

Exploration biochimique des fonctions rénales
– UE1 : Biochimie –

Indiquer ici, dans cette police s'il y a une annexe en fin d'heure

Semaine : n°6 (du 10/10/16 au 14/10/16) Date : 10/10/2016	Heure : de 10h15 à 11h15	Professeur : Pr. Cachera
Binôme : n°12		Correcteur : 11
Remarques du professeur : RAS		

PLAN DU COURS

I) Dosage des déchets azotés.....	2
A) L'urée.....	2
1) Méthode de dosage.....	3
2) Variations physiopathologiques.....	3
B) Créatinine.....	4
1) Dosage.....	5
2) Valeurs usuelles.....	5
3) Clairance.....	5
4) Variations pathologiques de la créatinine.....	7

I) Dosage des déchets azotés

Les reins sont importants dans :

- élimination des déchets du métabolisme
- élimination des médicaments
- Récupération des métabolites importantes : Glc, AA, bicarbonates.
- Participe à l'équilibre Ac/Base
- Synthèse de rénine → Maintien de la volémie et la pression artérielle.
- Synthèse d'EPO dans la maturation des cellules de la lignée rouge
- Siège final de la synthèse de Calcitriol D3.

On dose les déchets azotés (Urée, créatinine, acide urique, ammoniacque) via :

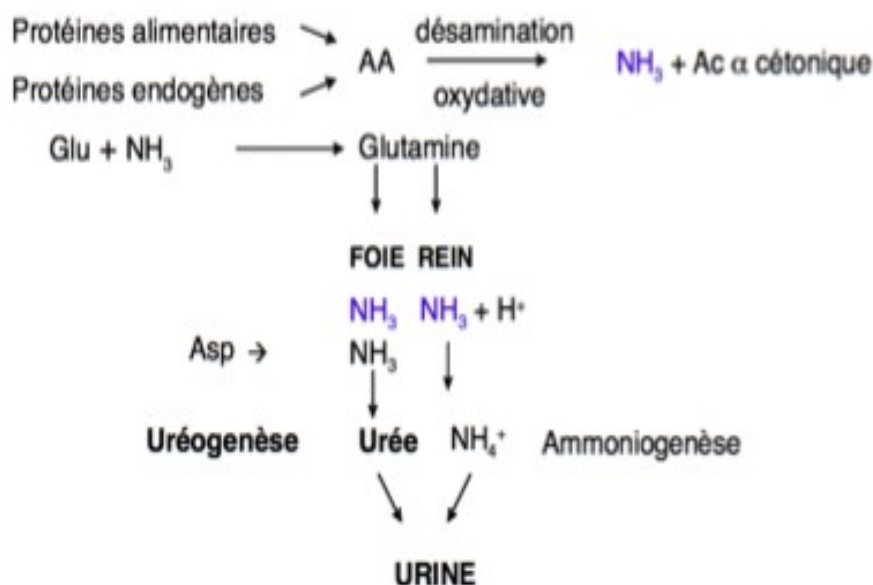
- **Sang** : On prend le plasma avec les automates, sang prélevé sur héparine (anticoagulant).
- **Urines** : Echantillon de 24h, la fonction rénale n'est pas la même sur 24h.

A) L'urée

Urée : produit final de dégradation des acides aminés provenant des protéines exogènes ou endogènes (renouvellement cellulaire). Les acides aminés vont subir une **désamination oxydative** pour former de l'ammoniaque et de l'acide alpha cétonique. L'ammoniaque soluble va circuler sous forme NH_4^+ , toxique pour le cerveau.

L'acide glutamique va **détoxifier** l'ammoniaque et forme la **glutamine**. Elle transporte les fonctions amines majoritairement au niveau du **foie** (une enzyme va libérer l'ammoniaque en régénérant l'acide glutamique). Cette fonction NH_3 va rentrer dans le cycle de **l'uréogénèse**. L'urée va filtrer à travers le glomérule et va être éliminée.

Autre **voie** dans le **rein** (20%) : la glutamine va être **hydrolysée** par la glutaminase, et libère un NH_3 qui va réagir avec un proton H^+ , pour donner NH_4^+ , c'est **l'ammoniogénèse**.

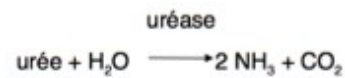


1) Méthode de dosage

L'urée est une petite molécule, totalement filtrée par le glomérule, réabsorbée par le tube **proximal** (passive), mais dépend du **débit urinaire** (diurèse). Si on boit peu, on urine peu (réabsorption lente, urée sanguine augmente) et inversement.

Méthode enzymatique :

La méthode de dosage actuelle est l'hydrolyse par l'uréase



L'urée en présence d'eau et de l'uréase va libérer des fonctions amines et CO_2 . Le dosage des ions ammonium nous permettra de connaître la quantité d'urée dans le sang.

Mais la méthode la plus utilisée est la méthode utilisant la glutamate déhydrogénase qui permet à partir de l' α cétooglutarate, de l'ion ammonium et NADH_2 , de former de l'acide glutamique, de l'eau et du NAD. On va suivre la disparition du NADH_2 à 340nm qui sera proportionnelle NH_4^+

**2) Variations physiopathologiques**

valeurs usuelles Se ou PI urée : 2.5 à 7.5 mmol/l soit 0.15 à 0.45 g/l
 dU urée : 300 à 500 mmol soit 18 à 30 g

La concentration sanguine d'urée dépend de l'**apport alimentaire** + l'**apport en boisson**.

Mais aussi :

- Fonction de l'**âge** (+ basse chez les enfants et chez les sujets âgés de plus de 70 ans)
- Diminuée avec l'âge (fonction rénale diminue avec l'âge)
- Pendant la grossesse, elle **diminue** (hyperhydratation),
- Augmentation du flux sanguin rénale donc de l'urée.

Variations pathologiques :

- **Augmentation** : hypercatabolisme des protéines
 - Jeune
 - Corticoïdes
 - Fièvre
 - Diminution du flux sanguin rénal: dans les déshydratations : hémorragies, déshydratations aiguë par diarrhées + vomissements
 - Diminution de la performance rénale (insuffisance rénale fonctionnelle)
- **Diminution** :
 - Défaut de synthèse
 - Augmentation du flux sanguin rénal (tous les états de hyperhydratation)
 - Augmentation synthèse de l'AVH
 - Acidose : tamponne les protons excédentaires
 - Néphropathie tubulaire : réabsorption par le Tube va diminuer.

Urée urinaire représente environ 80% de l'azote urinaire. Elle va être le reflet des apports protidiques journaliers.

L'urée urinaire dès 24h en $\frac{\text{mmol}}{\text{L}} / 5 =$ reflet de la quantité de protides en g/ kg/jour (et non la concentration par mmol/L comme indiqué sur sa diapositive.)

La concentration en urée dépend donc de nombreux facteurs, c'est pour cela qu'on préfère utiliser la créatinine, quand on parle d'insuffisance rénale mais l'urée sera de toute façon toujours associée. La créatinine est donc un marqueur plus spécifique que l'urée.

B) Créatinine

La créatinine est le produit de la **créatine** qui est elle-même synthétisée à partir de 3 acides aminés : **Méthionine**, **Glycine** et **Arginine**.

L'arginine et la glycine sont condensés dans le **rein** et le **pancréas** (par la **AGAT**) → **Guanidinoacétate** → Condensation (par la **GAMT**) → **S adénosyl homocystéine**.

La créatine va passer la membrane cellulaire par un transport **CTI** (muscles et cerveau). Elle va être **phosphorylée** par la **créatine Kinase** → **Créatine P** (croissance du système + réserve énergétique) → **Conversion non enzymatique** (spontanée) → **Créatinine** (déchets) + **Phosphate** → élimination par le rein.

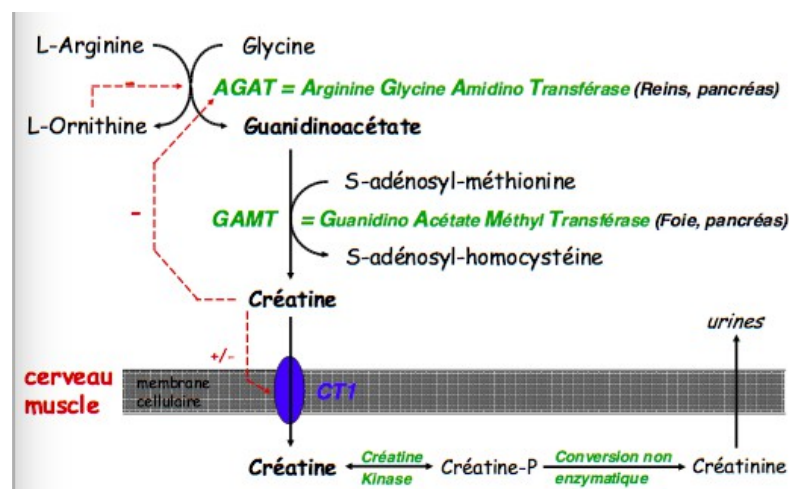
Il faut dépister jeune le défaut de Créatine Kinase avant que les destructions soient faites.

Si une personne a un défaut d'enzyme AGAT ou GAMT : **injections** de **créatine** pour en faire rentrer dans le cerveau et éviter les problèmes.

Mais si c'est le transporteur CTI qui est muté, alors il n'y a pas de traitement. On observera un retard mental (troubles du langage)

La créatinine est totalement filtrée au niveau du glomérule, mais n'est pas absorbée par le tube proximal, Elle est un **peu sécrétée** par le **Tube Distal** (10%). La sécrétion peut **augmenter** en état pathologique.

La quantité de créatinine dépend de la masse musculaire (qui ne varie pas beaucoup, stable) → Reflet du fonctionnement rénal.



1) Dosage

Méthode Colorimétrique (de Jaffé) : peu coûteuse, condensation de la créatinine avec acide picrique → **Picrate de Créatinine** coloré (mesure DO mais beaucoup d'interférences avec les protéines plasmatiques).

Travail sur des temps courts pour éviter les interférences → utilisation de Jaffé **compensé** : on retire de la concentration entre -18 et -26 micromoles en fonction de l'âge du patient.

Les méthodes enzymatiques sont une autres alternatives. Elles existent depuis longtemps : Elles coûtent cher. Mais depuis 2010, les méthodes **enzymatiques** prennent le pas sur Jaffé, certes plus cher mais beaucoup **plus spécifiques, plus sensibles** (meilleure détection), **reproductible**, et calée sur la **spectrométrie de masse**.

2) Valeurs usuelles

Se ou PI créatinine	Homme : 60 à 115 $\mu\text{mol/l}$ soit 7 à 13 mg/l
	Femme : 45 à 105 $\mu\text{mol/l}$ soit 5 à 12 mg/l
dU Créatinine	Homme : 10 à 18 mmol soit 1100 à 2000 mg
	Femme : 9 à 12 mmol soit 1000 à 1350 mg

Les valeurs sont plus **basses** chez l'enfant, chez le sujet âgé, chez le sujet dénutri ou immobilisé par diminution de la masse musculaire. Il n'y a pas de changement avec l'alimentation.

Elle augmente après un effort physique intense, diminue dans la grossesse (plus important dans le dernier trimestre).

3) Clairance

Volume de plasma totalement épuré d'une substance par unité de temps

- Si totalement filtré, non sécrété et absorbé : reflet de Débit de Filtration Glomérulaire.

$$\text{Clairance} = \frac{U \times V}{P}$$

U = Concentration **urinaire** en créatinine

V = **débit urinaire** → Clairance en **mL/min**

P = concentration **plasmatique** en créatinine

Clairance = 90 à 140 ml/mn soit 1.5 à 2.30 ml/s
pour une surface corporelle moyenne de 1.73 m² chez l'adulte

La diurèse sur 24h / 1400minutes → V doit être calculé sur 24h, long.

Prélèvement de l'urine : Bidon stérile de + de 2L, on note l'heure sur le flacon et on le fait dedans pendant TOUTE la journée jusqu'au lendemain matin (4° au frigo) → première cause d'erreur car problème de recueil.

Si elle est bien faite, elle est très informative.

On peut la **corriger** par la **vraie surface corporelle** du patient : Poids + taille. Résultat accompagné du **Débit Urinaire** et **non la DIURÈSE**.

$$\text{Cl corrigée} = \text{clairance calculée} \times \frac{1.73}{S \text{ du patient}}$$

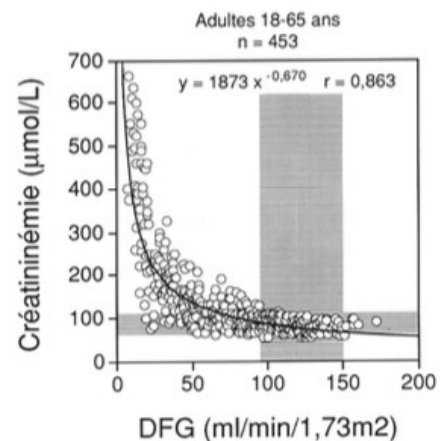
→ Insuffisant pour évaluer la fonction rénale.

Abscisse : DFG

Ordonné : Créatinémie en micromol/L

Le DFG doit diminuer de moitié pour que la créatinémie diminue de façon importante.

La créatinémie est normale mais la fonction rénale ne l'est pas forcément.



Chercheurs :

Afin de **s'affranchir** du recueil des urines et réduire le poids des facteurs des variations non rénales, ils vont estimer le débit de filtration glomérulaire (DFG) à l'aide de différentes formules.

→ **Formule de Cockcroft et Gault** : Estime la clairance.

Estimation de la clairance en ml/mn =	$\frac{(140 - \text{âge}) \times \text{poids en kg}}{\text{Créatinémie en } \mu\text{mol/l}}$
▪ Chez la femme x par 1.04	
▪ Chez l'homme x par 1.25	

La formule **surestime** quand il y a une **surcharge pondérale** et **sous estime** pour les **petits poids** et sujets **>60ans**. Elle sera abandonnée, mais utilisée que pour l'adaptation médicamenteuse pour la fonction rénale.

→ LA CREATINE DEPEND DE LA MASSE MUSCULAIRE. (100 KG de gras ne sont pas 100 Kg de muscles!!)

On l'utilise pour adapter des posologies selon la fonction rénale

Autres formules :

- **MDRD** = évaluer les **apports alimentaires** pour l'insuffisance rénale.

On estime le **DFG** et **NON LA CLAIRANCE**.

Lorsque l'on ajoute aux paramètres **l'urée** et **albumine**, on obtient un biais important. Donc maintenant, on utilise seulement **l'âge**, la **créatinine** et le **sexe**.

→ Formule compliquée à ne pas apprendre par cœur (Ouf)

Formule simplifiée
$186 \times (\text{créatinine } \mu\text{mol/l} \times 0.0113)^{-1.154} \times \text{âge}^{-0.203}$ pour l'homme

A multiplier par **0,742** pour la femme, par **1,21** pour les africains.

On utilise pas le poids, méthode validée pour les 18-70ans.

(90-140micromol) = normale

<90micromol : fonction rénale qui est en difficulté.

– **Schwartz** = Pour les enfants.

$$DFG(ml/min) = \frac{K \cdot Taille(cm)}{créatininémie(\mu mol/l)}$$

K est un facteur qui va varier en fonction de l'age et du sexe de l'enfant.

– CKD-EPI

Obligation que la créatinine soit évaluée par méthode **enzymatique calée sur l'IDMS.**

Intéressante pour ceux qui ont une fonction rénale **subnormale** = maladies rénales débutantes

Mesure idéale par la méthode de référence: DFG à Inuline.

Non sécrété ni absorbée. Mais doit **injecter** un produit à l'hôpital.

EDTA : **iothalamate marquée** et NON l'iode 25.

Iohexol : produit de contraste iodé fait à l'hôpital.

Marqueur endogène : Cystatine C

Protéine inhibitrice des **cystines protéases**. Faible MM, filtrée au niveau du rein, jamais réabsorbé dans sa forme entière, dégradée en acide aminé et elle sera réabsorbée.

Ce marqueur varie en fonction de l'age et est present physiologiquement selon les taux suivants :

- De 1 a 50 ans : 0,63 a 1,33 mg/L
- > 50 ans : 0,74 a 1,55 mg/L
- Valeur CBP-CHR : 0,50 a 0,96 mg/L

Dosage **immunologique** en pédiatrie.

→ Dépend de l'**âge, sexe, état inflammatoire** du patient.

4) *Variations pathologiques de la créatinine*

L'évaluation de la créatinine plasmatique et de la clairance servent à diagnostiquer une **Insuffisance Rénale chronique et à suivre son évolution.**

– **Augmentation** créatinine et **diminution** clairance.

L'insuffisance rénale est un ensemble de signes biologiques et cliniques dus à une **altération** de la fonction rénale et qu'on va mettre en évidence par une diminution de DFG.

- **Insuffisance Rénale Aiguë (=IRA)**

L'insuffisance rénale sera **aiguë** : altération rapide et brutale des fonctions rénales avec diminution rapide du **DFG**. L'urée et la créatinine vont **augmenter** de façon importante.

Si le diagnostic est posé rapidement = elle sera réversible mais souvent mortelle.

On classe l'IRA de différentes manières en fonction de la diurèse associée :

- **Anurique** : diurèse (quantité d'urine émise) < 100ml/j
- **Oligoanurique** : diurèse (100-500 mL/j)
- **A diurèse conservée** : diurèse > 500ml/j

- **IRA pré rénale ou fonctionnelle** :

Ce sont les plus fréquentes.

Le rein n'est pas lésé, mais il fonctionne dans de mauvaises conditions.

On a une diminution de la perfusion rénale sans atteinte lésionnelle du rein.

Étiologies : Hémorragie brutale importante, déshydratations aiguë (pertes digestives, rénales, cutanées), Insuffisance cardiaque, médicaments IEC, sartans, AINS, ciclosporine.

Traitement rapide : rétablir la filtration glomérulaire dans les 24-48h. Il peut y avoir des ischémies, puis une insuffisance rénale. → On utilise du **Sérum salé isotonique** pour rétablir la filtration.

Dans certaines circonstances, on pourra utiliser une **épuration extra rénale** (sortir le sang et le faire passer dans un rein artificiel).

- **IRA organiques ou lésionnelles** :

Ce sont des insuffisances rénales qui vont entraîner des lésions glomérulaires tubulaires, tubulo-interstitielles ou vasculaires

On aura une augmentation parallèle de l'urée et de la créatinine.

Causes :

- Infections toxiques industrielles + médicamenteux
- Glomérulonéphrites toxiques aiguës
- MAI
- Occlusions petits-gros vaisseaux du rein

→ **Dialyse** pour le traitement.

- **IRA post-rénale ou obstructive** :

C'est la première étiologie à tester : échographie rénale pour vérifier s'il y a un obstacle dans les cavités excrétrices qui peuvent être dues à :

- lithiase phosphate-tri-calcique (vaisseaux, yeux, peau).
- Traumatisme (fracture du petit bassin)
- Tumeur de la prostate chez les hommes, ou de l'arbre urinaire.

→ Traitement par **élimination** de l'obstacle pour éviter la destruction du parenchyme rénal par hyperpression

→ **hématurie possible (présence de sang dans les urines)**

Sinon on a aussi les **Insuffisances Rénales Chroniques** : « tueur silencieux », qui correspond une diminution du nombre de néphrons fonctionnels.

Mécanisme double :

- La maladie rénale s'installe avec **diminution du nombre de néphrons** : mais les restants assurent le travail.
- Hyperfonctionnement des néphrons sains restants → nouvelles lésions et destructions

Maladie **lente, irréversible, silencieuse** donc pas de signes cliniques-biologiques tant qu'un rein sur 2 n'est pas détruits.

Dépistage le plus tôt possible pour ralentir la progression.

A rechercher si personne :

- Diabétique : néphropathie diabétique possible
- hypertension
- Infections répétées ou toxiques
- Néphropathies chroniques connues ou dans la famille sujets aux troubles de l'infection – lithiase urinaire.
- Sujet avec un seul rein → Greffe.
- Sujet âgé de plus de 65ans

Conséquences :

On notera tout d'abord une diminution de la DFG ce qui entraînera la rétention des déchets azotés et la baisse de la clairance et de la créatinine

On aura également une altération des fonctions tubulaires et donc des troubles de l'eau et des ions et de l'équilibre acido-basique

On aura aussi une altération de la fonction endocrinienne :

- baisse de la synthèse d'EPO ce qui entrainera une anémie
- diminution de la synthèse de calcitriol d'où une hypocalcémie et hyperphosphatémie
- la rénine sera conservée ou augmentée si on a une ischémie, ce qui entrainera l'augmentation de la sécrétion d'aldostérone et de la rétention hydro-sodé, une hypertension artérielle et des œdèmes.