mais les études précédentes avaient toutes des prévalences d'apparition des convulsions assez similaires entre elles pour des effectifs réduits (entre 11 et 33 animaux).

Dans notre étude, 10 chats ont eu au moins un épisode de vomissements et deux cas de diarrhées ont été aussi relevés. Ces signes digestifs sont très difficilement imputables au traitement. Les animaux concernés présentaient tous une MRC à l'exception d'un seul qui présentait une triade féline. Les signes digestifs sont très fréquents dans ces deux maladies. De plus, parmi les chats atteints de MRC présentant ces signes, 2 étaient également atteints de pancréatites et 2 autres avaient des entéropathies chroniques non spécifiques.

La fièvre a été observée chez deux chats, soit 6% contre 12% dans l'étude de Chalhoub *et al.* Les deux étaient des chats avec une DPVE, ayants tous deux une pyélonéphrite et l'un deux présentait une entéropathie inflammatoire non spécifique. Ainsi, l'hyperthermie de ces animaux est difficilement imputable au traitement.

Dans notre étude, un animal est décédé à la suite d'une TEA, durant la période de traitement. Ce chat n'avait pas d'antécédent cardiaque identifié. La thrombose est un effet secondaire du traitement aux ESA qui n'était pas rapportée dans la littérature vétérinaire jusqu'à présent. Chez l'homme, le risque de thrombose lors de traitement aux ESA est principalement accru dans le cas de cancer. Les patients cancéreux sont naturellement plus à risque de thrombose dans le cas de comptage

plaquettaires élevés (pas nécessairement au-dessus de la norme) et de l'utilisation de certains agents de chimiothérapie thrombogènes. D'après une méta-analyse regroupant 57 études, le traitement aux ESA augmente le risque de thromboembolie de 67% chez les patients atteints de cancer (Bohlius *et al.*, 2006). Chez les patients atteints de MRC, l'administration de hautes doses d'ESA est associée à une augmentation du risque de thromboses et une augmentation du comptage plaquettaire notamment chez les patients non complémentés en fer (Besarab *et al.*, 1998). Un des mécanismes proposés est le suivant : l'administration d'ESA et notamment sans l'administration de fer, peut aboutir à une carence en fer relative, il existe un lien direct entre une carence en fer et un comptage plaquettaire élevé. Cette carence en fer augmente le nombre de plaquettes et le risque de thrombose (Keung et Owen, 2004 ; Dahl *et al.*, 2008). Dans notre étude, sur 23 chats pour lesquels au moins un hémogramme était disponible dans la période de traitement, un seul chat a présenté une thrombocytose. L'animal ayant présenté une TEA présentait cependant un comptage plaquettaire dans les normes. Les cas de thrombocytoses n'ont pas été comptabilisés dans l'étude de Chalhoub *et al.* sur le chat. Dans l'étude de Fiocchi *et al.* sur le chien, 19 des 22 chiens monitorés ont eu un comptage plaquettaire au-dessus de la norme durant la période de traitement.

Conclusion

La darbépoétine est une molécule efficace pour corriger l'hématocrite des chats atteints d'anémie liée à une MRC. Son administration hebdomadaire rend l'observance et la mise en place du traitement plus simple que pour les autres ESA. L'anémie a un effet négatif sur le pronostic de la MRC, ce qui donne un intérêt particulier au traitement de celle-ci, notamment par la darbépoétine. Cependant, il existe encore peu d'études et de données relatives à l'utilisation des ESA chez les animaux domestiques. Cette étude avait pour objet de compléter les résultats de la seule étude s'intéressant au traitement de l'anémie liée à la MRC chez le chat en élargissant aux chats ayant une anémie inflammatoire.

Cette étude a confirmé que la principale utilisation des ESA était le traitement des anémies liées à une MRC : 31 des 32 chats de l'étude rétrospective étaient atteints de MRC et un seul avait une anémie d'origine purement inflammatoire.

L'étude rétrospective a permis de départager différents critères d'évaluation de la réponse au traitement à la darbépoétine. Une augmentation de l'hématocrite de 10 points ou plus, suite à l'administration de darbépoétine semble être un critère robuste pour discriminer les animaux répondeurs et non répondeurs. Dans notre étude, il s'agit du seul critère permettant d'observer une différence significative du taux de survie entre les animaux répondeurs et non répondeurs. Selon ce critère, 62,5% des chats de l'étude ont répondu au traitement.

Aucun facteur permettant de prévoir l'échec du traitement n'est ressorti de cette étude. Pour tous les paramètres testés, il n'y avait aucune différence significative entre le groupe des chats répondants au traitement et le groupe des chats qui ne répondaient pas.

Quelques effets secondaires au traitement référencés dans la littérature ont été notés chez les chats de l'étude sans qu'ils puissent être attribués à l'administration du traitement de façon certaine.

Aujourd'hui les recommandations pour la mise en place du traitement chez le chat sont de réaliser une injection sous cutanée de darbépoétine à la dose de 1µg/kg et d'effectuer un contrôle de l'hématocrite chaque semaine. La fréquence des injections peut être diminuée lorsque l'hématocrite a atteint une valeur supérieure ou égale à 25%. Le but du traitement par la suite est de maintenir l'hématocrite au-dessus de 25%.

Cette étude permet de reconsidérer les moyens d'évaluation de la réponse au traitement à la darbépoétine en pratique. L'augmentation de l'hématocrite semble être un facteur plus intéressant et plus fiable que le dépassement d'une valeur seuil pour objectiver la réponse au traitement.

Liste des références bibliographiques

- ABBO A.H., LUCROY M.D. (2007) Assessment of anemia as an independent predictor of response to chemotherapy and survival in dogs with lymphoma: 96 cases (1993-2006). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 231(12), 1836-1842
- ABELLA-BOURGÈS N., TRUMEL C., CHABANNE L., DIQUÉLOU A. (2005) Myélogramme et biopsie de moelle osseuse. *EMC - Vét.* 2(2), 74-95
- AGORAM B., SUTJANDRA L., SULLIVAN J.T. (2007) Population pharmacokinetics of darbepoetin alfa in healthy subjects. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 63(1), 41-52
- AGORAM B., AOKI K., DOSHI S., *et al.* (2009) Investigation of the effects of altered receptor binding activity on the clearance of erythropoiesis-stimulating proteins: Nonerythropoietin receptor-mediated pathways may play a major role. *J. Pharm. Sci.* 98(6), 2198-2211
- AKMAL M., SAWELSON S., KARUBIAN F., GADALLAH M. (1994) The prevalence and significance of occult blood loss in patients with predialysis advanced chronic renal failure (CRF), or receiving dialytic therapy. *Clin. Nephrol.* 42(3), 198-202
- AN G., OHLS R.K., CHRISTENSEN R.D., *et al.* (2017) Population Pharmacokinetics of Darbepoetin in Infants Following Single Intravenous and Subcutaneous Dosing. *J. Pharm. Sci.* 106(6), 1644-1649
- ANDERSON S.A., NIZZI C.P., CHANG Y.-I., *et al.* (2013) The IRP1-HIF-2 α axis coordinates iron and oxygen sensing with erythropoiesis and iron absorption. *Cell Metab.* 17(2), 282-290
- ANTONIJEVIĆ N., NESOVIĆ M., TRBOJEVIĆ B., MILOSEVIĆ R. (1999) [Anemia in hypothyroidism]. *Med. Pregl.* 52(3-5), 136-140
- ARAI M., DARMAN J., LEWIS A., YAMAMOTO J.K., DARMEN J. (2000) The use of human hematopoietic growth factors (rhGM-CSF and rhEPO) as a supportive therapy for FIV-infected cats. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 77(1-2), 71-92
- ÅSBERG A.E., MIKKELSEN G., AUNE M.W., ÅSBERG A. (2014) Empty iron stores in children and young adults--the diagnostic accuracy of MCV, MCH, and MCHC. *Int. J. Lab. Hematol.* 36(1), 98-104
- ASCHEMEYER S., QIAO B., STEFANOVA D., *et al.* (2018) Structure-function analysis of ferroportin defines the binding site and an alternative mechanism of action of hepcidin. *Blood.* 131(8), 899-910
- ATKINSON S.H., ROCKETT K.A., MORGAN G., *et al.* (2008) Tumor necrosis factor SNP haplotypes are associated with iron deficiency anemia in West African children. *Blood.* 112(10), 4276-4283
- AVNI T., BIEBER A., STEINMETZ T., LEIBOVICI L., GAFTER-GVILI A. (2013) Treatment of anemia in inflammatory bowel disease--systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 8(12), e75540
- BABITT J.L., LIN H.Y. (2012) Mechanisms of anemia in CKD. *J. Am. Soc. Nephrol.* 23(10), 1631-1634
- BAI S.C., SAMPSON D.A., MORRIS J.G., ROGERS Q.R. (1989) Vitamin B-6 Requirement of Growing Kittens. *J. Nutr.* 119(7), 1020-1027
- BARTGES J.W. (2012) Chronic kidney disease in dogs and cats. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 42(4), 669-692, vi
- BARTLETT C., CLANCY G.J., COWAN D.A., HEALY J.F. (2006) Detection of the administration of human erythropoietin (HuEPO) to canines. *J. Anal. Toxicol.* 30(9), 663-669
- BEGUM S., LATUNDE-DADA G.O. (2019) Anemia of Inflammation with An Emphasis on Chronic Kidney Disease. *Nutrients.* 11(10)
- BELEW A.M., BARLETT T., BROWN S.A. (1999) Evaluation of the White-Coat Effect in Cats. *J. Vet. Intern. Med.* 13(2), 134-142

- BELLIER S., CORDONNIER N. (2010) Les valeurs usuelles en hématologie vétérinaire. *Rev. Francoph. Lab., Normes biologiques en médecine vétérinaire* n°420, 27-42
- BESARAB A., BOLTON W.K., BROWNE J.K., *et al.* (1998) The Effects of Normal as Compared with Low Hematocrit Values in Patients with Cardiac Disease Who Are Receiving Hemodialysis and Epoetin. *N. Engl. J. Med.* 339(9), 584-590
- BIJSMANS E.S., JEPSON R.E., CHANG Y.M., SYME H.M., ELLIOTT J. (2015) Changes in Systolic Blood Pressure over Time in Healthy Cats and Cats with Chronic Kidney Disease. *J. Vet. Intern. Med.* 29(3), 855-861
- BOGIN E., MASSRY S.G., LEVI J., *et al.* (1982) Effect of parathyroid hormone on osmotic fragility of human erythrocytes. *J. Clin. Invest.* 69(4), 1017-1025
- BOHLIUS J., WILSON J., SEIDENFELD J., *et al.* (2006) Recombinant Human Erythropoietins and Cancer Patients: Updated Meta-Analysis of 57 Studies Including 9353 Patients. *J. Natl. Cancer. Inst.* 98(10), 708-714
- BOHN A.A. (2013) Diagnosis of disorders of iron metabolism in dogs and cats. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 43(6), 1319-1330, vii
- BOONE L.I., KNAUER K.W., RAPP S.W., STEWART J.F., MODIANO J.F. (1998) Use of human recombinant erythropoietin and prednisone for treatment of myelodysplastic syndrome with erythroid predominance in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 213(7), 999-1001
- BOYD L.M., LANGSTON C., THOMPSON K., ZIVIN K., IMANISHI M. (2008) Survival in cats with naturally occurring chronic kidney disease (2000-2002). *J. Vet. Intern. Med.* 22(5), 1111-1117
- BOYD K.L., BOLON B. (2010) Embryonic and Fetal Hematopoiesis. In *SCHALM'S VETERINARY HEMATOLOGY*, 6^e ed. Ames, Iowa, USA, Wiley-Blackwell
- BRENNER B.M., MEYER T.W., HOSTETTER T.H. (1982) Dietary protein intake and the progressive nature of kidney disease: the role of hemodynamically mediated glomerular injury in the pathogenesis of progressive glomerular sclerosis in aging, renal ablation, and intrinsic renal disease. *N. Engl. J. Med.* 307(11), 652-659
- BROWN S.A. (2007) Management of chronic kidney disease. In *BSAVA Manual of Canine and Feline Nephrology and Urology*, 2^e ed. Gloucester, British Small animal Veterinary Association
- BRUNATI C., CAPPELLINI M.D., DE FEO T., *et al.* (1992) Uremic inhibitors of erythropoiesis: a study during treatment with recombinant human erythropoietin. *Am. J. Nephrol.* 12(1-2), 9-13
- BUEMI M., LACQUANITI A., MARICCHIOLO G., *et al.* (2009a) Regenerative medicine: does Erythropoietin have a role? *Curr. Pharm. Des.* 15(17), 2026-2036
- BUEMI M., LACQUANITI A., BOLIGNANO D., *et al.* (2009b) Down with the erythropoietin. Long live the erythropoietin! *Curr. Drug. Targets.* 10(10), 1028-1032
- BUTT A.A., UMBLEJA T., ANDERSEN J.W., *et al.* (2011) The incidence, predictors and management of anaemia and its association with virological response in HCV/HIV coinfecting persons treated with long-term pegylated interferon alfa 2a and ribavirin. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 33(11), 1234-1244
- CAR B.D. (2010) The Hematopoietic System. In *SCHALM'S VETERINARY HEMATOLOGY*, 6^e ed. Ames, Iowa, USA, Wiley-Blackwell
- CERNARO V., LACQUANITI A., BUEMI A., LUPICA R., BUEMI M. (2014) Does erythropoietin always win? *Curr. Med. Chem.* 21(7), 849-854
- CERNARO V., COPPOLINO G., VISCONTI L., *et al.* (2019) Erythropoiesis and chronic kidney disease-related anemia: From physiology to new therapeutic advancements. *Med. Res. Rev.* 39(2), 427-460
- CHALHOUB S., LANGSTON C., EATROFF A. (2011) Anemia of renal disease: what it is, what to do and what's new. *J. Feline Med. Surg.* 13(9), 629-640
- CHALHOUB S., LANGSTON C.E., FARRELLY J. (2012) The use of darbepoetin to stimulate erythropoiesis in anemia of chronic kidney disease in cats: 25 cases. *J. Vet. Intern. Med.* 26(2), 363-369
- CHANDLER M.L., ELWOOD C., MURPHY K.F., GAJANAYAKE I., SYME H.M. (2007) Juvenile nephropathy in 37 boxer dogs. *J. Small. Anim. Pract.* 48(12), 690-694

- CHANG Y.-T., YANG C.-C., PAN S.-Y., *et al.* (2016) DNA methyltransferase inhibition restores erythropoietin production in fibrotic murine kidneys. *J. Clin. Invest.* 126(2), 721-731
- CHASIS J.A., MOHANDAS N. (2008) Erythroblastic islands: niches for erythropoiesis. *Blood.* 112(3), 470-478
- CHEN H., LUO B., YANG X., *et al.* (2014) Therapeutic effects of nonerythropoietic erythropoietin analog ARA290 in experimental autoimmune encephalomyelitis rat. *J. Neuroimmunol.* 268(1-2), 64-70
- CHERVIER C., CADORÉ J.L., RODRIGUEZ-PIÑEIRO M.I., DEPUTTE B.L., CHABANNE L. (2012) Causes of anaemia other than acute blood loss and their clinical significance in dogs. *J. Small. Anim. Pract.* 53(4), 223-227
- CHIKAZAWA S., DUNNING M.D. (2016) A review of anaemia of inflammatory disease in dogs and cats. *J. Small. Anim. Pract.* 57(7), 348-353
- COOK S.M., LOTHROP C.D. (1994) Serum erythropoietin concentrations measured by radioimmunoassay in normal, polycythemic, and anemic dogs and cats. *J. Vet. Intern. Med.* 8(1), 18-25
- COWGILL L.D., FELDMAN B., LEVY J., JAMES K. (1990) Efficacy of recombinant human erythropoietin (rHuEPO) for anemia in dogs and cats with renal failure. *J. Vet. Intern. Med.* 4, 126
- COWGILL L.D. (1992) Pathophysiology and management of anemia in chronic progressive renal failure. *Semin. Vet. Med. Surg. Small Anim.* 7(3), 175-182
- COWGILL L.D., NEAL L., EGRIE J.C., BROWNE J.K., MILLER A. (1994) Antigenicity of recombinant human erythropoietin (r-HuEPO) in normal dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 8, 167
- COWGILL L.D., JAMES K.M., LEVY J.K., *et al.* (1998) Use of recombinant human erythropoietin for management of anemia in dogs and cats with renal failure. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 212(4), 521-528
- CRIVELLENTI L.Z., BORIN-CRIVELLENTI S., FERTAL K.L., *et al.* (2017) Occult gastrointestinal bleeding is a common finding in dogs with chronic kidney disease. *Vet. Clin. Pathol.* 46(1), 132-137
- DAHER R., KARIM Z. (2017) Iron metabolism: State of the art. *Transfus. Clin. Biol.* 24(3), 115-119
- DAHL N.V., HENRY D.H., COYNE D.W. (2008) Editorial Focus: Thrombosis with Erythropoietic Stimulating Agents—Does Iron-Deficient Erythropoiesis Play a Role? *Semin. Dial.* 21(3), 210-211
- DALLALIO G., MEANS R.T. (2003) Effects of oxidative stress on human erythroid colony formation: Modulation by gamma-interferon. *J. Lab. Clin. Med.* 141(6), 395-400
- DANE D.M., YILMAZ C., GYAWALI D., *et al.* (2019) Erythropoietin inhalation enhances adult canine alveolar-capillary formation following pneumonectomy. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 316(5), L936-L945
- DEBELJAK N., SOLAR P., SYTKOWSKI A.J. (2014) Erythropoietin and cancer: the unintended consequences of anemia correction. *Front. Immunol.* 5, 563
- DIBARTOLA S.P., RUTGERS H.C., ZACK P.M., TARR M.J. (1987) Clinicopathologic findings associated with chronic renal disease in cats: 74 cases (1973-1984). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 190(9), 1196-1202
- DOSHI S., CHOW A., RUIXO J.J.P. (2010) Exposure-Response Modeling of Darbepoetin Alfa in Anemic Patients With Chronic Kidney Disease Not Receiving Dialysis. *J. Clin. Pharmacol.* 50(S9), 75S-90S
- DRÜEKE T.B., LOCATELLI F., CLYNE N., *et al.* (2006) Normalization of hemoglobin level in patients with chronic kidney disease and anemia. *N. Engl. J. Med.* 355(20), 2071-2084
- DRÜEKE T.B., PARFREY P.S. (2012) Summary of the KDIGO guideline on anemia and comment: reading between the (guide)line(s). *Kidney Int.* 82(9), 952-960
- DZIERZAK E., PHILIPSEN S. (2013) Erythropoiesis: development and differentiation. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 3(4), a011601
- EBERT B.L., BUNN H.F. (1999) Regulation of the erythropoietin gene. *Blood* 94(6), 1864-1877
- EGRIE J.C., GRANT J.R., GILLIES D.K., AOKI K.H., STRICKLAND T.W. (1993) The role of carbohydrate on the biological activity of erythropoietin. *Glycoconj. J.* 10(4), 263-263

- EGRIE J.C., DWYER E., BROWNE J.K., HITZ A., LYKOS M.A. (2003) Darbepoetin alfa has a longer circulating half-life and greater in vivo potency than recombinant human erythropoietin. *Exp. Hematol.* 31(4), 290-299
- ELLIOTT S., LORENZINI T., ASHER S., *et al.* (2003) Enhancement of therapeutic protein in vivo activities through glycoengineering. *Nat. Biotechnol.* 21(4), 414-421
- ELLIOTT J., BARBER P.J. (1998) Feline chronic renal failure: clinical findings in 80 cases diagnosed between 1992 and 1995. *J. Small. Anim. Pract.* 39(2), 78-85
- ELLIOTT J., WATSON A. (2014) Chronic kidney disease: International Renal Interest Society staging and management. *In Kirk's Current Veterinary Therapy XV. St Louis, MO: Saunders-Elsevier*, Eds Bonaugura J., Twedt D. pp 857–863
- ELSAIED M.E., SHARIF M.U., STACK A.G. (2016) Transferrin Saturation: A Body Iron Biomarker. *Adv. Clin. Chem.* 75, 71-97
- ESCHBACH J.W. (1989) Recombinant Human Erythropoietin in Anemic Patients with End-Stage Renal Disease: Results of a Phase III Multicenter Clinical Trial. *Ann. Intern. Med.* 111(12), 992
- FAHMY M., YOUNG S.P. (1993) Modulation of iron metabolism in monocyte cell line U937 by inflammatory cytokines: changes in transferrin uptake, iron handling and ferritin mRNA. *Biochem. J.* 296(Pt 1), 175-181
- FINCH C.A., BELLOTTI V., STRAY S., *et al.* (1986) Plasma ferritin determination as a diagnostic tool. *West. J. Med.* 145(5), 657-663
- FIOCCHI E.H., COWGILL L.D., BROWN D.C., *et al.* (2017) The Use of Darbepoetin to Stimulate Erythropoiesis in the Treatment of Anemia of Chronic Kidney Disease in Dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 31(2), 476-485
- FREI U., KWAN J.T.C., SPINOWITZ B.S., Epoetin Delta 3002 Study Group (2009) Anaemia management with subcutaneous epoetin delta in patients with chronic kidney disease (predialysis, haemodialysis, peritoneal dialysis): results of an open-label, 1-year study. *BMC Nephrol.* 10, 5
- FRY M.M. (2010) Anemia of Inflammatory, Neoplastic, Renal, and Endocrine Diseases. *In Schalm's Veterinary Hematology*, 6th ed. Ames, Iowa, USA, Wiley-Blackwell
- FU J.-S., LERTORA J.J.L., BROOKINS J., RICE J.C., FISHER J.W. (1988) Pharmacokinetics of erythropoietin in intact and anephric dogs. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 111(6), 669-676
- FUCHS J., MORITZ A., GRUSSENDORF E., *et al.* (2017a) Evaluation of reticulocyte hemoglobin content (RET-He) in the diagnosis of iron-deficient erythropoiesis in dogs. *Vet. Clin. Pathol.* 46(4), 558-568
- FUCHS J., MORITZ A., GRUSSENDORF E., *et al.* (2017b) Canine reticulocyte hemoglobin content (RET-He) in different types of iron-deficient erythropoiesis. *Vet. Clin. Pathol.* 46(3), 422-429
- GALLER A., TRAN J.L., KRAMMER-LUKAS S., *et al.* (2012) Blood vitamin levels in dogs with chronic kidney disease. *Vet. J.* 192(2), 226-231
- GALUSHKO E.A. (2014) The clinical significance of hepcidin detection in the patients with anemia and rheumatoid arthritis. *Klin. Med.* 92(6), 21-27
- GANZ T. (2019) Erythropoietic regulators of iron metabolism. *Free Radic. Biol. Med.* 133, 69-74
- GARELIUS H.K.G., JOHNSTON W.T., SMITH A.G., *et al.* (2017) Erythropoiesis-stimulating agents significantly delay the onset of a regular transfusion need in nontransfused patients with lower-risk myelodysplastic syndrome. *J. Intern. Med.* 281(3), 284-299
- GARZIA M., DI MARIO A., FERRARO E., *et al.* (2007) Reticulocyte hemoglobin equivalent: an indicator of reduced iron availability in chronic kidney diseases during erythropoietin therapy. *Lab. Hematol.* 13(1), 6-11
- GIRELLI D., NEMETH E., SWINKELS D.W. (2016) Hepcidin in the diagnosis of iron disorders. *Blood* 127(23), 2809-2813
- GOBE G.C., ENDRE Z.H., JOHNSON D.W. (2007) Administration of erythropoietin and its derivatives in renal disease: Advantages, mechanisms and concerns. *Drug Discov. Today, Immunological disorders / Renal diseases* 4(1), 79-84
- GOODKIN D.A. (2009) The normal hematocrit cardiac trial revisited. *Semin. Dial.* 22(5), 495-502

- GOODNOUGH L.T., MARCUS R.E. (1994) The effect of recombinant human erythropoietin therapy on red cell expansion during autologous blood donation. *Contemp. Orthop.* 29(6), 430-434
- GROSS A.W., LODISH H.F. (2006) Cellular Trafficking and Degradation of Erythropoietin and Novel Erythropoiesis Stimulating Protein (NESP). *J. Biol. Chem.* 281(4), 2024-2032
- GRUBER M., HU C.-J., JOHNSON R.S., *et al.* (2007) Acute postnatal ablation of Hif-2alpha results in anemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 104(7), 2301-2306
- HAASE V.H. (2013) Mechanisms of hypoxia responses in renal tissue. *J. Am. Soc. Nephrol.* 24(4), 537-541
- HARMS K., KAISER T. (2015) Beyond soluble transferrin receptor: old challenges and new horizons. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 29(5), 799-810
- HARRIS R.C., NEILSON E.G. (2006) Toward a unified theory of renal progression. *Annu. Rev. Med.* 57, 365-380
- HARVEY J. (2012a) Hematopoiesis. In *Veterinary hematology : A diagnostic guide and color atlas*. St Louis, Elsevier Saunders
- HARVEY J. (2012b) Evaluation of erythrocytes. In *Veterinary hematology : A diagnostic guide and color atlas*. St Louis, Elsevier Saunders
- HASLER A. (2012) Anemia of chronique renal disease. In *BSAVA Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine*, 2^e ed. Gloucester, British Small Animal Veterinary Association
- HILTON D.J., WATOWICH S.S., MURRAY P.J., LODISH H.F. (1995) Increased cell surface expression and enhanced folding in the endoplasmic reticulum of a mutant erythropoietin receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 92(1), 190-194
- HISAKAWA H., SUGIYAMA D., NISHIJIMA I., *et al.* (2001) Human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (hGM-CSF) stimulates primitive and definitive erythropoiesis in mouse embryos expressing hGM-CSF receptors but not erythropoietin receptors. *Blood* 98(13), 3618-3625
- HOSTETTER T.H., OLSON J.L., RENNKE H.G., VENKATACHALAM M.A., BRENNER B.M. (2001) Hyperfiltration in remnant nephrons: a potentially adverse response to renal ablation. *J. Am. Soc. Nephrol.* 12(6), 1315-1325
- IBRAHIM H.N., ISHANI A., FOLEY R.N., *et al.* (2008) Temporal trends in red blood transfusion among US dialysis patients, 1992-2005. *Am. J. Kidney Dis.* 52(6), 1115-1121
- ISEKI K., KOHAGURA K. (2007) Anemia as a risk factor for chronic kidney disease. *Kidney Int.* 72, S4-S9
- IWASAKI H., AKASHI K. (2007) Hematopoietic developmental pathways: on cellular basis. *Oncogene* 26(47), 6687-6696
- JAVARD R., GRIMES C., BAU-GAUDREAU L., DUNN M. (2017) Acute-Phase Proteins and Iron Status in Cats with Chronic Kidney Disease. *J. Vet. Intern. Med.* 31(2), 457-464
- JELKMANN W. (1998) Proinflammatory cytokines lowering erythropoietin production. *J. Interferon Cytokine Res.* 18(8), 555-559
- JELKMANN W., BOHLIUS J., HALLEK M., SYTKOWSKI A.J. (2008) The erythropoietin receptor in normal and cancer tissues. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 67(1), 39-61
- JOHNSON D.W., POLLOCK C.A., MACDOUGALL I.C. (2007) Erythropoiesis-stimulating agent hyporesponsiveness (Review Article). *Nephrology* 12(4), 321-330
- JOURDAN A. (2019) Lithiases urétérales obstructives félines traitées par dérivation pyélo-vésicale extra-urétérale: Étude rétrospective sur 60 cas à l'ENVA entre 2013 et 2018. Thèse Méd. Vét. Ecole nationale vétérinaire d'Alfort
- KAGAYA Y., ASAUMI Y., WANG W., *et al.* (2012) Current perspectives on protective roles of erythropoietin in cardiovascular system: erythropoietin receptor as a novel therapeutic target. *Tohoku J. Exp. Med.* 227(2), 83-91
- KALANTAR-ZADEH K., LEE G.H., MILLER J.E., *et al.* (2009) Predictors of hyporesponsiveness to erythropoiesis-stimulating agents in hemodialysis patients. *Am. J. Kidney Dis.* 53(5), 823-834
- KANBAY M., PERAZELLA M.A., KASAPOGLU B., KOROGLU M., COVIC A. (2010) Erythropoiesis stimulatory agent-resistant anemia in dialysis patients: review of causes and management. *Blood Purif.* 29(1), 1-12

- KANEKO J., HARVEY J., BRUSS M. (2008) Clinical biochemistry of domestic animal, 6^e ed. Burlington, Elsevier
- KELLER F., LUDWIG U., CZOCK D. (2015) Pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations on the erythropoietin effect and adverse events of darbepoetin. *Expert Opin. Drug. Metab. Toxicol.* 11(1), 139-147
- KEUNG Y.-K., OWEN J. (2004) Iron Deficiency and Thrombosis: Literature Review. *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* 10(4), 387-391
- KHARAGJITSINGH A.V., KOREVAAR J.C., VANDENBROUCKE J.P., *et al.* (2005) Incidence of recombinant erythropoietin (EPO) hyporesponse, EPO-associated antibodies, and pure red cell aplasia in dialysis patients. *Kidney Int.* 68(3), 1215-1222
- KIM S., HONG T., KO J.-W., HUH W., KIM J.-R. (2019) Comparison of the Pharmacokinetic–Pharmacodynamic Relationships of Two Darbepoetin Alfa Formulations in Healthy Male Volunteers. *BioDrugs* 33(1), 101-112
- KING L.G., GIGER U., DISERENS D., NAGODE L.A. (1992) Anemia of chronic renal failure in dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 6(5), 264-270
- KING J.N., TASKER S., GUNN-MOORE D.A., STREHLAU G., BENRICH (benazepril in renal insufficiency in cats) Study Group (2007) Prognostic factors in cats with chronic kidney disease. *J. Vet. Intern. Med.* 21(5), 906-916
- KOGIKA M.M., LUSTOZA M.D., HAGIWARA M.K., *et al.* (2015) Evaluation of oxidative stress in the anemia of dogs with chronic kidney disease. *Vet. Clin. Pathol.* 44(1), 70-78
- KORMAN R.M., HETZEL N., KNOWLES T.G., HARVEY A.M., TASKER S. (2013) A retrospective study of 180 anaemic cats: features, aetiologies and survival data. *J. Feline Med. Surg.* 15(2), 81-90
- KOUMEGAWA J., KAWAHARA J., KUBO K., *et al.* (1990) Recombinant human erythropoietin corrects anemia of blood loss: a study in the dog. *Int. J. Cell Cloning* 8(2), 97-106
- KRAJEWSKI J., BATMUNKH C., JELKMANN W., HELLWIG-BÜRCEL T. (2007) Interleukin-1beta inhibits the hypoxic inducibility of the erythropoietin enhancer by suppressing hepatocyte nuclear factor-4alpha. *Cell. Mol. Life Sci.* 64(7-8), 989-998
- KWACK C., BALAKRISHNAN V.S. (2006) Managing erythropoietin hyporesponsiveness. *Semin. Dial.* 19(2), 146-151
- LAHERA V., GOICOECHEA M., DE VINUESA S.G., *et al.* (2006) Oxidative stress in uremia: the role of anemia correction. *J. Am. Soc. Nephrol.* 17(12 Suppl 3), S174-177
- LANGSTON C.E., REINE N.J., KITTRELL D. (2003) The use of erythropoietin. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 33(6), 1245-1260
- LANGSTON C. (2008) Updates in feline chronic kidney disease (Proceedings). In *dvm360.com* Advanstar Communications Inc. [<https://www.dvm360.com/view/updates-feline-chronic-kidney-disease-proceedings>]
- LANGSTON C., COOK A., EATROFF A., MITELBERG E., CHALHOUB S. (2017) Blood Transfusions in Dogs and Cats Receiving Hemodialysis: 230 Cases (June 1997-September 2012). *J. Vet. Intern. Med.* 31(2), 402-409
- LATOUR C., WLODARCZYK M.F., JUNG G., *et al.* (2017) Erythroferrone contributes to hepcidin repression in a mouse model of malarial anemia. *Haematologica* 102(1), 60-68
- LE P.M., ANDREEFF M., BATTULA V.L. (2018) Osteogenic niche in the regulation of normal hematopoiesis and leukemogenesis. *Haematologica* 103(12), 1945-1955
- LEE Y.-T., CHIU H.-C., SU H.-M., *et al.* (2008) Lower hemoglobin concentrations and subsequent decline in kidney function in an apparently healthy population aged 60 year and older. *Clin. Chim. Acta* 389(1-2), 25-30
- LI X., YAN Z., KONG D., *et al.* (2014) Erythropoiesis-stimulating agents in the management of cancer patients with anemia: a meta-analysis. *Chin. J. Cancer. Res.* 26(3), 268-276
- LIBREGTS S.F., GUTIÉRREZ L., DE BRUIN A.M., *et al.* (2011) Chronic IFN-γ production in mice induces anemia by reducing erythrocyte life span and inhibiting erythropoiesis through an IRF-1/PU.1 axis. *Blood* 118(9), 2578-2588
- LIU J., GUO X., MOHANDAS N., CHASIS J.A., AN X. (2010) Membrane remodeling during reticulocyte maturation. *Blood* 115(10), 2021-2027

- LUDWICZEK S., AIGNER E., THEURL I., WEISS G. (2003) Cytokine-mediated regulation of iron transport in human monocytic cells. *Blood* 101(10), 4148-4154
- MACDOUGALL I.C., GRAY S.J., ELSTON O., *et al.* (1999) Pharmacokinetics of Novel Erythropoiesis Stimulating Protein Compared with Epoetin Alfa in Dialysis Patients. *JASN* 10(11), 2392-2395
- MACDOUGALL I.C. (2000) Novel erythropoiesis stimulating protein. *Semin. Nephrol.* 20(4), 375-381
- MACDOUGALL I.C. (2001) Role of uremic toxins in exacerbating anemia in renal failure. *Kidney Int. Suppl.* 78, S67-72
- MACDOUGALL I.C. (2002) Darbepoetin alfa: a new therapeutic agent for renal anemia. *Kidney Int. Suppl.* n°80, 55-61
- MACDOUGALL I.C. (2005) Antibody-mediated pure red cell aplasia (PRCA): epidemiology, immunogenicity and risks. *Nephrol. Dial. Transplant.* 20 Suppl 4, iv9-15
- MACDOUGALL I.C. (2008) Novel erythropoiesis-stimulating agents: a new era in anemia management. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 3(1), 200-207
- MACDOUGALL I.C., COOPER A.C. (2005) Hyporesponsiveness to erythropoietic therapy due to chronic inflammation. *Eur. J. Clin. Invest.* 35 Suppl 3, 32-35
- MACLEOD J.N., TETREAU J.W., LORSCHY K.A., GU D.N. (1998) Expression and bioactivity of recombinant canine erythropoietin. *Am. J. Vet. Res.* 59(9), 1144-1148
- MACLEOD J.N. (2001) Species-specific recombinant erythropoietin preparations for companion animals. *In Proceedings of the American College of Veterinary Internal Medicine nineteenth annual Veterinary Medical Forum. In ACVIM, Denver, pp 578-79*
- MADU A.J., UGHASORO M.D. (2017) Anaemia of Chronic Disease: An In-Depth Review. *Med. Princ. Pract.* 26(1), 1-9
- MALGOR L.A., BLANC C.C., KLAINER E., *et al.* (1975) Direct effects of thyroid hormones on bone marrow erythroid cells of rats. *Blood* 45(5), 671-679
- MAXWELL P.H., OSMOND M.K., PUGH C.W., *et al.* (1993) Identification of the renal erythropoietin-producing cells using transgenic mice. *Kidney Int.* 44(5), 1149-1162
- MCCOWN J.L., SPECHT A.J. (2011) Iron homeostasis and disorders in dogs and cats: a review. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 47(3), 151-160
- MCLELAND S.M., LUNN K.F., DUNCAN C.G., REFSAL K.R., QUIMBY J.M. (2014) Relationship among serum creatinine, serum gastrin, calcium-phosphorus product, and uremic gastropathy in cats with chronic kidney disease. *J. Vet. Intern. Med.* 28(3), 827-837
- MEL J.R., SALAR A., RODRÍGUEZ C.A., *et al.* (2008) A prospective observational study of the effectiveness, safety, and effect on fatigue of darbepoetin alfa for the treatment of chemotherapy-induced anaemia. *Curr. Med. Res. Opin.* 24(10), 2931-2942
- MESSIER A.M., OHLS R.K. (2014) Neuroprotective effects of erythropoiesis-stimulating agents in term and preterm neonates. *Curr. Opin. Pediatr.* 26(2), 139-145
- METCALF D. (2007) Concise Review: Hematopoietic Stem Cells and Tissue Stem Cells: Current Concepts and Unanswered Questions. *Stem Cells* 25(10), 2390-2395
- MEYTES D., BOGIN E., MA A., DUKES P.P., MASSRY S.G. (1981) Effect of parathyroid hormone on erythropoiesis. *J. Clin. Invest.* 67(5), 1263-1269
- MICHELS K., NEMETH E., GANZ T., MEHRAD B. (2015) Heparin and Host Defense against Infectious Diseases. *PLoS Pathog.* 11(8), e1004998
- MINKUS G., REUSCH C., HÖRAUF A., *et al.* (1994) Evaluation of renal biopsies in cats and dogs — histopathology in comparison with clinical data. *J. Small. Anim. Pract.* 35(9), 465-472
- MOLDAWER L.L., MARANO M.A., WEI H., *et al.* (1989) Cachectin/tumor necrosis factor-alpha alters red blood cell kinetics and induces anemia in vivo. *Faseb J.* 3(5), 1637-1643
- NAIGAMWALLA D.Z., WEBB J.A., GIGER U. (2012) Iron deficiency anemia. *Can. Vet. J.* 53(3), 250-256
- NAIRZ M., THEURL I., SWIRSKI F.K., WEISS G. (2017) « Pumping iron »-how macrophages handle iron at the systemic, microenvironmental, and cellular levels. *Pflugers Arch.* 469(3-4), 397-418

- NAITO K., TAMAHASHI N., CHIBA T., *et al.* (1992) The microvasculature of the human bone marrow correlated with the distribution of hematopoietic cells. A computer-assisted three-dimensional reconstruction study. *Tohoku J. Exp. Med.* 166(4), 439-450
- NAKHOUL G., SIMON J.F. (2016) Anemia of chronic kidney disease: Treat it, but not too aggressively. *Cleve. Clin. J. Med.* 83(8), 613-624
- NEMETH E., TUTTLE M.S., POWELSON J., *et al.* (2004) Heparin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 306(5704), 2090-2093
- NENTWIG A., SCHWEIGHAUSER A., MAISSEN-VILLIGER C., *et al.* (2016) Assessment of the expression of biomarkers of uremic inflammation in dogs with renal disease. *Am. J. Vet. Res.* 77(2), 218-224
- NICOLAS G., CHAUVET C., VIATTE L., *et al.* (2002) The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J. Clin. Invest.* 110(7), 1037-1044
- NORDSTRÖM D., LINDROTH Y., MARSAL L., *et al.* (1997) 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.* 17(2), 67-73
- NORMAN J.T., FINE L.G. (2006) Intrarenal oxygenation in chronic renal failure. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 33(10), 989-996
- OGAWA T., NITTA K. (2015) Erythropoiesis-stimulating agent hyporesponsiveness in end-stage renal disease patients. *Contrib Nephrol* 185, 76-86
- OHLSSON A., AHER S.M. (2017) Early erythropoiesis-stimulating agents in preterm or low birth weight infants. *Cochrane. Database. Syst. Rev.* 11, CD004863
- OKONKO D.O., MARLEY S.B., ANKER S.D., POOLE-WILSON P.A., GORDON M.Y. (2013) Erythropoietin resistance contributes to anaemia in chronic heart failure and relates to aberrant JAK-STAT signal transduction. *Int. J. Cardiol.* 164(3), 359-364
- OLVER C.S. (2010) Erythropoiesis. In *Schalm's Veterinary Hematology*, 6th ed. Ames, Iowa, USA, Wiley-Blackwell
- OLVER C.S., ANDREWS G.A., SMITH J.E., KANEKO J.J. (2010) Erythrocyte Structure and Function. In *Schalm's Veterinary Hematology*, 6th ed. Ames, Iowa, USA, Wiley-Blackwell
- OTTENJANN M., WEINGART C., ARNDT G., KOHN B. (2006) Characterization of the anemia of inflammatory disease in cats with abscesses, pyothorax, or fat necrosis. *J. Vet. Intern. Med.* 20(5), 1143-1150
- PALIS J. (2014) Primitive and definitive erythropoiesis in mammals. *Front. Physiol.* 5:3
- PANICHI V., MIGLIORI M., DE PIETRO S., *et al.* (2000) Plasma C-reactive protein in hemodialysis patients: a cross-sectional, longitudinal clinical survey. *Blood Purif.* 18(1), 30-36
- PANTOPOULOS K., PORWAL S.K., TARTAKOFF A., DEVIREDDY L. (2012) Mechanisms of mammalian iron homeostasis. *Biochemistry* 51(29), 5705-5724
- PAPANIKOLAOU G., PANTOPOULOS K. (2017) Systemic iron homeostasis and erythropoiesis. *IUBMB Life* 69(6), 399-413
- PAUL J., CONKIE D., BURGOS H. (1973) Effects of erythropoietin on cell populations and macromolecular syntheses in foetal mouse erythroid cells. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 29(2), 453-472
- PAULSON R.F., RUAN B., HAO S., CHEN Y. (2020) Stress Erythropoiesis is a Key Inflammatory Response. *Cells* 9(3)
- PECHEREAU D., MARTEL P., BRAUN J.P. (1997) Plasma erythropoietin concentrations in dogs and cats: reference values and changes with anaemia and/or chronic renal failure. *Res. Vet. Sci.* 62(2), 185-188
- PECOITS-FILHO R., HEIMBÜRGER O., BÁRÁNY P., *et al.* (2003) Associations between circulating inflammatory markers and residual renal function in CRF patients. *Am. J. Kidney Dis.* 41(6), 1212-1218
- PERGOLA P.E., GARTENBERG G., FU M., *et al.* (2009) A randomized controlled study of weekly and biweekly dosing of epoetin alfa in CKD Patients with anemia. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 4(11), 1731-1740

- PETERS R.M., GOLDSTEIN R.E., ERB H.N., NJAA B.L. (2005) Histopathologic features of canine uremic gastropathy: a retrospective study. *J. Vet. Intern. Med.* 19(3), 315-320
- PFEFFER M.A., BURDMANN E.A., CHEN C.-Y., *et al.* (2009) A trial of darbepoetin alfa in type 2 diabetes and chronic kidney disease. *N. Engl. J. Med.* 361(21), 2019-2032
- PIAGNERELLI M., VINCENT J.-L. (2012) The use of erythropoiesis-stimulating agents in the intensive care unit. *Crit. Care. Clin.* 28(3), 345-362, v
- PLUMB D.C. (2011) Plumb's Veterinary Drug Handbook, 7^e ed. Stockholm, Wisconsin, PharmaVet Inc
- POLZIN D.J. (2011) Chronic Kidney Disease. *In Nephrology and Urology of Small Animals.* Ames, Wiley-Blackwell
- POLZIN D.J. (2013) Evidence-based step-wise approach to managing chronic kidney disease in dogs and cats. *J. Vet. Emerg. Crit. Care.* 23(2), 205-215
- POLZIN D.J. (2017) Chronic Kidney Disease. *In Textbook of veterinary internal medicine,* Eds Ettinger S., Feldman E., 8^e ed. Philadelphia, Elsevier Saunders, pp 4693-4734
- RADTKE H.W., REGE A.B., LAMARCHE M., FISHER J.W. (1979) Characterization of erythroid inhibiting factors (EIF) in patients with anemia of chronic renal failure. *Proc. Clin. Dial. Transplant Forum* 9, 179-183
- RADTKE H.W., REGE A.B., LAMARCHE M.B., *et al.* (1981) Identification of spermine as an inhibitor of erythropoiesis in patients with chronic renal failure. *J. Clin. Invest.* 67(6), 1623-1629
- RAJ D.S.C. (2009) Role of interleukin-6 in the anemia of chronic disease. *Semin. Arthritis Rheum.* 38(5), 382-388
- RANDOLPH J.F., STOKOL T., SCARLETT J.M., MACLEOD J.N. (1999) Comparison of biological activity and safety of recombinant canine erythropoietin with that of recombinant human erythropoietin in clinically normal dogs. *Am. J. Vet. Res.* 60(5), 636-642
- RANDOLPH J.E., SCARLETT J.M., STOKOL T., SAUNDERS K.M., MACLEOD J.N. (2004) Expression, bioactivity, and clinical assessment of recombinant feline erythropoietin. *Am. J. Vet. Res.* 65(10), 1355-1366
- RAO D.S., SHIH M.S., MOHINI R. (1993) Effect of serum parathyroid hormone and bone marrow fibrosis on the response to erythropoietin in uremia. *N. Engl. J. Med.* 328(3), 171-175
- REBAR A.H., MACWILLIAMS P.S., FELDMAN B.F., METZGER F.L., POLLOCK R.V.H. (2005) Erythrocytes: Overview, Morphology, Quantity. *In A Guide to Hematology in Dogs and Cats,* Teton NewMedia. ed. Jackson WY, IVIS, International Veterinary Information Service
- RIBATTI D. (2009) Erythropoietin and cancer, a double-edged sword. *Leuk. Res.* 33(1), 1-4
- RICHARDSON J.R. (1970) Erythropoietic Response of Dialyzed Patients to Testosterone Administration. *Ann. Intern. Med.* 73(3), 403
- RIZZI T.E., MEINKOTH J.H., CLINKENBEARD K.D. (2010a) Normal Hematology of the Dog. *In Schalm's Veterinary Hematology,* 6^e ed. Ames, Iowa, USA, Wiley-Blackwell
- RIZZI T.E., CLINKENBEARD K.D., MEINKOTH J.H. (2010b) Normal Hematology of the Cat. *In Schalm's Veterinary Hematology,* 6^e ed. Ames, Iowa, USA, Wiley-Blackwell
- ROSENBLATT S.G., DRAKE S., FADEM S., WELCH R., LIFSCHITZ M.D. (1982) Gastrointestinal blood loss in patients with chronic renal failure. *Am. J. Kidney Dis.* 1(4), 232-236
- RUDINSKY A.J., HARJES L.M., BYRON J., *et al.* (2018) Factors associated with survival in dogs with chronic kidney disease. *J. Vet. Intern. Med.* 32(6), 1977-1982
- SAKAGUCHI Y., HAMANO T., WADA A., MASAKANE I. (2019) Types of Erythropoietin-Stimulating Agents and Mortality among Patients Undergoing Hemodialysis. *J. Am. Soc. Nephrol.* 30(6), 1037-1048
- SCHAEFER F., HOPPE B., JUNGRAITHMAYR T., *et al.* (2016) Safety and usage of darbepoetin alfa in children with chronic kidney disease: prospective registry study. *Pediatr. Nephrol.* 31(3), 443-453
- SCHMID H., SCHIFFL H. (2010) Erythropoiesis stimulating agents and anaemia of end-stage renal disease. *Cardiovasc. Hematol. Agents. Med. Chem.* 8(3), 164-172
- SCHMIEDT C.W., BRAINARD B.M., HINSON W., BROWN S.A., BROWN C.A. (2016) Unilateral Renal Ischemia as a Model of Acute Kidney Injury and Renal Fibrosis in Cats. *Vet. Pathol.* 53(1), 87-101

- SEBAHOUN G. (2006) Hématologie clinique et Biologique, 2^e ed. Reuil-Malmaison, Arnette
- SHAHINFAR S., DICKSON T., ZHANG Z., KEANE W.F., BRENNER B.M. (2005) Baseline predictors of end-stage renal disease risk in patients with type 2 diabetes and nephropathy: New lessons from the RENAAL Study. *Kidney Int.* 67, S48-S51
- SHARKEY L.C., HILL S.A. (2010) Structure of Bone Marrow. In *Schalm's Veterinary Hematology*, 6^e ed. Ames, Iowa, USA, Wiley-Blackwell
- SHIH H.-M., WU C.-J., LIN S.-L. (2018) Physiology and pathophysiology of renal erythropoietin-producing cells. *J. Formos. Med. Assoc.* 117(11), 955-963
- SHINZATO T., ABE K., FURUSU A., *et al.* (2008) Serum pro-hepcidin level and iron homeostasis in Japanese dialysis patients with erythropoietin (EPO)-resistant anemia. *Med. Sci. Monit.* 14(9), CR431-437
- SIBBEL S.P., KORO C.E., BRUNELLI S.M., COBITZ A.R. (2015) Characterization of chronic and acute ESA hyporesponse: a retrospective cohort study of hemodialysis patients. *BMC Nephrol.* 16, 144
- SINGH A.K., SZCZECH L., TANG K.L., *et al.* (2006) Correction of anemia with epoetin alfa in chronic kidney disease. *N. Engl. J. Med.* 355(20), 2085-2098
- SMITH S.G., CURRY R., HAWFIELD H. (1943) Vitamin B6 Deficiency Anemia in the Dog. *Science* 98(2554), 520-522
- SOUMA T., YAMAZAKI S., MORIGUCHI T., *et al.* (2013) Plasticity of renal erythropoietin-producing cells governs fibrosis. *J. Am. Soc. Nephrol.* 24(10), 1599-1616
- SPINOWITZ B., GERMAIN M., BENZ R., *et al.* (2008) A randomized study of extended dosing regimens for initiation of epoetin alfa treatment for anemia of chronic kidney disease. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 3(4), 1015-1021
- STOFFEL M.P., HAVERKAMP H., KROMMINGA A., LAUTERBACH K.W., BALDAMUS C.A. (2007) Prevalence of anti-erythropoietin antibodies in hemodialysis patients without clinical signs of pure red cell aplasia. Comparison between hypo- and normoresponsive patients treated with epoetins for renal anemia. *Nephron. Clin. Pract.* 105(2), c90-98
- STORRING P.L., TIPLADY R.J., GAINES DAS R.E., *et al.* (1998) Epoetin alfa and beta differ in their erythropoietin isoform compositions and biological properties. *Br. J. Haematol.* 100(1), 79-89
- SURESH S., RAJVANSHI P.K., NOGUCHI C.T. (2020) The Many Facets of Erythropoietin Physiologic and Metabolic Response. *Front. Physiol.* 10
- SUZUKI K. (1998) Use of recombinant human erythropoietin as adjuvant therapy for blood banking for autotransfusion in dogs. *Vet. J.* 155(3), 239-244
- SUZUKI N., YAMAMOTO M. (2016) Roles of renal erythropoietin-producing (REP) cells in the maintenance of systemic oxygen homeostasis. *Pflugers Arch.* 468(1), 3-12
- TANAKA M., KOMABA H., FUKAGAWA M. (2018) Emerging Association Between Parathyroid Hormone and Anemia in Hemodialysis Patients. *Ther. Apher. Dial.* 22(3), 242-245
- TANIGUCHI S., DAI C.H., PRICE J.O., KRANTZ S.B. (1997) Interferon gamma downregulates stem cell factor and erythropoietin receptors but not insulin-like growth factor-I receptors in human erythroid colony-forming cells. *Blood* 90(6), 2244-2252
- TESTA U. (2010) Erythropoietic stimulating agents. *Expert Opin Emerg Drugs* 15(1), 119-138
- THAVARAJAH S., CHOI M.J. (2019) The Use of Erythropoiesis-Stimulating Agents in Patients With CKD and Cancer: A Clinical Approach. *Am. J. Kidney Dis.* 74(5), 667-674
- THORP M.L., JOHNSON E.S., YANG X., *et al.* (2009) Effect of anaemia on mortality, cardiovascular hospitalizations and end-stage renal disease among patients with chronic kidney disease. *Nephrology (Carlton)* 14(2), 240-246
- TIMMS M., STEEL R., VINE J. (2016) Identification of recombinant human EPO variants in greyhound plasma and urine by ELISA, LC-MS/MS and western blotting: a comparative study. *Drug. Test. Anal.* 8(2), 164-176
- TODARO M., TURDO A., BARTUCCI M., *et al.* (2013) Erythropoietin activates cell survival pathways in breast cancer stem-like cells to protect them from chemotherapy. *Cancer Res.* 73(21), 6393-6400
- TOLBERT M.K., OLIN S., MACLANE S., *et al.* (2017) Evaluation of Gastric pH and Serum Gastrin Concentrations in Cats with Chronic Kidney Disease. *J. Vet. Intern. Med.* 31(5), 1414-1419

- TRAVLOS G.S. (2006) Normal structure, function, and histology of the bone marrow. *Toxicol. Pathol.* 34(5), 548-565
- UREÑA P., ECKARDT K.U., SARFATI E., *et al.* (1991) Serum erythropoietin and erythropoiesis in primary and secondary hyperparathyroidism: effect of parathyroidectomy. *Nephron* 59(3), 384-393
- UVERSKY V.N., REDWAN E.M. (2016) Erythropoietin and co.: intrinsic structure and functional disorder. *Mol. Biosyst.* 13(1), 56-72
- VLAHAKOS D.V., MARATHIAS K.P., MADIAS N.E. (2010) The role of the renin-angiotensin system in the regulation of erythropoiesis. *Am. J. Kidney Dis.* 56(3), 558-565
- VOS F.E., SCHOLLUM J.B., COULTER C.V., *et al.* (2011) Red blood cell survival in long-term dialysis patients. *Am. J. Kidney Dis.* 58(4), 591-598
- WANER T., HARRUS H. (2012) Anaemia of inflammation and neoplasia. In *BSAVA Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine*, 2^e ed. Gloucester, British Small Animal Veterinary Association
- WANG L., DI L., NOGUCHI C.T. (2014) Erythropoietin, a Novel Versatile Player Regulating Energy Metabolism beyond the Erythroid System. *Int. J. Biol. Sci.* 10(8), 921-939
- WASHIO M., ISEKI K., ONOYAMA K., *et al.* (1992) Elevation of serum erythropoietin after subtotal parathyroidectomy in chronic haemodialysis patients. *Nephrol. Dial. Transplant.* 7(2), 121-124
- WEISER M. (2005) Erythrocytes and associated disorders. In *Textbook of veterinary internal medicine*, Eds Ettinger S., Feldman E., 6^e ed. Philadelphia, Elsevier Saunders, pp 2145-2180
- WEISS G. (2002) Pathogenesis and treatment of anaemia of chronic disease. *Blood Rev.* 16(2), 87-96
- WEISS G., GANZ T., GOODNOUGH L.T. (2019) Anemia of inflammation. *Blood* 133(1), 40-50
- WEN D., BOISSEL J.P., TRACY T.E., *et al.* (1993) Erythropoietin structure-function relationships: high degree of sequence homology among mammals. *Blood* 82(5), 1507-1516
- WINKELMANN J.C., PENNY L.A., DEAVEN L.L., FORGET B.G., JENKINS R.B. (1990) The gene for the human erythropoietin receptor: analysis of the coding sequence and assignment to chromosome 19p. *Blood* 76(1), 24-30
- WU H., LIU X., JAENISCH R., LODISH H.F. (1995) Generation of committed erythroid BFU-E and CFU-E progenitors does not require erythropoietin or the erythropoietin receptor. *Cell* 83(1), 59-67
- YAMAGUCHI-YAMADA M., MANABE N., KISO M., *et al.* (2005) Dysfunction of erythropoietin-producing interstitial cells in the kidneys of ICR-derived glomerulonephritis (ICGN) mice. *J. Vet. Med. Sci.* 67(9), 891-899
- YEO J.H., LAM Y.W., FRASER S.T. (2019) Cellular dynamics of mammalian red blood cell production in the erythroblastic island niche. *Biophys. Rev.* 11(6), 873-894
- YLENIA I., VIVIANA L., ILARIA M., *et al.* (2019) In search of potential predictors of erythropoiesis-stimulating agents (ESAs) hyporesponsiveness: a population-based study. *BMC Nephrol* 20(1), 359
- ZHANG Y.L., RADHAKRISHNAN M.L., LU X., *et al.* (2009) Symmetric Signaling by an Asymmetric 1 Erythropoietin: 2 Erythropoietin Receptor Complex. *Mol. Cell* 33(2), 266-274

Annexe : Tableau de données

Dossier	Réponse**	Temps de réponse critère 1 (jours)	Temps de réponse critère 2 (jours)	Temps de réponse critère mixte (jours)	Sexe	âge (mois)	Temps de survie (jours)	Stade IRIS	DPVE/STENT*	Hématocrite initial (%)	Hémoglobine initiale (g/L)	Créatinine initiale (mg/L)	IRA initiale*	VGM initial (fl)	TCMH initial (pg)	Comptage réticulocytaire initial (/mm ³)	REF-He initiale (pg)	Dose initiale (µg/kg)	Dose max (µg/kg)	Etologie***	Gain 100 gr*	Complémentation fer initiale*	Complémentation fer encours*	Nombre de comorbidités	Prise IECa et Sartans*
A07-9969	3	23	23		mâle	128		3	0	15	8,3	48	0	37,8	13,5	20200		1	1	1	1	1	0	2	0
A08-10006	3				femelle	121	775	3	1	17,9	6,1	33	0	46,6	15,9	112100		1	1	3	1	1	0	3	0
A09-4134	3				mâle	76	158	4	0	19			0					0,45	0,45	1	1	1	1	3	0
A11-813	3	14	14	14	mâle	160			0	16			0					1	1	2	0	1	0	2	0
A12-15998	3	46	46	46	mâle	146		3	0	17,5	6	44	0	46,3	15,9	31400		1	1	1	1	0	0	2	0
A12-124	3	18	18	18	femelle	21		2	0	13,1	4		0	32,9	10,1	68500		1	1	3	1	1	1	2	1
A13-12034	0				femelle	73		2	0	15,8	4,6	23	1	45,8	13,3	115900		0,45	0,45	3	1	1	1	4	0
A13-4911	3	41	41	41	mâle	78	889	3	1	16	5,4	35	1	42,1	15,5	46600		1	1	3	1	1	1	4	0
A13-8268	3	33	33	33	femelle	125	398	3	1	16,5	5,2	28,4	1	38,5	12,1	195900		1	1	3	1	1	0	2	0
A14-4308	3	17	17	17	mâle	115	100	3	1	19,2	5,8	37	1	47,2	14,3	73300		1	1	3	0	0	1	3	0
A14-5351	1	14	14	14	mâle	169	19	3	0	17,7	6,2	43	0	41,7	14,6	8900		1	1	1	0	0	0	0	0
A14-8455	0				mâle	122	211	3	0	16,5	5,9	42	0	40,7	14,6	25900		1	1	1	0	0	1	2	0
A14-9419	3	49	49	49	mâle	84	94	3	0	17	5,7		0	37	11,9	42300		0,45	1	1	0	1	1	1	0
A15-12865	3	4	4	4	femelle	54		2	1	13,7	4	23	1	44,1	12,9	135000		1	1	3	0	1	0	4	0
A15-13619	1	14	14	14	femelle	79		1	1	16,7	5,3	101,4	1	42,8	13,6	86600		1	1	3	1	1	1	3	1
A15-13866	0				femelle	134		2	1	16	5,1	32,4	1	34,6	12,8	31900		1	1	3	1	1	0	1	0
A15-2268	2	35	35	35	mâle	143		4	0	11	3,3	75,6	0	62,1	18,6	8900		1	1	1	1	1	1	1	0
A15-4961	3				mâle	91	138	3	1	20		53	0					1	1	3	0	0	1	6	0
A15-7255	3				femelle	59	516	2	0	15,1	6,2	46	0	41,8	17,2	12600		1	1	3	1	1	1	3	1
A15-7532	0				femelle	157	51	3	1	16	5,1	46	1	49,4	15,7	45400		1	1	3	1	1	0	4	0
A16-11544	3				femelle	127	1152	2	1	16	5	26	1	53,1	15,4	100400		1	1	3	1	1	0	3	0
A16-8163	0				femelle	75		2	1	18,9	6,2	21,9	0	41	13,4	225400		1	1	3	0	1	0	6	0
A17-2629	0				mâle	93	166	3	1	19	8,8	39	1	44,1	14,3	75600		1	1	3	1	1	0	3	0
A17-9537	1				mâle	157		2	1	18,6	6,4	52	1	51,7	17,8	27700		1	1	3	1	1	0	4	0
A17-9671	3	7	21	7	femelle	86		2	0	23,6	7,9	25	0	37,7	12,6	34400	15,6	1	1	1	0	0	0	1	1
A18-12409	0				femelle	90	101	4	1	20	6,1	50,1	1	48,5	14,5	61000	15,9	1	1	3	0	0	0	4	0
A18-6247	2				mâle	104	470	3	1	13	9,2	57	1	45,2	15,6	60700		1	1	3	0	1	0	1	0
A18-507	3	16	16	16	femelle	66		2	1	14	7,7	27	1	36,3	13,4	28800		1	1	3	1	1	0	6	0
A19-13731	0				mâle	97		3	0	11	4,4	67	0	40,4	15,7	17100	18,5	1	1	1	1	1	0	2	0
A19-14955	3	15	15	15	mâle	103		3	1	13	8	41,7	1	41,1	13,9	800		1	1	3	1	1	0	3	0
A19-6058	1				femelle	133	234	2	0	25,7	9,7	25,7	0	15,6	29100			1	1	3	1	0	0	3	1
A19-7266	3	15	15	15	femelle	180	113	2	0	14,8	5,2	19	1	47,1	16,6	19200	18,5	1	1	3	0	0	0	4	0

* 0= non, 1= oui

** 0= non répondant, 1= répondant selon le critère 1, 2= répondant selon le critère 2, 3= répondant selon le critère 3

*** 1= MRC, 2= purement inflammatoire, 3= MRC avec composante inflammatoire

UTILISATION DE LA DARBÉPOËTINE EN MÉDECINE VÉTÉRINAIRE : ÉTAT DES PREUVES ET ÉTUDE RÉTROSPECTIVE DES CHATS TRAITÉS AU CHUVA

AUTEUR : Antoine VASSAL

RÉSUMÉ :

La darbépoétine est un stimulant de l'érythropoïèse agissant comme un analogue de l'EPO sur les cellules progénitrices des globules rouges. Chez l'homme, c'est un traitement de choix, permettant une hausse de l'hématocrite lors d'anémies par déficit d'EPO parmi lesquelles on retrouve les anémies liées à la maladie rénale chronique (MRC) et les anémies inflammatoires. Chez le chat, son utilisation se limite principalement à l'anémie d'origine rénale. Cette dernière a un effet négatif sur le pronostic de la MRC chez le chat, ce qui est un argument fort en faveur de la nécessité de correction de cette anémie notamment par la darbépoétine.

Après une brève synthèse des connaissances actuelles relatives au déroulement de l'érythropoïèse, aux anémies traitées par la darbépoétine chez les carnivores domestiques et l'homme et aux propriétés pharmacologiques de la darbépoétine, une étude rétrospective a été réalisée concernant la prise en charge par l'administration de darbépoétine de 32 chats présentés au Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire d'Alfort dans un contexte d'anémie d'origine rénale ou inflammatoire. L'objectif principal de ce travail rétrospectif est de déterminer quel critère est le plus apte à caractériser la réponse au traitement. Les objectifs secondaires de l'étude étaient d'identifier des paramètres permettant de prédire la réponse ou la non réponse au traitement, de discuter les causes d'échecs au traitement et de documenter la prévalence des effets secondaires au traitement.

Dans cette étude, le seul critère pour lequel il y a une différence significative dans la durée de survie des chats répondants au traitement par rapport aux chats non répondants est le critère considérant comme répondants les chats dont l'hématocrite a augmenté d'au moins 10 points suite à l'administration du traitement. Selon ce critère, 20 des 32 chats de l'étude ont répondu au traitement. Notre étude n'a pas mis en évidence de paramètres permettant de prédire la réponse ou non au traitement parmi ceux testés : l'hématocrite, la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine, le volume globulaire moyen, le stade IRIS de la MRC, la complémentation en fer, la prise de poids, l'étiologie de l'anémie, l'âge, la prise d'IECA, le fait d'avoir une dérivation pyélovésicale extra-urétérale ou un stent urétéral et enfin le nombre de comorbidités. Quelques effets secondaires au traitement référencés dans la littérature (hypertension artérielle, vomissements, diarrhée, hyperkaliémie, hyperthermie, thrombocytose, thrombose) ont été notés chez les chats de l'étude sans qu'ils puissent être attribués à l'administration du traitement de façon certaine.

MOTS CLÉS : ANÉMIE, MALADIE RÉNALE CHRONIQUE, DARBÉPOËTINE, ÉPOËTINE, ÉRYTHROPOÏÉTINE, ÉRYTHROPOÏÈSE, MALADIE INFLAMMATOIRE, ÉTUDE RÉTROSPECTIVE, MÉDECINE VÉTÉRINAIRE, CHAT, CHUVA

JURY :

Président : Pr Benoît FUNALOT

1^{er} Assesseur : Dr Christelle MAUREY-GUENEC

2nd Assesseur : Dr Matthias KOHLHAUER

USE OF DARBEPOETIN IN VETERINARY MEDECIN: STATE OF PROOFS AND RETROSPECTIVE STUDY OF CATS TREATED IN CHUVA

AUTHOR: Antoine VASSAL

SUMMARY:

Darbepoetin is an erythropoiesis stimulant acting as an EPO analogue on red blood cell progenitors. It is a treatment increasing the hematocrit in people suffering EPO-deficiency anemias, including anemias related to chronic kidney disease (CKD) and inflammatory anemias. Its main use in cats is limited to CKD anemia. The latter has a negative effect on the prognosis of CKD in cats, which is a strong argument for the need to correct this anemia, with darbepoetin for instance.

After a brief review of current knowledge on the course of erythropoiesis, anemias treated with darbepoetin in domestic carnivores and humans, and the pharmacological properties of darbepoetin, a retrospective study was carried out on the management by darbepoetin administration of 32 cats presented at the Veterinary Teaching Hospital of Alfort in a context of anemia of renal or inflammatory origin. The main objective of this retrospective work is to determine which criteria is most likely to characterize the response to treatment. The secondary objectives of the study were to identify parameters to predict response or non-response to treatment, to discuss the causes of treatment failures and to document the prevalence of treatment side effects.

In this study, the only criteria for which there was a significant difference in survival time between treatment responders and non-responders was the criteria that cats whose haematocrit increased by at least 10 points following treatment were considered responders. According to this criteria, 20 of the 32 cats in the study responded to treatment. Our study did not reveal any parameters that would predict response or non-response to treatment among those tested: hematocrit, mean corpuscular hemoglobin content, mean blood cell volume, CKD IRIS stage, iron supplementation, weight gain, anemia etiology, age, ACE inhibitor intake, whether the cat had a subcutaneous ureteral bypass (SUB) or ureteral stent, and the number of co-morbidities. A few treatment side effects referenced in the literature (hypertension, vomiting, diarrhea, hyperkalemia, hyperthermia, thrombocytosis, thrombosis) were noted in the cats of the study without being able to be attributed to the administration of the treatment with certitude.

KEYWORDS: ANAEMIA, CHRONIC KIDNEY DISEASE, DARBEPOETIN, EPOETIN, ERYTHROPOIETIN, ERYTHROPOIESIS, INFLAMMATORY DISEASES, RETROSPECTIVE STUDY, VETERINARY MEDECINE, CAT, CHUVA

JURY:

Chairperson: Pr Benoît FUNALOT

1st Assessor: Dr Christelle MAUREY-GUENEC

2nd Assessor: Dr Matthias KOHLHAUER