



HAL
open science

La cystatine C: un nouveau marqueur de la fonction rénale ?

Myriam Guyon

► **To cite this version:**

Myriam Guyon. La cystatine C: un nouveau marqueur de la fonction rénale?. Sciences pharmaceutiques. 2001. hal-01731739

HAL Id: hal-01731739

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01731739>

Submitted on 14 Mar 2018

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.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

Ph N 2001/37
Double

UNIVERSITE HENRI POINCARÉ – NANCY I
2001

DB 25270

FACULTE DE PHARMACIE

**LA CYSTATINE C
UN NOUVEAU MARQUEUR DE LA FONCTION RENALE ?**

THESE



Présentée et soutenue publiquement

Le 22 juin 2001

pour obtenir

le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

par Myriam GUYON

Membres du Jury

Président : Marie-Madeleine GALTEAU professeur de biochimie

Juges : Jean-Luc ANDRE professeur en néphrologie infantile
Pascale VEBER docteur en pharmacie

BU PHARMA-ODONTOL



D

104 058202 5

UNIVERSITE HENRI POINCARÉ – NANCY I
2001

FACULTE DE PHARMACIE



**LA CYSTATINE C
UN NOUVEAU MARQUEUR DE LA FONCTION RENALE ?**

THESE

Présentée et soutenue publiquement

Le 22 juin 2001

pour obtenir

le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

par Myriam GUYON

Membres du Jury

Président : Marie-Madeleine GALTEAU professeur de biochimie

Juges : Jean-Luc ANDRE professeur en néphrologie infantile
Pascale VEBER docteur en pharmacie

FACULTE DE PHARMACIE

UNIVERSITE Henri Poincaré - NANCY I

Membres du personnel enseignant

Doyen : Mme Chantal FINANCE

Vice Doyen : Mme Anne ROVEL

DOYENS HONORAIRES

M. BERNANOSE André

M. VIGNERON Claude

PROFESSEURS HONORAIRES

Mlle BESSON Suzanne

Mlle GIRARD Thérèse

M. LECTARD Pierre

M. MIRJOLET Marcel

M. PIERFITTE Maurice

PROFESSEUR EMERITE

M. LOPPINET Vincent

PROFESSEURS

M.	ASTIER Alain	Pharmacie Clinique
M.	ATKINSON Jeffrey	Pharmacologie
M.	BAGREL Alain	Biochimie fondamentale et clinique, Biotechnologies
Mlle	BATT Anne Marie	Toxicologie
M.	BLOCK Jean Claude	Santé et Environnement
M.	BONALY Roger	Biochimie microbienne
Mme	CAPDEVILLE-ATKINSON	Pharmacologie Cardiovasculaire
Mme	FINANCE Chantal	Microbiologie moléculaire
Mme	FRIANT-MICHEL Pascale	Biomathématiques, Biophysique et Audioprothèse
Mle	GALTEAU Marie Madeleine	Biochimie
M.	HENRY Max	Biologie végétale
M.	HOFFMAN Maurice	Pharmacie clinique
M.	JACQUE Michel	Pharmacodynamie
M.	LABRUDE Pierre	Physiologie
M.	LALLOZ Lucien	Chimie organique
M.	LEROY Pierre	Physico-chimie appliquée à la formulation pharmaceutique
M.	MAINCENT Philippe	Pharmacie galénique
M.	MARSURA Alain	Chimie thérapeutique
M.	MARTIN Jean Armand	Chimie minérale et Minéralogie
M.	MORTIER François	Pharmacognosie
M.	NICOLAS Alain	Chimie analytique et Bromatologie
M.	REGNOUF DE VAINS Jean Bernard	Chimie Thérapeutique
Mme	SCHWARTZBROD Janine	Bactériologie - Parasitologie
M.	SCHWARTZBROD Louis	Virologie - Immunologie
M.	SIEST Gérard	Chimie Biologique
M.	SIMON Jean Michel	Droit et Economie de la Santé
M.	VIGNERON Claude	Hématologie

MAITRES DE CONFERENCES

Mme	ALBERT Monique	Bactériologie - Virologie
M.	BONNEAUX François	Chimie Thérapeutique
M.	CATAU Gérard	Pharmacodynamie
M.	CHEVIN Jean Claude	Chimie minérale
M.	CHILLON Jean Marc	Pharmacologie
M.	COLLIN Jean François	Pôle européen
Mme	COLLOMB Jocelyne	Parasitologie
M.	COULON Joël	Biochimie
M.	DECOLIN Dominique	Chimie analytique
M.	DUCOURNEAU Joël	Biophysique, Audioprothèse, Acoustique
Mme	FAIVRE-FIORINA Béatrice	GBM - Hématologie
M.	FERRARI Luc	Biochimie
Mle	FONS Françoise	Biologie Végétale et Mycologie
Mme	FUZELLIER Marie Claude	Pharmacognosie
M.	GANTZER Christophe	Virologie
M.	GIBAUD Stéphane	Pharmacie Clinique
Mme	HASENFRATZ-SAUDER Marie Paule	Biologie Végétale
Mle	HINZELIN Françoise	Biologie végétale et Pharmacognosie
M.	HUMBERT Thierry	Interactions moléculaires
Mle	IMBS Marie Andrée	Bactériologie - Virologie et Parasitologie
M.	JORAND Frédéric	Santé et Environnement
Mme	KEDZIEREWICZ Francine	Pharmacie Galénique
Mme	LARTAUD-IDJOUADIENE Isabelle	Pharmacologie
Mme	LEININGER-MULLER Brigitte	Biochimie
Mme	LETOT Michèle	Bactériologie - Virologie et Parasitologie
Mme	LIVERTOUX Marie Hélène	Toxicologie
Mme	MARCHAL-HEUSSLER Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme	MARCHAND-ARVIER Monique	Immunologie - Hématologie
M.	MENU Patrick	Physiologie
M.	MONAL Jean Louis	Chimie Thérapeutique
M.	NOTTER Dominique	Biologie cellulaire
Mme	PAULUS Francine	Informatique
Mme	PERDIAKIS Christine	Chimie organique
Mme	PICHON Virginie	Biophysique
Mme	POCHON Marie France	Chimie analytique
Mme	ROVEL Anne	Immunologie - Hématologie
M.	VISVIKIS Athanase	Toxicologie
Mme	WELLMAN-ROUSSEAU Maria Monika	Biochimie
Mme	ZINUTTI Colette	Pharmacie galénique

ASSISTANTS

Mme	BEAUD Mariette	Biologie Cellulaire
Mme	BERTHE Marie-Catherine	Biochimie
M.	DANGIEN Bernard	Botanique
Mme	MOREAU Blandine	Pharmacognosie
Mme	PAVIS Annie	Parasitologie
M.	TROCKLE Gabriel	Pharmacodynamie

PROFESSEUR ASSOCIE

Mme	GRISON Geneviève	Pratiques officinales
-----	------------------	-----------------------

PROFESSEUR AGREGE

M.	COCHAUD Christophe	Anglais
----	--------------------	---------

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Mademoiselle Marie Madeleine GALTEAU

Professeur de Biochimie

Nous avons pu apprécier, au cours de nos études, sa grande compétence professionnelle, la rigueur de ses conseils et la qualité de son enseignement.

Elle nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse, nous la remercions de l'aide précieuse qu'elle nous a apporté pour la réalisation de ce travail.

Qu'il nous soit permis de lui exprimer notre profonde et respectueuse gratitude.

A NOS JUGES

Monsieur Jean Luc ANDRE

Professeur en néphrologie infantile au CHU de Brabois

Par son expérience, il a su nous guider et nous conseiller dans l'élaboration de notre ouvrage, et nous a consacré de nombreuses heures de travail malgré ses obligations professionnelles.

Qu'il trouve dans les remerciements que nous lui témoignons, un gage de notre sincère reconnaissance.

Madame Pascale VEBER

Docteur en pharmacie

Nous la remercions pour ses qualités humaines, et le soutien qu'elle nous a procuré tout au long de nos études.

Qu'il nous soit permis de lui exprimer notre profonde sympathie.

A toute l'équipe du Centre de Médecine Préventive qui m'a accueilli
chaleureusement au sein de son unité

A tout le personnel du service de néphrologie infantile

A tout ceux qui ont contribué par leurs conseils ou par leur aide à la
réalisation de cette thèse

A mes parents

A ma sœur

Je leur dédie ce travail, témoignage de ma reconnaissance pour le soutien qu'il m'ont apporté, le dévouement et la patience dont ils ont fait preuve tout au long de mes études.

A ma famille

A tous mes amis

Avec toute mon affection

« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION,
NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES
THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES
COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

SERMENT DES APOTHICAIRES



Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.



Table des matières

ABREVIATIONS	1
INTRODUCTION	2
1 ^{ERE} PARTIE : LA CYSTATINE	
I. Présentation de la cystatine C	3
1. Classification : la superfamille des cystatines	3
2. Structure	5
3. Localisation	6
4. Rôle	6
5. Structure du gène : expression et régulation	12
II. Variations de la cystatine C	14
1. Cystatine C et inflammation	14
1.1. L'arthrite rhumatoïde	14
1.2. L'asthme	15
2. Cystatine C et phénomènes dégénératifs	16
3. Cystatine C et maladies hypertensives	18
3.1. Pré éclampsie	18
3.2. Diabétologie	19
3.3. Cancérologie	19
3.4. Rôle dans l'athérosclérose	19

2^{EME} PARTIE : VALEURS DE REFERENCE ET VARIATIONS BIOLOGIQUES

I. Matériel et méthodes	25
1. Description de la population.....	25
2. Echantillons sanguins.....	27
3. Méthodes analytiques.....	27
4. Méthodes statistiques.....	30
II. Résultats et discussion	31
1. Variations préanalytiques.....	31
2. Variations analytiques.....	31
3. Contrôle de qualité.....	34
4. Variations biologiques ou physiologiques.....	35
4.1. Valeurs biologiques de différents paramètres.....	35
4.2. Distribution de la cystatine C.....	37
4.3. Variations avec l'âge.....	39
4.4. Variations dues au statut hormonal.....	41
4.5. Variations dues au poids et à la masse musculaire.....	42
4.6. Variations dues à l'alcool et au tabac.....	42
4.7. Variations dues aux xénobiotiques.....	44
4.8. Variations dues aux rythmes circadiens.....	44
4.9. Variations dues aux facteurs génétiques.....	44
III. Valeurs de référence	45

3^{EME} PARTIE : VARIATIONS PATHOLOGIQUES

I. Le fonctionnement rénal et les pathologies rencontrées	48
1. Structure du rein.....	48
2. Fonction des reins.....	49
3. Les pathologies rencontrées.....	51
II. Evaluation de la fonction rénale	52
1. Tests statiques.....	52
2. Tests dynamiques.....	57
2.1. Rappels sur la notion de clairance.....	57
2.2. Qualités requises pour la mesure de la filtration glomérulaire	58
2.3. Molécules utilisées.....	58
III. Etude en néphrologie infantile réalisée à l'hôpital de Nancy	62
1. Matériel et méthodes.....	62
1.1. Description de la population.....	62
1.2. Méthode de dosage.....	63
2. Résultats et discussion.....	63
2.1. Etude chez les enfants malades et les enfants témoins.....	63
2.2. Etude de l'évolution dans le temps des marqueurs biologiques chez six enfants.....	75
2.3. Etude de la sensibilité et de la spécificité épidémiologique.....	75
CONCLUSION	81
ANNEXES	82
BIBLIOGRAPHIE	93

Liste des abréviations

Å : angström
Ac : anticorps
ADN : adénosine diphospho-nucléotide
Ag : antigène
AINS : anti-inflammatoire non stéroïdien
AIS : anti-inflammatoire stéroïdien
ALAT : alanine amino-transférase
ARNm : adénosine ribonucléotide messenger
ASAT : aspartate amino-transférase ATP
BMI : indice de masse corporelle
BSA : surface corporelle
CHU : centre hospitalo-universitaire
CO : contraception oestro-progestative
CRP : protéine C réactive
CV : coefficient de variation
d : daltons
DFG : débit de filtration glomérulaire
EDTA : éthylène diamine triacétique
ELISA : "enzym liked immunosorbent assay"
EPO : érythropoïétine
FSH : hormone folliculostimulante
GGT : gamma-glutamyl-transférase
HCAA : angiopathie amyloïde cérébrale héréditaire
IFN : interféron
Kd : kilodalton
LCR : liquide céphalo-rachidien
LH : hormone lutéinique
m : moyenne
OMS : organisation mondiale de la santé
PENIA : immunonéphélométrie
PETIA : immunoturbidimétrie
Pg : prostaglandine
RA : arthrite rhumatoïde
s ou σ : écart type
SNC : système nerveux central
TAD : tension artérielle diastolique
TAS : tension artérielle systolique
THS : traitement hormonal substitutif

INTRODUCTION

La cystatine C est une protéine découverte chez l'homme en 1961. Son poids moléculaire est de 13 Kd environ et elle est composée de 120 acides aminés. Elle appartient à la superfamille des cystatines, plus exactement à la famille 2. Sa concentration est très stable dans le sérum et elle est filtrée librement par le glomérule rénal. Son rôle principal est d'inhiber les protéases, molécules impliquées dans les phénomènes cancéreux, inflammatoires, les infections virales, l'athérosclérose. Une mutation sur le gène de la cystatine C, localisé sur la chromosome 20, serait à l'origine d'une maladie proche de la maladie d'Alzheimer.

De part ses propriétés physico-chimiques et son caractère protéique, elle a été proposée comme nouveau marqueur en néphrologie. Elle pourrait ainsi être utile en diabétologie, en cancérologie et dans toutes les maladies d'origine hypertensive, source d'altération de la fonction rénale. Actuellement, la technique la plus utilisée pour évaluer le degré d'atteinte rénale reste le dosage de la créatinine plasmatique ou urinaire, mais depuis longtemps, on sait que cette molécule n'est pas parfaite. Chez les enfants, en particulier, la mesure de la créatininémie reste assez difficile à interpréter.

Avant d'interpréter des variations pathologiques, il faut connaître les variations biologiques des paramètres.

Dans cette optique, notre travail s'est divisé en deux temps :

- Nous avons tout d'abord établi les variations biologiques de la cystatine C sur une population issue du Centre de Médecine Préventive de Vandoeuvre-lès-Nancy et nous en avons tiré des valeurs de référence. Nous avons recueilli pendant 9 mois (de février à octobre 2000) 1223 échantillons sur lesquels nous avons dosé la cystatine C.
- Puis nous avons réalisé une étude à l'Hôpital de Brabois à Vandoeuvre-lès-Nancy dans le service de néphrologie infantile, en collaboration avec le Docteur André et son équipe, afin d'évaluer l'intérêt physiopathologique de la cystatine C.

Première partie :

LA CYSTATINE C

I. Présentation de la cystatine C

En 1961, à l'aide d'une technique d'immuno-électrophorèse qui utilisait des anticorps de renard dirigés contre du sérum humain, Clausen et al (16) mirent en évidence, dans le liquide céphalorachidien, la présence d'une « protéine spécifique » qu'il nomma γ CSF. La même année, Butler et Flynn (11) décrivirent une molécule appelée « post gamma protéine » dans les urines de patients atteints de protéinurie.

En 1962, Hochwald et Thorbecke (33) prouvèrent la présence d'une protéine ayant une mobilité électrophorétique de type gamma dans le sang, le plasma, le liquide céphalorachidien, l'urine, le liquide pleural et l'ascite. Ils l'appelèrent « gamma – trace ». En fait, il s'est avéré que les dénominations « γ CSF », « post γ protéine » et « γ trace » correspondaient toutes à une seule et même molécule qui fut finalement appelée « post gamma globuline » ou « γ C globuline » ou encore « δ T », les deux premières dénominations étant les plus couramment utilisées. Aujourd'hui tous ces termes sont regroupés sous le nom de cystatine C.

Cette dernière avait donc été mise en évidence dans plusieurs liquides biologiques : le LCR, l'urine, le sang, le liquide pleural et ascitique.

1. Classification : la superfamille des cystatines (55) (64)

Les cystatines constituent une superfamille comprenant trois familles différenciées par deux critères : la structure et les propriétés des molécules qui les composent.

Famille 1 : famille des stéfines

Cette première famille est constituée par les cystatines A et B encore appelées stéfines. Ces deux molécules sont constituées par une chaîne polypeptidique de 98 acides aminés sans ponts disulfures ni glycosylations. Elles ont une fonction essentiellement intracellulaire.

Famille 2 : famille des cystatines

Cette deuxième famille regroupe les cystatines S, SN, SA et C (64)

Elles sont constituées par une chaîne polypeptidique unique de 120 acides aminés avec 2 ponts disulfures près de leur extrémité C-terminale. Elles sont présentes dans de nombreux fluides extracellulaires.

Les modifications post-traductionnelles des trois chaînes polypeptidiques SN, SA, et S sont semblables (1), par conséquent une réactivité immuno-chimique croisée est possible.

En revanche, les 120 acides aminés constituant ces trois polypeptides ne montrent que 50% d'homologie avec ceux de la cystatine C, la possibilité de réaction croisée est donc moins importante.

La cystatine S est principalement retrouvée dans les sécrétions salivaires, les larmes et le sperme. Par contre, et contrairement à la cystatine C, elle est peu représentée au niveau extracellulaire.

Stéfines et cystatines ne possèdent qu'un seul site d'interaction avec les protéinases à cystéine.

Famille 3 : familles des kininogènes

Ce sont des protéines plus complexes ayant deux parties communes avec la famille des cystatines : les sites de glycosylations et un pont disulfure.

Leur fonction est de réguler les protéinases à cystéine au niveau extracellulaire comme le feraient les précurseurs de la bradykinine et les cofacteurs intervenant dans la coagulation.

On les trouve au niveau du plasma et du liquide synovial et elles possèdent trois sites d'interaction avec les protéinases à cystéine (par duplication du gène) dont un est inactif. On connaît trois types de kininogènes : le L- kininogène, le H- kininogène et le T- kininogène (thiostatine).

Famille 4 :

A cette famille, sont assimilées (55) :

- la glycoprotéine humaine riche en histidine
- la fétuine

Elles contiennent chacune 2 sites dont l'évolution est semblable à celle des domaines à cystéine, mais elles ne sont pas inhibitrices des protéases.

On peut conclure que la superfamille des cystatines humaines est subdivisée en 3 grands groupes (63) résumés dans le tableau I :

Tableau I: Les trois familles de cystatines humaines et leurs principaux constituants.

Famille 1	Famille 2	Famille 3
Cystatines intracellulaires	Cystatines extracellulaires	Cystatines intravasculaires
Cystatine A Cystatine B	Cystatine C Cystatine S Cystatine SA Cystatine SN	Kininogène de bas poids moléculaire (L-kininogène) Kininogène de poids moléculaire élevé (H-kininogène)

2. Structure

La structure de la cystatine C a été difficile à établir car sa dégradation est rapide dans l'urine, le liquide céphalo-rachidien et le liquide séminal (27).

En 1981, grâce à l'addition d'un inhibiteur de la protéinase responsable de cette dégradation dans l'urine, on a pu établir la structure de la molécule.

La cystatine C est une molécule composée de 120 acides aminés non glycosylés et comportant deux ponts disulfures. Sa masse moléculaire est de 13,359 Kd. Elle possède également une caractéristique : le résidu proline en position 3, celui-ci peut subir une modification post-traductionnelle et être transformé en son dérivé hydroxylé. Elle est organisée selon un axe ellipsoïde de diamètre de 30 à 45 Å (58) et possède un caractère basique (point isoélectrique de 9,3), et une charge positive au pH physiologique (57).

La figure 1 présente la structure de la cystatine C de poulet en 3 dimensions :

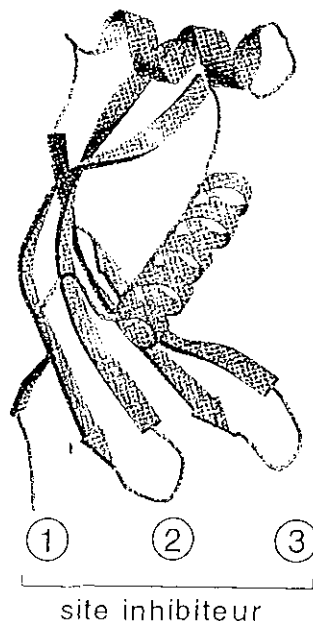


Figure 1 : Structure 3 D de la cystatine de poulet selon un axe ellipsoïdal (55)

3. Localisation

La cystatine C est présente dans le cytoplasme de nombreuses cellules humaines et simiesques (27). On a ainsi pu mettre en évidence, par des méthodes immunohistochimiques (utilisant des anticorps monoclonaux et polyclonaux spécifiques), que la molécule est présente chez le singe, dans le cytoplasme de cellules non néoplasiques telles que les cellules adénohypophysaires à LH, FSH, pancréatiques (îlots de Langerhans), thyroïdiennes, médullosurréaliennes et neuronales.

La cystatine C a été également retrouvée dans des cellules néoplasiques, notamment celles d'adénomes post-hypophysaires, dans des cellules pancréatiques, thyroïdiennes et cellules sécrétant de la norépinéphrine induisant un phéochromocytome (pathologie hypertensive).

La cystatine C est principalement localisée au niveau du système nerveux central (39) car elle y est 5,5 fois plus concentrée que dans le plasma. A ce niveau, elle est synthétisée par les neurones corticaux, mais aussi par la microglie et les astrocytes, la cystatine C est donc une molécule essentiellement extracellulaire.

Sa concentration urinaire est faible chez le sujet sain, de l'ordre de 0,03 à 0,3 mg/j. (57). Elle est filtrée librement par le glomérule rénal du fait de sa charge positive au pH physiologique. Elle est dégradée dans les urines par des enzymes protéolytiques, ce qui expliquerait les fortes variations de sa concentration. En effet, la cystatine C étant très stable dans le sérum, l'organisme semblerait compenser en éliminant plus ou moins la molécule dans les urines, ce qui induirait une concentration urinaire très variable.

4. Rôle

La cystatine C est un **inhibiteur de protéases**. La protéolyse est un processus intra ou extracellulaire essentiel pour tous les êtres vivants (55). Les protéases ont un rôle de dégradation des protéines et sont impliquées dans de nombreux processus physiologiques comme l'apoptose, la coagulation sanguine...Elles subissent donc une régulation précise, présentée sur la figure 2, afin de cibler leur action.

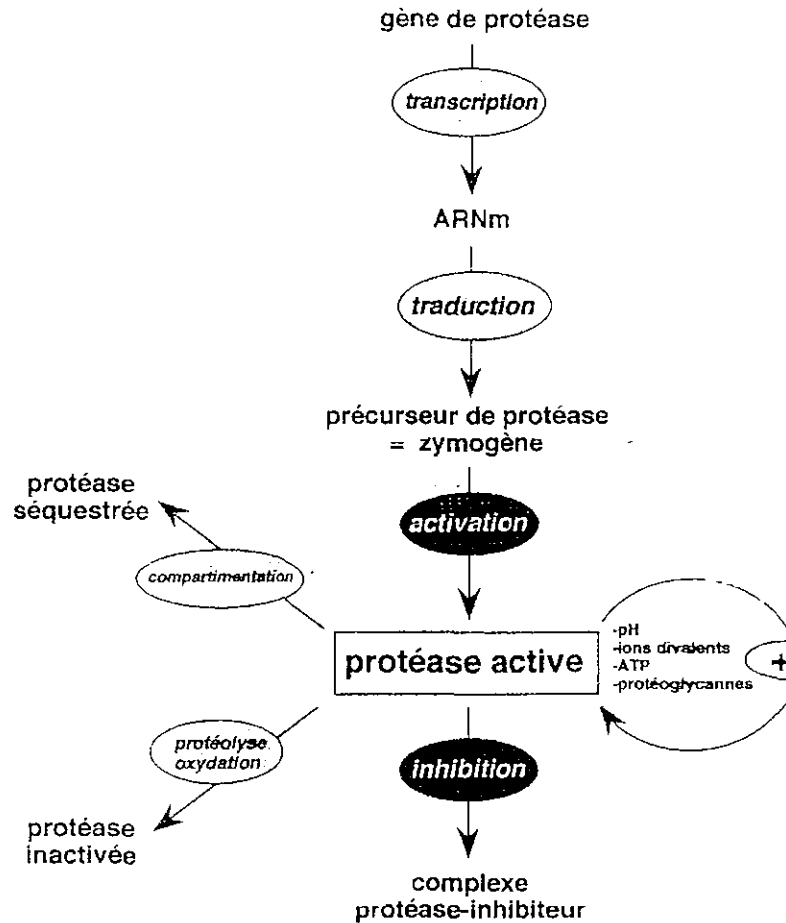


Figure 2 : Les différents niveaux de contrôle de la protéolyse (55).

Cette régulation est assurée à deux niveaux :

- au niveau de l'activation des précurseurs inactifs, encore appelés zymogènes.
- au niveau du contrôle de l'activité des protéases par des inhibiteurs localisés dans les liquides extracellulaires, les cellules, ou la matrice extracellulaire par formation de complexes réversibles ou non.

D'autres facteurs de régulation interviennent également : le pH, le calcium, l'ATP.

On peut diviser les protéases en 3 classes en fonction des résidus libérés par la catalyse de leurs substrats (55) :

- les protéinases à sérine libèrent une sérine
- les protéinases à cystéine libèrent une cystéine
- les protéases acides et métalloprotéinases libèrent de l'aspartate et du glutamate

Récemment, un nouveau type catalytique a été reconnu faisant intervenir une thréonine.

La famille des protéinases à cystéine est la plus importante car elle est inhibée par les cystatines. Elle est composée de 26 familles parmi lesquelles on distingue :

- la papaïne : la plus connue et la plus représentée car on la retrouve chez de nombreux parasites et ses protéines jouent un rôle essentiel lors des interactions hôte/agent pathogène.
- l'actidine
- la bromélaïne
- la chymopaïne
- les cathépsines B, H, L, S et K
- la calpaïne , fonctionnant avec du calcium, mais dont le rôle physiologique reste inconnu
- les caspases : importantes dans le phénomène d'apoptose et dans les cancers ou processus neurodégénératifs.

Les protéinases à cystéine sont impliquées dans le maintien des fonctions vitales de l'organisme à savoir (2) :

- le catabolisme intracellulaire des peptides et protéines
- les processus de pro-hormones et pro-enzymes (dont l'activation se fait par des coupures enzymatiques)
 - les phénomènes de résorption osseuse (par les ostéoclastes)
 - la dégradation du collagène
 - les phénomènes cancéreux
 - les infections virales

De ce fait, ces protéinases sembleraient être impliquées dans la polyarthrite rhumatoïde, la dystrophie musculaire, l'ostéoporose, l'athérosclérose ou dans l'invasion tumorale par dégradation des protéines de la matrice extracellulaire. Ce sont ces deux dernières pathologies qui ont été le plus souvent étudiées.

Globalement, les protéinases à cystéine ont toutes le même mode d'action (64). Elles sont capables d'hydrolyser de nombreuses protéines par attaque nucléophile (dépendant du pH), créant ainsi notamment des lésions cancéreuses.

Leur activité est principalement régulée par les cystatines, par blocage du groupement cystéine pour lequel elles ont une forte affinité réversible (55). En revanche, les cystatines ont

un spectre d'action assez restreint et agissent principalement sur certaines protéines de la famille des papaines.

La cystatine C est également inhibitrice des cathepsines et possède par conséquent une fonction principale d'inhibition des protéases à cystéine relarguées par les cellules cancéreuses ou produites par les macrophages dans l'athérosclérose (68).

* En cancérologie

L'invasion des tissus sains par des cellules tumorales et métastatiques est associée à l'action protéolytique de différentes protéases (41) comme les sérines protéases (ex : activateur du plasminogène), les métalloprotéases, les protéases aspartiques ou protéases acides (ex : cathepsine D) et les protéases à cystéine (tableau II).

Tableau II : Les cystatines et leurs protéases cibles (55).

Classe de protéase inhibée	Exemple d'inhibiteur	Principales protéases inhibées
Protéases à cystéine	<ul style="list-style-type: none"> • stéfine A et B • cystatine de poulet, cystatine C, cystatine S • L-, H-kininogène 	Cathepsines lysosomiales : B, H, L, S, K

L'augmentation du taux de cathepsines B, H, L et K a été observée dans de nombreux tissus tumoraux : en effet, ces protéases sont capables d'activer d'autres enzymes protéolytiques et de dégrader les protéines de la matrice extracellulaire ou de la membrane cellulaire comme la laminine, le collagène, l'élastine (in vitro) créant ainsi les lésions cancéreuses.

Normalement, les cathepsines sont exclusivement lysosomiales, mais en cas de cancers, elles envahissent aussi le milieu extracellulaire et exercent indirectement leur pouvoir de dégradation sur la matrice. Par exemple, les cathepsines H augmentent principalement dans les cancers primitifs (mélanomes), les cathepsines B dans le cancer du poumon, les cathepsines L dans le cancer du sein. L'activité de ces trois cathepsines est régulée par des inhibiteurs endogènes situés au niveau cytoplasmique comme les stéfines A et B (la diminution de concentration en stéfine A est liée à la gravité du cancer) ou au niveau extracellulaire comme la cystatine C et les kininogènes.

Toute diminution du taux ou de l'activité des inhibiteurs de ces protéases sera donc liée à une progression tumorale.

Néanmoins, le rôle des cathepsines n'est pas complètement élucidé : en cas de cancers, elles sont certes libérées en quantité plus importante, mais sous forme de précurseurs inactifs. Afin d'inhiber les cathepsines B, H, L, S et K, et empêcher l'invasion cancéreuse, la cystatine C forme des complexes équimoléculaires réversibles, par des liaisons hydrogènes et hydrophobes, ceci est présentée par la figure 3 :

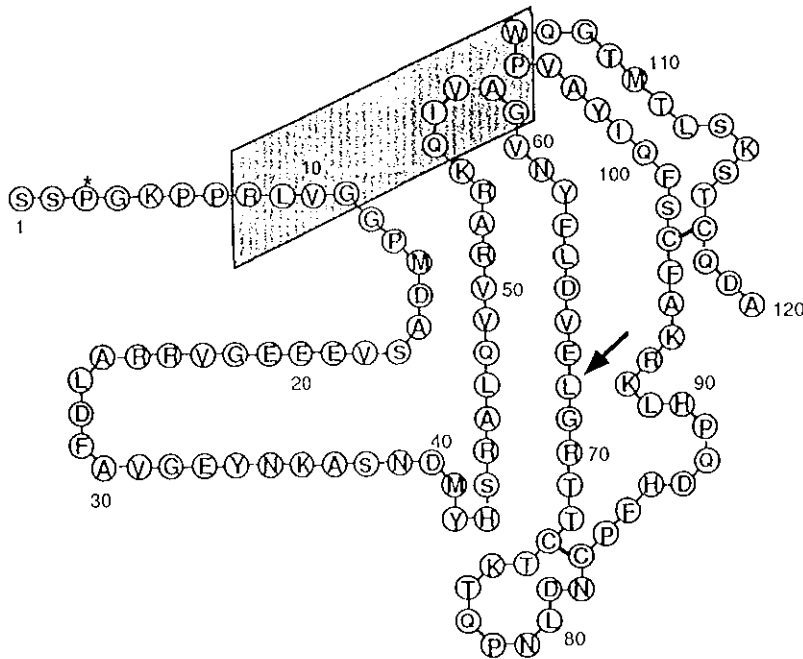


Figure 3 : Mécanisme d'inhibition des protéinases à cystéines par la cystatine C (28).

On constate que 3 régions sont impliquées (55, 63) :

- une région N-terminale possédant une glycine invariante en position 11 : Arg8-Leu9-Val10-Gly11.
- une région centrale comportant une séquence consensus de type QxVxG : Gln55-Ile56-Val57-Ala58-Gly59.
- une région C-terminale comportant un dipeptide proline-histidine pour les stéfines ou un dipeptide proline-tryptophane pour les protéines des familles 2 et 3 : Pro105-Trp106.

Le rôle de la cystatine C, lui non plus, n'est pas encore parfaitement élucidé : la cystatine C est bien un inhibiteur de protéases, mais paradoxalement, son taux augmente en cas de métastases. La cystatine serait-elle est un marqueur des cancers métastasés ?

Dans les années 85, Grubb et al (68) pensaient que la cystatine C n'était pas influencée par le caractère malin des cellules. Mais en 1997, Kos et al (40) révélèrent que la cystatine C était

plus élevée chez des patients atteints de mélanomes, ou de cancers colorectaux et qu'il existerait une corrélation entre l'augmentation de la concentration sérique en cystatine C et une progression maligne, ceci étant corroboré par Lah et al (43). L'augmentation de concentration en cystatine C n'est significative que si le mélanome est métastasé (40).

En revanche, en cas de cancers colorectaux, l'augmentation de la concentration en cystatine C est significative quelque soit le stade d'évolution de la maladie (40 ; 59).

L'augmentation de la concentration en cystatine C dans le sérum serait donc due à une diminution de la fonction glomérulaire causée par une altération rénale préalable ou à une influence de facteurs extrarénaux. En effet, chez les personnes cancéreuses, la cystatine C augmente significativement, mais pas la créatinine, ce qui confirmerait cette dernière hypothèse (41).

Une forte augmentation de la concentration en protéases associée à une augmentation modérée de leurs inhibiteurs (dont fait partie la cystatine C) entraînerait l'invasion cancéreuse par déséquilibre de la balance physiologique cystatine C/protéinases.

* Dans l'athérosclérose

Les protéases impliquées dans cette pathologie sont :

- les métallo protéases matricielles
- les sérines protéases
- les protéases à cystéine : cathepsines S et K.

Celles ci seraient responsables, de part leur augmentation principalement dans les macrophages et les cellules musculaires lisses, des lésions de type athérosclérose.

En présence de cytokines pro-inflammatoires dans les plaques d'athérome, les macrophages et les cellules musculaires lisses se mettent alors à sécréter en grande quantité de la cathepsine S capable de dégrader l'élastine des vaisseaux, ce qui expliquerait les lésions.

La cystatine C, protéine pouvant réguler les activités de ces protéases jouerait un rôle capital dans la prévention de l'élaboration de ces plaques vasculaires.

Shi et al (75) ont cherché à démontrer sur des vaisseaux humains qu'un déficit en cystatine C conduirait à ces pathologies vasculaires. D'un côté, les protéines de l'inflammation (IFN γ) augmentent dans les cellules musculaires lisses produisant une grande quantité de protéases à cystéine (cathepsine S) responsables des lésions dans le collagène et l'élastine. D'un autre côté, le facteur de croissance β 1 (TGF β 1), inducteur de la production de cystatine C par les cellules musculaires lisses est fortement diminué en cas d'athérosclérose, donc la cystatine C diminue.

Comme en cancérologie, on retrouve un déséquilibre qui, dans l'athérosclérose, entraînerait des lésions vasculaires et contribuerait à la progression de la plaque d'athérome.

5. Structure du gène : expression et régulation

La cystatine C est synthétisée sous forme d'une préprotéine par un gène, encore appelé CST3, qui a été entièrement cloné (49). Il possède une structure proche des gènes des cystatines SN (= CST1), SA (= CST2), S (= CST4), D (= CST5). Ces cinq gènes constituent les membres d'une famille multigénique appelée « famille des gènes de la cystatine ». CST3 est composé de trois exons et deux introns de 2252 et 1254 paires de bases respectivement, ce qui lui confère une taille de 4,3 kb (1).

Il est situé sur le chromosome 20 et plus particulièrement sur le bras court en position 20 p11.2, ce qui est présenté à la figure 4.

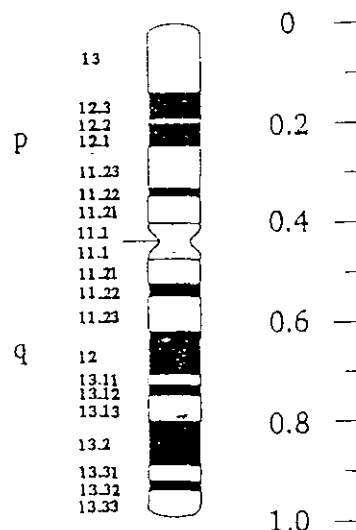


Figure 4 : Localisation du gène de la cystatine C sur le chromosome 20 (72).

Ce gène possède des caractéristiques qui font que sa structure est très controversée : en effet, il présente différentes particularités notamment :

- pas de CAAT box, site d'initiation de la transcription
- richesse en séquences GC et GGGCGG

et contrairement à de nombreux gènes très conservés, il possède :

- une certaine richesse en séquences AT dans la région d'initiation de la transcription : celle-ci est composée de deux sites d'une longueur de 12 paires de bases en position -103 et -88.

- une séquence GATAAA ou « TATA box like » ressemblant à un site de couplage pour la fixation de facteurs d'initiation de la transcription en position -126 et -121.

Le gène de la cystatine C possède donc des caractéristiques qui lui sont propres (64) : une variabilité d'expression tissulaire, des propriétés de gène très conservé et en même temps des propriétés de gène dont la transcription est bien régulée.

L'ARNm transcrit du gène de la cystatine C est localisé dans de nombreux tissus : rein, pancréas, intestin, antrum de l'estomac, placenta, poumon et foie avec une plus forte concentration dans les vésicules séminales (1). Mais d'une façon générale, la concentration en cystatine C est plus importante dans les liquides biologiques que dans les tissus. La structure de la région en 5' de l'ARNm et, en particulier l'absence du site d'initiation de la transcription et la relative abondance en séquences GC semblerait en relation avec la faible expression tissulaire de la cystatine C.

La régulation de l'expression de la cystatine C s'effectue à deux niveaux :

- au niveau de la région promotrice : le facteur GC réprime l'expression des gènes codant pour les protéases Ca^{2+} dépendantes pour le récepteur du facteur de croissance de l'épiderme, pour la β -actine et pour l'apolipoprotéine 2.
- au niveau du site d'initiation de la transcription par le facteur GATA .

D'autres facteurs peuvent aussi, *in vitro*, selon les cas, diminuer ou augmenter l'expression du gène de la cystatine C dans des cellules embryonnaires de souris : la stimulation par des lipopolysaccharides des bactéries, IFN gamma et la fumée de cigarette diminuent l'expression du gène de la cystatine C alors que le facteur de croissance β et la dexaméthasone entraînent le contraire.

Une mutation sur ce gène semblerait à l'origine d'une pathologie : l'angiopathie amyloïde cérébrale héréditaire (HCAA) caractérisée, comme son nom l'indique, par le dépôt d'un variant muté de la cystatine C dans les cellules neuronales cérébrales (39). Cette mutation concerne la leucine en position 68 qui est remplacée par une glutamine, entraînant une modification des propriétés physico-chimiques et une certaine instabilité de la cystatine C qui s'accumule et se polymérise, responsable des dépôts amyloïdes.

Il existe différentes formes d'angiopathie amyloïde cérébrale, mais quel qu'en soit le type, ces dépôts seraient dus à un défaut de la sécrétion de la cystatine C par les monocytes. D'après Thorsteinsson et al (39), l'accumulation de la cystatine C se localise principalement au niveau périnucléaire et parfois au niveau nucléaire (astrocyte et microglie) laissant à penser que l'appareil de Golgi éprouve des difficultés à effectuer une exocytose correcte au

niveau de la membrane cytoplasmique. Chez ces malades, la quantité de cystatine C est plus importante dans les cellules qu'au niveau extracellulaire, ce phénomène serait dû à un blocage partiel de la sécrétion de cystatine C, provoquant un changement de ses propriétés physico-chimiques et un transport diminué.

D'après Kalman et al (37), la cystatine C serait aussi en cause dans d'autres types de démences séniles : la maladie d'Alzheimer et la démence vasculaire. En effet ne jouant plus son rôle d'inhibition des enzymes protéolytiques, elle serait impliquée dans l'inflammation locale chronique contribuant au processus physiopathologique de la maladie d'Alzheimer. Néanmoins, ses concentrations, dans le sérum et le LCR, sont normales dans ces deux formes les plus communes de démences.

II. Variations de la cystatine C

La cystatine C, étant une protéine, a été fréquemment mise en cause dans diverses pathologies inflammatoires ou dégénératives : arthrite rhumatoïde, asthme, angiopathie amyloïde cérébrale héréditaire. De part son caractère de marqueur du débit de filtration glomérulaire, elle peut également être impliquée dans la pré éclampsie de la femme enceinte, les cancers, l'hypertension artérielle et la néphropathie diabétique.

1. Cystatine C et inflammation

Comme on l'a déjà vu, la cystatine C a pour rôle physiologique d'inhiber les protéases à cystéine (57). En conséquence, la production de cystatine C n'est pas influencée par les phénomènes inflammatoires, ce n'est donc pas une protéine de la phase aiguë de l'inflammation. En effet, d'après Randers et al (68) chez les personnes ayant une protéine C réactive (CRP) très élevée, il n'y a pas de corrélation entre une forte concentration en CRP et la cystatine C. Toutefois, la cystatine C est augmentée en cas d'infection par le virus de l'immunodéficiência humaine alors que ces patients ont tous un débit de filtration glomérulaire normal.

1.1. L'arthrite rhumatoïde

L'arthrite rhumatoïde (RA) est une maladie inflammatoire chronique, d'étiologie indéterminée, détruisant le cartilage et l'os. Elle est caractérisée par trois phénomènes :

- une inflammation
- une réponse immune cellulaire et humorale anormale
- une hyperplasie de la membrane synoviale

Les cellules de la synovie contiennent des cellules géantes multinucléées prolifératives dans lesquelles la fibrine a précipité. Ces cellules géantes sont formées par la fusion de macrophages de type A, appelés synoviocytes, qui se différencient en ostéoclastes capables de détruire le cartilage et l'os. Ces destructions sont dues à une hyperproduction de cathepsine B, capable de détruire les composants du cartilage et de l'os : protéoglycanes, collagène, ostéocalcine et ostéonectine. D'après Gutemberg et al (29), la cathepsine B et la cystatine C sont très exprimées dans les cellules mononucléées de la membrane synoviale et des tissus fibroprolifératifs au niveau même des sites de destruction. En revanche, la cathepsine B est beaucoup moins synthétisée que la cystatine C dans les cellules géantes multinucléées, les ostéoclastes et les cellules adjacentes aux cellules fibroprolifératives, qui restent donc indemnes de toutes lésions.

L'arthrite rhumatoïde est aussi une maladie chronique qui peut requérir des thérapeutiques potentiellement néphrotoxiques (AINS, ciclosporine et AIS). Ces thérapeutiques utilisées à long terme sont la cause de la diminution du débit sanguin rénal et de la filtration glomérulaire, de la production de prostaglandines, de l'excrétion sodée et peuvent induire des néphrites interstitielles, c'est la néphropathie aux analgésiques. D'après Mangee et al (49), la cystatine C permettrait de mieux évaluer la diminution du DFG que la créatinine, cette dernière étant influencée par la masse musculaire, elle est fréquemment diminuée au cours de ces pathologies.

La cystatine C pourrait donc être utile dans les maladies inflammatoires chroniques pour suivre les doses de médicaments néphrotoxiques et pour aider au diagnostic de l'arthrite rhumatoïde.

1.2. L'asthme

D'après Cimerman et al (14), le déséquilibre entre l'expression de la cystatine C et des protéinases à cystéine est associé à l'inflammation pulmonaire. La cystatine C est fortement synthétisée par les macrophages alvéolaires au cours du processus inflammatoire. L'augmentation de sa concentration sérique est significative ($p < 0,0001$) chez les patients asthmatiques corticodépendants ou non. En revanche, chez les patients traités par ciclosporine A, sa concentration diminue significativement ($p < 0,04$) mais le mécanisme d'action de cette diminution reste totalement inconnu.

La cystatine C pourrait donc être utile non pas pour diagnostiquer l'asthme, car il existe actuellement des méthodes plus performantes, mais peut être pour évaluer son degré de sévérité ou la néphrotoxicité potentielle des thérapeutiques.

2. Cystatine C et phénomènes dégénératifs

En 1935, Arnason et al (63) ont découvert une pathologie génétique à transmission autosomale dominante chez des familles islandaises, ayant toutes pour point commun la présence dans les artères cérébrales de dépôts amyloïdes d'une cystatine mutée, le mécanisme physiopathologique de ces lésions ayant déjà été expliqué auparavant. Comme déjà indiqué précédemment, la cystatine C semble également impliquée dans le développement de l'angiopathie amyloïde cérébrale héréditaire (HCAA). Cette maladie héréditaire se caractérise comme la pathologie précédente et entraîne des décès prématurés par hémorragie cérébrale, principalement chez des personnes jeunes normotendues, mais aussi chez les personnes âgées. (39).

Les dépôts amyloïdes ou fibrillaires apparaissent dans le SNC comme des plaques séniles intra neuronales semblables à celles de la maladie d'Alzheimer ou du syndrome de Down.

La majorité des patients ont leur première attaque avant l'âge de 30 ans et décèdent avant 50 ans. Certains décèdent aux premiers symptômes graves, mais une grande majorité survivent avec des lésions plus ou moins importantes : paralysie, démence... La cystatine C pourrait ainsi être en cause dans les démences de type Alzheimer dans laquelle serait impliquée une autre protéine : la protéine β amyloïde. Pour Yamada et al, (84) il existerait deux types d'angiopathie amyloïde cérébrale, indiquées dans le tableau III:

Tableau III : Les deux types d'angiopathie amyloïde cérébrale (84)

	CAA de type islandais	CAA de type Alzheimer
Protéine β amyloïde	+	+
Cystatine C	+	-

+ : présence ; - : absence

La présence ou l'absence de cystatine C et de protéine β amyloïde (inhibiteur des protéases à sérine) au niveau des plaques permet de discriminer les deux types d'angiopathie amyloïde cérébrale.

L'autopsie des lésions du SNC de personnes atteintes d'HCAA précise que les lésions sont dues à des dépôts hyalins et à des rétrécissements entraînant l'obstruction des artères et

artéριοles cérébrales. En revanche, veines et capillaires restent indemnes (63). Les artères sont touchées en premier dans la média puis dans leur partie musculaire et les lésions concernent non seulement le SNC, mais aussi le tissu lymphatique, les ganglions, les glandes salivaires, les vésicules séminales, le cortex surrénalien, les poumons...

D'après Yoshinori et al (36), il faut bien différencier les hémorragies intracrâniennes dues à l'hypertension artérielle chez les personnes âgées, de l'angiopathie amyloïde cérébrale. Ces deux pathologies sont comparées dans le tableau IV.

Tableau IV : Comparaison des différentes formes d'hémorragies intracrâniennes.

	CAA	HTA
Présence d'hypertension	non	Oui
Localisation des lésions	Surface corticale Rupture sous arachnoïdienne constante (méninge et cortex)	Diffuse, multiples dépassant le système arachnoïdien
Survenue d'hémorragies	Nocturne	Diurne donc élévation de la pression artérielle
Coexistence avec une démence de type Alzheimer	63,6 %	0 %
Coexistence avec une athérosclérose	27,3 %	75 %

Les critères permettant de distinguer les deux pathologies sont la présence ou l'absence d'hypertension artérielle ou d'athérosclérose.

Pour mettre en évidence l'implication de la cystatine C et de la protéine β amyloïde dans cette pathologie, Yoshinori et al (36) ont utilisé des Ac anticystatine C et anti protéine β amyloïde. Ils en ont conclu que si la protéine β amyloïde était en effet bien en cause dans les dépôts fibrillaires responsables de la maladie, le rôle de la cystatine C, en revanche restait à prouver. Ceci est corroboré par Olafsson et Grubb (63) pour lesquels la cystatine C jouerait bien un rôle dans les dépôts, mais celui de la protéine β amyloïde serait prédominant.

On pourrait ainsi imaginer la cystatine C dans différentes thérapeutiques comme :

- **Empêcher la polymérisation de la cystatine C**
- **Apport de cystatine C fonctionnelle qui aurait un rôle d'inhibition des protéases responsables de l'inflammation**
- **Apport de protéines qui captureraient la cystatine mutée**

3. Cystatine C et maladies hypertensives

L'hypertension artérielle est à l'origine de pathologies rénales qui ont un retentissement sur le débit de filtration glomérulaire. Le système artériolaire rénal étant très fragile et complexe, toute augmentation de pression artérielle le met en péril, et c'est ainsi que des lésions irréversibles peuvent être constatées. La cystatine C, variant avec le débit de filtration glomérulaire, permettrait peut être de détecter plus précocement la pré-éclampsie, la néphropathie diabétique et la néphrotoxicité des anticancéreux.

3.1. Pré éclampsie (25)

La pré éclampsie est responsable de mortalité maternelle dans le monde entier, en particulier dans les cas de grossesse précoce ou au contraire tardive.

Cette pathologie est caractérisée par une hypertension associant une protéinurie, des œdèmes et éventuellement des troubles de la coagulation. La détection peut se faire par la mise en évidence précoce d'une diminution du débit de filtration glomérulaire. Généralement, le diagnostic se fait essentiellement, sur les urines par la mesure de la protéinurie totale, l'albuminurie, ou encore par la créatininémie. La cystatine C semblerait être un facteur de détection plus précoce pour cette pathologie.

En effet, Finney et al (25) ont mesuré chez 20 femmes enceintes souffrant de pré éclampsie, la cystatine C et la créatininémie. Ces résultats sont rapportés dans le tableau V.

Tableau V : Cystatine C sérique et créatininémie mesurées chez des femmes risquant une pré-éclampsie

	Valeurs de référence (femmes non enceintes)	Femmes enceintes à risque	Pourcentage de variation
Cystatine C mg/l	0,76 +/- 0,17 (N = 309)	1,31 +/- 0,36 (N = 20)	+ 72,4 %
Créatininémie μmoles/l	66,3 +/- 8,4 (N = 155)	85,3 +/- 16,8 (N = 20)	+ 28.6 %

La cystatine augmente d'un pourcentage beaucoup plus significatif que la créatininémie par rapport aux valeurs de référence.

La cystatine C permettrait donc de diagnostiquer les femmes à risque plus précocement que la créatininémie, car elle reflète mieux la diminution de la fonction rénale.

3.2. Diabétologie

La mesure de la cystatine C sérique pourrait être un marqueur très important chez le diabétique. En effet, cette pathologie entraîne souvent de nombreuses complications parmi lesquelles on peut noter la néphropathie diabétique, détectable par la micro albuminurie (ou pauci-albuminurie).

D'après Van Campenout et al (9), la cystatine C est un marqueur facile à mesurer et bien corrélé au débit de filtration glomérulaire dans cette population. En effet, chez 46 adultes diabétiques âgés de 18 à 82 ans, la corrélation entre la cystatine C et la créatininémie ($r = 0,657$; $p = 0,0001$) est beaucoup plus significative qu'entre la cystatine C et la clairance de la créatinine ($r = 0,420$; $p = 0,006$) ou la cystatine C et la microalbuminurie ($r = 0,345$; $p = 0,021$). En revanche, chez 21 enfants âgés de 4 à 16 ans, la corrélation n'est pas significative entre tous les paramètres précédents y compris entre cystatine C et clairance à l'inuline (méthode de référence).

3.3. Cancérologie

Au cours des traitements chimiothérapeutiques par cisplatine, par exemple, les oncologues sont amenés à mesurer la fonction rénale afin d'adapter au mieux les concentrations des agents cytostatiques et de leurs métabolites qui peuvent s'avérer très néphrotoxiques (77). Le cis-diamino-dioxalo platine, en particulier, est un agent très toxique pour les cellules distales et tubulaires rénales. Cette néphrotoxicité, dose-dépendante, est d'autant plus importante si le malade présente déjà au préalable une altération rénale avant le début du traitement anticancéreux. La mesure de la créatininémie, fréquemment utilisée, n'est pas un marqueur fiable car elle surestime le débit de filtration glomérulaire.

Stabuc et al (77) ont ainsi démontré, chez 144 personnes cancéreuses, que la corrélation entre la clairance de la créatinine et la cystatine C est meilleure que la corrélation entre la créatininémie et la cystatine C ($r = 0,84$ contre $0,74$; $p < 0,001$).

A l'avenir, on pourrait envisager d'utiliser la cystatine C dans le suivi de traitements chimiothérapeutiques et de leur néphrotoxicité (sels de platine en particulier).

3.4. Rôle dans l'athérosclérose.

L'athérosclérose et l'anévrisme aortique abdominal sont des pathologies se traduisant toutes deux par une rupture de la paroi vasculaire (75). Ces maladies sont dues à une prolifération excessive de la paroi vasculaire, associée à une hypertension artérielle qui provoque sa rupture.

On peut résumer les variations pathologiques dans le tableau VI, afin de dégager la significativité de celles –ci.

Tableau VI : Principales variations pathologiques de la cystatine C

Arthrite rhumatoïde	↑↑
Asthme corticodépendant ou non	↑ **
Asthme traité par la ciclosporine A	↓↓ *
HCAA	↑↑
Pré-éclampsie	↑↑
Diabétologie	↑↑
Cancérologie	↑↑

↑↑ : augmentation ; ↓↓ : diminution ; * : $p < 0,04$; ** : $p < 0,0001$

La cystatine C ne varie donc que dans des situations pathologiques particulières et restreintes, ce qui en fait le principal intérêt de son dosage. En effet, si elle variait avec une simple rhinite, bronchite..., cela en ferait un très mauvais marqueur car trop sensible à des maladies bénignes.

Deuxième partie :

VALEURS DE REFERENCE

VARIATIONS BIOLOGIQUES

Le concept de valeurs de référence se proposait de définir, à l'origine, l'état de santé d'une population saine, puis il s'est élargi à d'autres individus (par exemple, des valeurs de référence ont été établies pour les femmes prenant ou non des contraceptifs oraux, pour les personnes consommant de l'alcool...). Les groupes doivent être homogènes et constitués à partir d'individus aussi semblables que possible. On étudie tout d'abord les facteurs de variations biologiques afin d'éliminer et de classer les sujets (exemple : indice de masse corporelle, âge, sexe, tabac). Puis on établit les valeurs de référence de cette population.

Pour chacun de ces états, deux types de limites peuvent être définis :

- * des limites de référence, qui englobent des intervalles de référence comprenant habituellement 95 % des sujets sains. Elles ne servent qu'à décrire des populations.
- * des limites de décision, qui varient selon les connaissances scientifiques et médicales du moment, selon la prévalence des maladies et les conditions économiques. Elles serviront au diagnostic des maladies et à la thérapeutique à envisager.

Avant de décrire la technique permettant d'établir des valeurs de référence, il faut définir quelques termes. On appelle individu de référence, un individu sélectionné à l'aide de critères bien définis, c'est à dire se trouvant dans un état de santé clair et précis et on nomme population de référence l'ensemble des individus de référence. La valeur de référence est la valeur obtenue par la mesure sur un individu de référence.

Stratégie pour l'établissement des valeurs de référence

Le recueil de valeurs de référence dans une population doit suivre une démarche précise et nécessite la collaboration de techniciens, de biologistes, de statisticiens et d'épidémiologistes. Afin de produire des valeurs de référence, le protocole ci-dessous doit être suivi :

- Etablir, d'après la littérature, la liste des variations biologiques.
- Choisir les critères d'inclusion et d'exclusion pour les échantillons.
- Choisir les critères de partition des échantillons qui réduiront l'hétérogénéité de la population.
- Préparer les sujets pour la prise de sang.
- Disposer d'une méthode de dosage d'excellente qualité.
- Traiter les spécimens biologiques.
- Analyser les résultats dans des conditions bien définies.

Sources de variations des résultats des examens de laboratoire

La variabilité des résultats des examens de laboratoire est un phénomène bien connu des biologistes. Les sources de ces variations sont nombreuses et peuvent se classer en deux types comme le présente la figure 5.

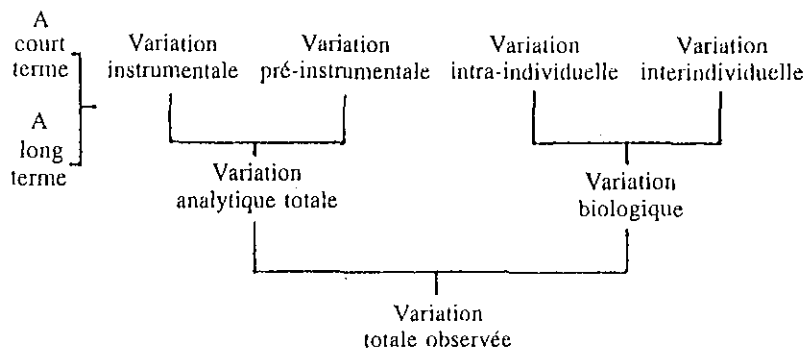


Figure 5 : Décomposition des facteurs de variation (76)

Ce diagramme conçoit la variation totale observée comme la somme de deux composantes : les variations biologiques, liées à la personne et les variations analytiques, liées à la méthode de mesure.

- **La variation analytique totale** est constituée par :

- La variation pré-instrumentale qui est la somme de toutes les sources de variation allant du prélèvement sanguin (incluant l'effet de la posture et du garrot) jusqu'à l'entrée de l'échantillon dans le système analytique (avec le transport).

- La variation instrumentale due à toutes les conditions entourant la méthode de mesure.

Cette variation analytique est donc due à la technique elle-même, et à toutes les étapes qui la précèdent depuis le prélèvement, jusqu'au transport dans le laboratoire où sera effectué le dosage.

- **La variation biologique**

Les sources de variations biologiques peuvent provenir du sujet lui-même (variabilité intra-individuelle) ou de la variation entre les sujets (variabilité inter-individuelle).

- La variabilité intra individuelle est celle due à l'individu lui-même au cours du temps ; elle inclut tous les systèmes de régulation : rythmes circadiens, vieillissement, statut nutritionnel et hormonal. Elle est évaluée par la mesure d'un même paramètre chez le même individu au cours du temps. Mais elle reste difficile à évaluer car elle nécessite des prises de sang répétées chez le même individu.

- La variabilité interindividuelle, dont quelques exemples sont présentés au tableau VII, est la plus communément rencontrée lorsque l'on étudie des groupes de population.

Tableau VII : Exemples de facteurs de variations inter-individuelles (76).

- | | |
|--------------------------------------|--------------------------|
| - Âge | - Jeun (état à jeun) |
| - Agression | - Jeûne |
| - Aliments | - Lactation |
| - Altitude | - Médicaments |
| - Apesanteur | - Ménopause |
| - Bruit | - Menstruation |
| - Café et caféine | - Nicotine |
| - Cécité | - Obésité |
| - Chaleur | - Poids |
| - Déficit en vitamine B ₆ | - Position debout |
| - Entraînement | - Pression sanguine |
| - Environnement | - Race |
| - Exercice musculaire | - Repas (prise de repas) |
| - Exposition à la lumière | - Rythmes biologiques |
| - Fièvre | - Rythmes circadiens |
| - Froid | - Rythmes hebdomadaires |
| - Grossesse | - Rythmes saisonniers |
| - Grossesse gémellaire | - Sexe |
| - Groupe sanguin | - Tabac |
| - Hypoxie | - Taille |
| - Immobilisation couchée | |

Ne pouvant tenir compte de l'ensemble de ces facteurs, nous étudions ceux connus pour donner le plus de variations (âge, sexe, indice de masse corporelle, tabac, médicaments, grossesse).

Pour réduire l'hétérogénéité d'une population, source de la variabilité inter-individuelle, on la subdivise. Cependant, l'existence d'une variabilité analytique est une limite à cette réduction, il est donc inutile de diminuer la variabilité inter-individuelle au delà de la précision de la méthode utilisée.

Au cours de notre travail, nous avons effectué un premier tri à priori : nous avons congelé certains échantillons, puis un deuxième tri à posteriori (après congélation) pour répondre aux critères définis préalablement.

Critères de qualité d'une méthode

Pour définir la qualité d'une méthode, il existe de nombreux paramètres, mais en pratique, nous nous contenterons d'évaluer : **la répétabilité, la reproductibilité** (constituant ensemble la précision analytique), **l'exactitude et la limite de détection.**

- *Répétabilité*

On l'appelle aussi variation analytique à court terme. On l'évalue en mesurant 15 fois un même échantillon, en une seule série, le même jour, avec la même machine (BNII), par le même technicien et les mêmes réactifs.

- *Reproductibilité*

On l'appelle aussi variation analytique à long terme. Elle s'évalue par 15 mesures effectuées sur 15 jours de travail (une mesure par jour) sur la même machine mais avec des techniciens et surtout des réactifs différents. Ici, l'échantillon sera un pool de sérums aliquoté, congelé à -20°C et dont une aliquote sera décongelée chaque jour et homogénéisée.

Dans les deux cas (répétabilité et reproductibilité), on calculera les moyennes (m), les écarts-type (σ) et les coefficients de variation ($\text{CV} = 100 \times \sigma / m$).

- *Exactitude*

C'est le biais par rapport à la valeur vraie, c'est à dire la valeur obtenue en utilisant une méthode définitive, sans interférence connue. Mais ces techniques sont lourdes et impossibles à pratiquer dans les structures traditionnelles. Pour l'évaluer dans un laboratoire, on utilise des contrôles de qualité inter-laboratoire, qui, lorsque les laboratoires sont suffisamment nombreux, permettent de définir une valeur cible, considérée comme la valeur vraie. Dans notre cas, aucun contrôle de qualité n'a la cystatine C à son catalogue, il nous a donc été impossible de déterminer l'exactitude de la méthode.

- *Limite de détection*

Elle représente la concentration la plus faible détectable par la technique. Elle n'a pas été évaluée lors des dosages, mais d'après la bibliographie.

Utilisation des valeurs de référence

Le clinicien devrait avoir à sa disposition toute une série de limites de référence et de décision avant d'établir un diagnostic, de débiter ou d'adapter un éventuel traitement à chaque cas particulier, de pratiquer des examens. Les valeurs de référence sont également utiles dans les études épidémiologiques pour comparer l'état de santé des populations. A l'avenir, elles devraient évoluer vers une utilisation adaptée à chaque individu car elles supprimeraient les problèmes de variations inter-individuelles : il ne subsisterait que les variations analytiques et intra-individuelles.

I. Matériel et méthodes

1. Description de la population

Les 1223 échantillons (530 hommes et 693 femmes) recueillis ont été sélectionnés parmi les familles convoquées gratuitement au Centre de Médecine Préventive de Vandoeuvre entre février et octobre 2000. Ces assurés sociaux, venant de la région grand Est (Vosges et Meurthe et Moselle), participent à un examen de santé complet avec prise de sang le matin à jeun. Le bilan comprend également un questionnaire sur leur état de santé : consommation de tabac, alcool, médicaments, suivi gynécologique. Un examen clinique permet d'obtenir la tension artérielle et un recueil des urines, de mesurer la protéinurie, l'hématurie et le culot urinaire. La prise de sang donne la créatininémie, la glycémie, la cholestérolémie, la triglycémie, l'apolipoprotéinémie, le taux des enzymes hépatiques (phosphatases alcalines, transaminases, gamma-glutamyltransférase), la vitesse de sédimentation, la numération de formule, les plaquettes et le taux d'hémoglobine.

Les critères d'exclusion communs aux adultes et aux enfants sont les suivants :

- **consommation de médicaments susceptibles de modifier la fonction rénale** ou la concentration en cystatine C comme les antihypertenseurs, hypoglycémiant, diurétiques, antibiotiques, antiinflammatoires, anticancéreux, antiviraux, immunostimulants, anticonvulsivants.

- **glycémie** : supérieure ou égale à 7 mmol/l

- **hypertension artérielle** : toute personne ayant une tension artérielle diastolique (TAD) supérieure ou égale 85 mmHg et/ou tension artérielle systolique (TAS) supérieure ou égale à 145 mmHg sera exclue car considérée comme hypertendue selon les nouvelles normes données par l'OMS.

- **obésité** : déterminée par le calcul de l'indice de Quetelet (70)

$$\text{BMI} = \text{poids}_{(kg)} / (\text{taille})^2_{(m)}$$

BMI : indice de masse corporelle

La détermination de l'existence ou non d'une surcharge pondérale varie en fonction de l'âge

- **alcool** : les hommes et les femmes consommant respectivement moins de 30g et 20g d'alcool pur par jour ne font pas partie de l'étude.

- **tabac** : les ex-fumeurs et les personnes fumant entre 1 et 19 cigarettes par jour sont exclus.

Pour les enfants et adolescents, 3 groupes d'environ 30 filles et 30 garçons sont constitués, âgés de 4 à 10 ans, 11 à 15 ans, 16 à 19 ans. Ces enfants ne prennent aucun médicament, et

ne consomment ni alcool, ni tabac pour les plus âgés d'entre eux. Sont exclus de notre étude les enfants considérés comme obèses selon les tables de Rolland et Cachera. Ainsi, les enfants âgés de 4-10 ans de BMI ≥ 20 , de 11 à 14 ans de BMI ≥ 23 , de 14 à 16 ans de BMI ≥ 26 et de 17 à 18 ans de BMI ≥ 29 sont retirés. De même, si la clairance de la créatinine calculée par la formule de Schwartz (74) à partir de la créatininémie sort des tables de référence données par Elseviers et al (tableau VIII), on ne conserve pas l'échantillon.

Tableau VIII: Valeurs de référence de la clairance de la créatinine (calculée par la formule de Schwartz) utilisées comme critère d'exclusion chez les enfants.

Sexe	Age (années)	Clairance de la créatinine (ml/min/1,73m ²)
Garçons et filles	2 - 12	106 - 160
Garçons	13 - 21	110 - 170
Filles	13 - 21	104 - 148

Ces valeurs tiennent compte du sexe des enfants de leur âge et ne s'appliquent qu'entre 2 et 21 ans.

Afin d'étudier l'importance du statut hormonal sur la concentration en cystatine C, un groupe supplémentaire de filles âgées de 11 à 15 ans permet de distinguer les filles pubères et impubères.

Quant aux adultes, ils sont âgés de 20 à 60 ans, 4 groupes par tranche de 10 ans ont été formés pour chaque sexe, chacun comprenant 50 personnes. Les sujets ayant un BMI supérieur ou égal à 30 sont exclus. Comme pour les enfants, les personnes dont la clairance de la créatinine calculée par la formule de Cockcroft et Gault (17) est supérieure aux limites données par Elseviers et al (présentées au tableau IX) ne font pas partie de notre étude.

Tableau IX: Valeurs de référence de la clairance de la créatinine calculée par la formule de Cockcroft (Elseviers et al. 1987) utilisées comme critère d'exclusion chez les adultes.

Age (années)	20-29	30-39	40-49	50-59	≥ 60
Hommes (ml/min)	85-134	78-123	67-110	56-95	45-77
Femmes (ml/min)	67-117	63-110	58-103	50-90	40-70

Ces valeurs de référence varient également en fonction du sexe et de l'âge, contrairement aux enfants, la clairance n'est pas ramenée à la surface corporelle (1,73 m²).

Comme chez les filles, afin d'étudier l'importance du statut hormonal sur la cystatine C, sont constitués :

- deux groupes de femmes ménopausées (âgées de 50 à 59 ans) prenant ou non un traitement hormonal substitutif (THS).

- un groupe de femmes sous contraception oestroprogestative (CO), ne fumant pas et ne buvant pas d'alcool.

Pour évaluer, l'influence de la consommation de tabac ou d'alcool, sont formés :

- un groupe d'hommes buvant plus de 30 grammes d'alcool et un de femmes consommant plus de 20 grammes d'alcool par jour.

- un groupe d'hommes et un de femmes fumant plus de 20 cigarettes par jour.

- un groupe d'hommes et un de femmes cumulant les deux paramètres précédents.

2. Echantillons sanguins

La prise de sang s'effectue à jeun, au niveau de la veine cubitale. Le sang est collecté dans un tube Vacutainer contenant un gel accélérateur de la coagulation (Becton Dickinson, Le Pont de Claix, France) et est immédiatement centrifugé à 1000g pendant 10 minutes à température ambiante et les échantillons congelés à -20°C jusqu'à leur dosage.

3. Méthodes analytiques

➤ La cystatine C

Elle peut être mesurée par différents techniques:

- Par immunoenzymologie : méthode ELISA ou "Enzyme Liked Immuno Sorbent Assay".

C'est une méthode de dosage indirect par compétition, utilisable pour les petites molécules de poids moléculaire inférieur à 500d. Le principe est très simple (figure 6) : l'Ac, fixé sur une surface solide, est en contact avec le liquide dans lequel se trouve la molécule à doser. On ajoute l'analyte marqué : il y a alors compétition entre les deux types d'antigène, et après lavage, l'activité radioactive sur la phase solide est déterminée. On obtient alors la concentration du liquide à doser. Mais cette technique est longue.

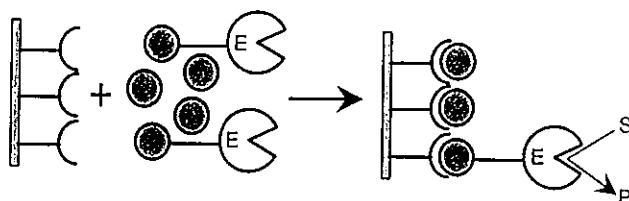


Figure 6: Méthode de dosage de type ELISA (50)

- Par immunoturbidimétrie (PETIA)

La turbidimétrie utilisée par Kyhse-Anderson et al (42) et Newman et al (60) permet de mesurer le trouble produit par la précipitation du complexe Ag-Ac qui diminue l'intensité du faisceau émergent par rapport au faisceau incident. On mesure l'absorption de la lumière UV (ou plus exactement non transmise) due au trouble formé par le précipité. L'absorption de la lumière par des particules sera d'autant meilleure que la longueur d'onde utilisée est inférieure au diamètre de ces particules : le dosage est plus sensible à faible longueur d'onde (UV 340 nm) car les petits complexes sont détectés (50).

- Par immunonéphélométrie (PENIA)

Cette technique, mise en œuvre par Finney et al (24) permet de mesurer la diffraction du faisceau incident, à angle fixe produite par la précipitation du complexe [Ag-Ac] (67). La source produit une radiation lumineuse d'une longueur d'onde de 840 nm, et le complexe [Ag-Ac] formé est de petit diamètre.

Ces deux dernières méthodes possèdent l'avantage d'être rapides (la mesure s'effectue en 15 minutes) et donnent des résultats homogènes. Contrairement à la turbidimétrie, la lumière diffractée, n'est, en néphélométrie, pas perturbée par le faisceau incident. En revanche, bien que plus sensible, la néphélométrie nécessite plus de contraintes sur la qualité des étalons, des contrôles, des solutions d'anticorps et des échantillons. On utilise par conséquent des lyophilisats qui permettent de travailler dans une limpidité parfaite (50).

Toutes nos mesures sont effectuées par une méthode immunonéphélométrique avec le même appareil : le BN II (Behring Nephelometer II). Celui-ci, présenté à la figure 7 analyse la concentration de différentes protéines dans les liquides biologiques tels que le sérum, l'urine. L'analyse par immunonéphélométrie est une méthode quantitative et automatique.

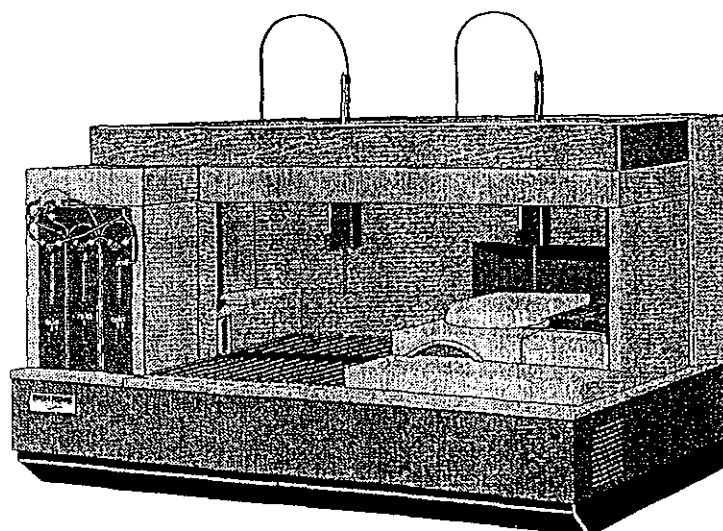


Figure 7 : Néphélomètre BN II (Behring)

Le système est composé d'un analyseur, qui effectue le prélèvement des sérums, les dilutions et les mesures, et d'un micro-ordinateur.

Les courbes de calibration de tous les paramètres dosables sur le BN II sont données sous forme log/log :

$$\log(\text{unité d'absorbance en bits}) = f(\log \text{ de la concentration})$$

Elles sont réalisées à partir d'un standard titré en protéine à doser.

Le principe de dosage est identique quelque soit la molécule dosée : des particules de latex recouvertes d'anticorps anti-protéine précipitent avec l'antigène (protéine à doser) donnant un trouble, on mesure le rayon diffracté de la source. L'intensité de la lumière mesurée est proportionnelle à la concentration de ce complexe dans l'échantillon. La réaction se déroule en trois étapes : dans un premier temps, l'antigène et l'anticorps sont mélangés, le BNII mesure ensuite la première valeur de l'intensité lumineuse (valeur de départ de l'absorbance). Puis le complexe [Ag-Ac] se forme durant la période d'incubation : le BNII effectue alors une deuxième mesure de l'intensité lumineuse (valeur finale de l'absorbance). Le signal mesuré est donc une différence de valeur permettant d'éliminer l'influence d'éventuels complexes [Ag-Ac] parasites.

Technique de dosage de la cystatine C : l'immunonéphélométrie.

Les anticorps utilisés pour le dosage de la cystatine C proviennent de lapin. La valeur de départ de l'absorbance se lit en sept secondes et demi et la réaction dure au total six minutes.

La courbe de calibration est présentée à la figure 8.

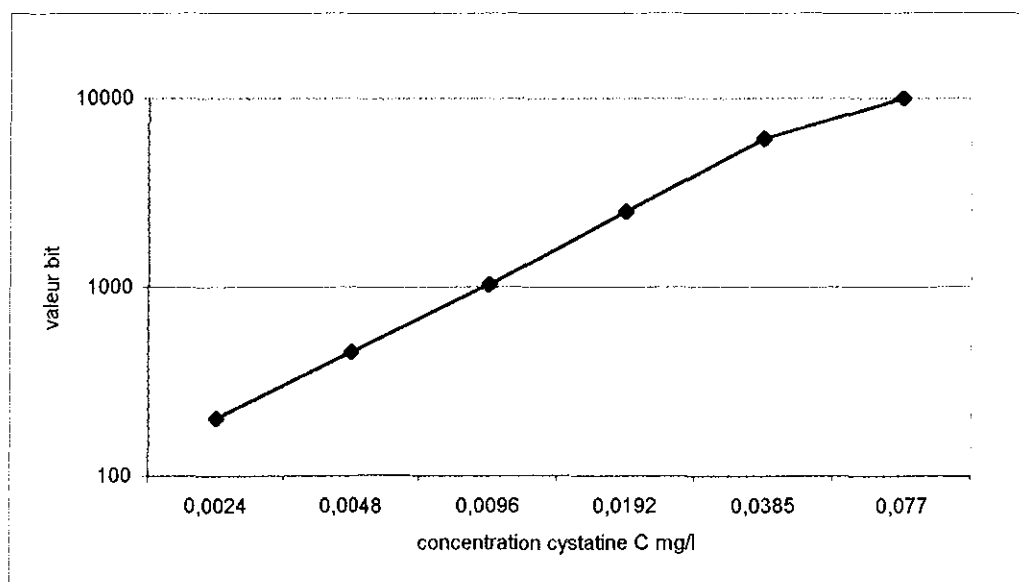


Figure 8 : Courbe de calibration moyenne (N = 8)

Elle est établie grâce à un standard constitué par un lyophilisat de cystatine C urinaire d'origine humaine titré à 1,54 mg/l (fourni par Dade Behring). Elle se construit sur 6 points avec des dilutions du standard au 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320, 1/640. Nous avons tracé une courbe de calibration moyenne à partir des 8 courbes réalisées au cours de nos dosages. Une courbe de calibration est valable deux semaines. Si un point a un écart trop important par rapport à la valeur théorique à obtenir ($\pm 5\%$), la courbe n'est pas valable. Pour plus de rigueur encore, nous n'avons toléré qu'un écart de $\pm 3,25\%$. Les écarts types sur chaque point sont très faibles, ce qui permet d'affirmer que le dosage de la cystatine C est de qualité convenable au cours du temps.

Un contrôle, titré à 1,45 mg/l en cystatine C, est fourni par Dade Behring. Afin d'éviter toute dérive au cours des mesures journalières, celui-ci est mesuré en position n° 1, 26 et 52 dans la série, la valeur tolérée étant de 1,45 mg/l $\pm 5\%$.

Le BNII est paramétré pour la cystatine C de telle sorte que les échantillons soient dilués systématiquement au 1/100 sinon, si leur concentration est inférieure à 0,24mg/l, l'appareil recommence la réaction en ne diluant cette fois qu'au 1/20.

Organisation du travail

Après la constitution des groupes, les sérums collectés ont été répartis dans 22 séries de 50 échantillons chacune, au hasard, afin d'éliminer toute interférence due à une possible dérive de l'appareil de mesure. Avant de débiter le dosage des séries, quatre jours d'essais préliminaires ont été nécessaires afin d'adapter la technique au laboratoire. Comme nous venons de le voir, chaque jour de dosage, nous avons effectué non seulement des mesures sur les échantillons, mais aussi sur le pool de sérums et le contrôle.

➤ Autres paramètres biochimiques

Ils sont mesurés par un automat (Olympus, Paris, France) sur sérum frais.

4. Méthodes statistiques

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées sur les logiciels EXCELL 2000 et BMDP (Cork, Islande). Comme la distribution des valeurs de la cystatine C est gaussienne, moyenne et écart type sont calculés. Le degré de significativité des différents facteurs biologiques ou physiologiques est analysé par régression multiple.

Dans la bibliographie, à ce jour, aucune donnée sur l'effet du jeûne, du garrot, de la posture, de l'heure de prélèvement, du délai avant dosage et de la centrifugation, n'a été établie. Selon Pergande et al (66), ni la chaleur ni le pH ne joueraient un rôle sur la concentration en cystatine C.

➤ Différence entre le sérum et le plasma

En ce qui concerne l'effet des anticoagulants présents dans l'échantillon, d'après Finney et al (24), aucune différence significative n'a été observée entre du plasma collecté sur EDTA et sur lithium hépariné. En revanche, la différence entre sérum et plasma est controversée : certains auteurs trouvent une différence significative entre sérum et plasma prélevé sur EDTA (42, 58) ou entre sérum et plasma / citrate de sodium (24). D'autres auteurs constatent une concentration en cystatine C inférieure de 3 % dans du sérum par rapport à du plasma hépariné ou EDTA (24, 60).

➤ Conservation

Aucune différence significative n'a été observée entre un échantillon frais, conservé 2 jours à température ambiante, 2 semaines à 4°C, une semaine à - 20°C, 2 mois à - 20°C ou à - 80°C pendant 6 mois : la concentration diminuant néanmoins de 8 % par rapport à un échantillon frais (24, 42, 58, 68). Selon Finney et al (24) et Kyhse-andersen et al (42), les échantillons peuvent subir 3 à 10 cycles de congélation/décongélation sur 57 jours sans donner de différence de concentration significative. Au contraire, lorsque nous avons décongelé notre pool deux fois, les résultats de la mesure de la concentration en cystatine C ont été très décevants : suite à la deuxième décongélation, la valeur obtenue était de 0,87 mg/l alors que la moyenne était de 0,81 mg/l (augmentation de 7,5 %).

2. Variations analytiques

➤ Répétabilité

Elle est évaluée comme expliqué précédemment, les résultats sont présentés au tableau X.

Tableau X : Répétabilité de la cystatine C (nombre de mesures = 15)

	Pool (mg/l)
Moyenne (m)	0,81
Ecart type (σ)	0,018
CV	2,17 %

La répétabilité, mesurée sur le pool est excellente, le coefficient de variation est de 2,17 % : le dosage de la cystatine C par immunonéphélométrie est donc répétable.

➤ Reproductibilité

La **reproductibilité**, présentée au tableau XI, indique les variations de jour à jour des mesures effectuées sur le premier pool et sur l'échantillon contrôle (soit quinze mesures).

Tableau XI : Reproductibilité de la cystatine C

	Pool (mg/l)	Contrôle (mg/l)
Moyenne	0,77	1,42
Ecart type	0,08	0,03
CV (%)	10,4	2,11

Nous avons donc trouvé une reproductibilité excellente sur le contrôle cystatine C : inférieure à 2,5 %. En revanche, sur le pool, elle est plus décevante : le coefficient de variation est très augmenté du fait d'une concentration moyenne faible et d'un écart type relativement élevé. On pourrait également évoquer une altération du pool au fil du temps, alors que le contrôle se conserverait au contraire très bien. Cette hypothèse confirmerait, dans ce cas, les résultats médiocres obtenus après un cycle de congélation / décongélation du pool.

Au tableau XII, nous avons présenté nos résultats de l'évaluation de la précision analytique, avec ceux recensés dans la littérature en ne tenant compte que des méthodes immunonéphélométriques et immunoturbidimétriques. Ces deux techniques sont les plus souvent utilisées actuellement, car d'après Price et al (67) et Finney et al (24), la précision serait meilleure pour une concentration en cystatine C inférieure à 2 mg/l et mesurée par une méthode néphélométrique.

Tableau XII: Reproductibilité et répétabilité de la cystatine C

Méthode	Cystatine C (mg/l)	CV (%)		Référence
		Répétabilité	Reproductibilité	
PENIA	0,77 0,81 1,42	2,17	10,4 2,11	*
PETIA	0,84 4,24		1,7 0,4	
PETIA	1,34 2,85 8,13	2,56 2,2 0,9	3,5 3,8 4,3	60
PENIA	0,99 2,52 6,36	2,9 2,5 2	3,6 4,2 4,4	24
PETIA	1,36 5,65	4,6 1,5	8,1 3,4	19
PETIA	1,28	3,2 (totale)		82
PENIA	1,05	1,71	6,3	58
PETIA	1,38 6,12	5,78 (totale) 6,12 (totale)		47
PENIA	1,52 4,2	2,2 (totale) 0,80 (totale)		81

totale : variation analytique totale ; * : notre étude

Au cours de notre étude, répétabilité et reproductibilité observées sont similaires à celles de la bibliographie : la répétabilité est proche de celle observée dans la littérature. La reproductibilité pour le contrôle cystatine C est supérieure à celle des autres auteurs, mais pour le pool, elle est très médiocre, peut être pour les raisons évoquées précédemment.

➤ Limite de détection

La technique de mesure a été largement décrite par Mussap et al (58). Comme indiqué par le fabricant, les concentrations en cystatine C s'étendent de 0,23 à 8 mg/l et la limite de détection est de 0,23 mg/l pour un échantillon dilué au 1/100. Le tableau XIII présente les limites de détection obtenues par différentes études.

Tableau XIII : Limites de détection recensées dans la littérature.

Méthode	Limite de détection (mg/l)	Référence
PETIA	0,15	42
PENIA	0,17	24
PETIA	0,42	19
PENIA	0,17	58
PETIA	0,19	47

Comme nous l'avons déjà précisé, au cours de notre étude, la limite de détection n'a pas été évaluée, mais globalement, les résultats trouvés dans la littérature sont en accord avec les valeurs données par le laboratoire (domaine de mesure de 0,23 à 8 mg/l).

➤ Interférences

Les interférences avec des substances présentes dans l'échantillon sont la source de variations analytiques. Le tableau XIV présente les molécules les plus fréquemment en cause dans cette variation et évaluées dans la littérature.

Tableau XIV : Principales interférences analytiques de la cystatine C

Agent interférent	Concentration	Variation	Référence
Facteur rhumatoïde (addition in vitro)	2000 kU/l	0	24 ; 47
Para protéine	41g/l	0	24 ; 47
Hémoglobémie	≤ 2,5 g/l	0	24 ; 47 ; 58
Hypertriglycéridémie	ND	0	24 ; 47 ; 58
	> 10 mmoles/l	↓	60
Bilirubinémie	< 420 moles/l	0	19 ; 24 ; 42
	>150 moles/l	↓	47 ; 58

0 : pas de variation ; ↓ : diminution de concentration ; N.D. : non déterminé

Peu de substances interfèrent avec le dosage de la cystatine C, cependant, en ce qui concerne les variations dues aux triglycérides et à la bilirubine, les résultats sont contradictoires selon les auteurs. Il faudrait, pour interpréter cette différence, disposer de plus de renseignements sur les conditions exactes dans lesquelles se sont effectués les dosages, mais avec nos connaissances actuelles, ceci n'est pas possible. Les interférences analytiques avec la cystatine C restent donc à évaluer.

3. Contrôle de qualité

Une **moyenne journalière** des valeurs de concentrations en cystatine C est réalisée pour chaque série afin de détecter une éventuelle dérive de l'appareil. Nous avons reporté sur le graphique ci-dessous (figure 9) les courbes correspondant aux variations des concentrations du pool, du contrôle cystatine C et de la moyenne journalière.

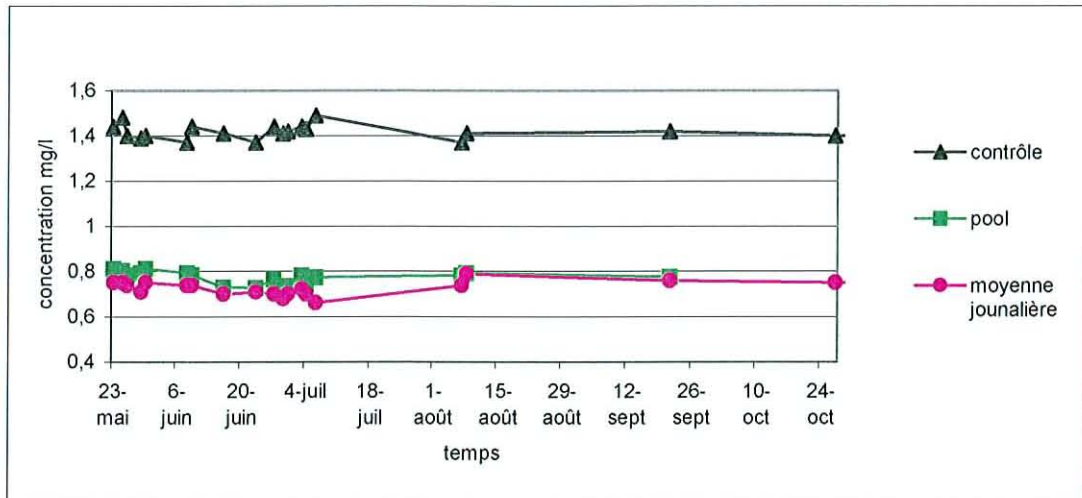


Figure 9 : Contrôle de qualité de la cystatine C

L'allure générale des 3 courbes est similaire : la concentration en cystatine C varie peu au cours du temps, pour le pool, le contrôle ou la moyenne journalière. **La méthode de dosage est donc reproductible, répétable et de bonne qualité.**

4. Variations biologiques ou physiologiques

4.1. Valeurs biologiques de différents paramètres

Les caractéristiques biologiques et physiologiques des différents groupes sont présentées au tableau XV.

Tableau XV : Valeurs de différents paramètres biologiques et physiologiques chez les hommes, femmes, enfants et adultes [moyenne (déviation standard)].

	HOMMES		FEMMES	
	ENFANTS	ADULTES	ENFANTS	ADULTES
n	107	423	142	551
Poids (kg)	48,5 (17,96)	74,4 (9,88)	43,8 (14,89)	62,0 (8,64)
BMI (kg/m ²)	18,5 (2,79)	24,7 (3,00)	18,6 (3,10)	23,7 (3,28)
TAD (mmHg)	61,3 (9,47)	74,0 (8,56)	62,2 (8,98)	70,4 (8,74)
TAS (mmHg)	113,1 (13,22)	125,3 (11,01)	110,6 (10,93)	118,9 (11,70)
Glucose (mmol/l)	4,98 (0,42)	5,29 (0,51)	4,98 (0,37)	5,01 (0,45)
Créatinine (µmol/l)	67,7 (12,98)	89,4 (9,33)	64,5 (10,04)	73,8 (7,52)
Clairance de la créatinine (µmol/min)	114,3 (11,38) *	99,6 (18,66)**	113,4 (15,10) *	87,6 (18,07)**
Cholestérol total (mmol/l)	4,47 (0,79)	5,62 (1,13)	4,64 (0,71)	5,53 (1,01)
Triglycérides (mmol/l)	0,85 (0,41)	1,28 (0,68)	0,4 (0,33)	1,08 (0,55)
ASAT (U/l)	27,9 (9,92)	25,7 (13,74)	24,1(6,56)	20,5 (7,61)
ALAT (U/l)	20,7 (10,73)	29,6 (17,84)	17,0 (5,36)	20,1 (9,80)
GGT (U/l)	ND	34,3 (58,09)	ND	20,2 (24,83)
Leucocytes (10 ⁹ /l)	6,6 (1,74)	6,5 (1,86)	6,7 (1,60)	6,6 (1,84)
Erythrocytes (10 ¹² /l)	4,89 (0,44)	4,94 (0,38)	4,62 (0,33)	4,49 (0,31)
Hémoglobine (g/l)	140,8 (15,46)	152,2 (9,70)	134,1 (8,74)	135,8 (9,91)
Thrombocytes (10 ⁹ /l)	280,1 (64,28)	231,4 (51,4)	281,6 (56,41)	259,0 (56,53)

ASAT : aspartate aminotransférase ; ALAT : alanine aminotransférase

GGT : γ -glutamyltransférase ; TAS : tension artérielle systolique

TAD : tension artérielle diastolique ; ND : non déterminé

* calculé selon Schwartz et al (73), exprimé en $\mu\text{mol}/\text{min}/1,73\text{m}^2$

** calculé selon Cockcroft et Gault (17), exprimé en $\mu\text{mol}/\text{min}$

Les paramètres biologiques sont tous compris dans les valeurs de référence des personnes en bonne santé. Aucun sujet ne souffre d'hyperglycémie : nous nous étions fixés une limite à 7 mmoles/l, mais la moyenne est en fait très inférieure. La moyenne des pressions artérielles systoliques et diastoliques est conforme à celle donnés par l'OMS. Triglycéridémie et cholestérolémie sont également conformes aux valeurs souhaitées, de même pour la

créatininémie et la clairance de la créatinine. Nous avons donc une population, saine, soigneusement triée pouvant être considérée comme une population de référence.

4.2. Distribution de la cystatine C

La distribution ou histogramme de fréquence de la cystatine C dans l'ensemble de la population est présentée sur la figure 10.

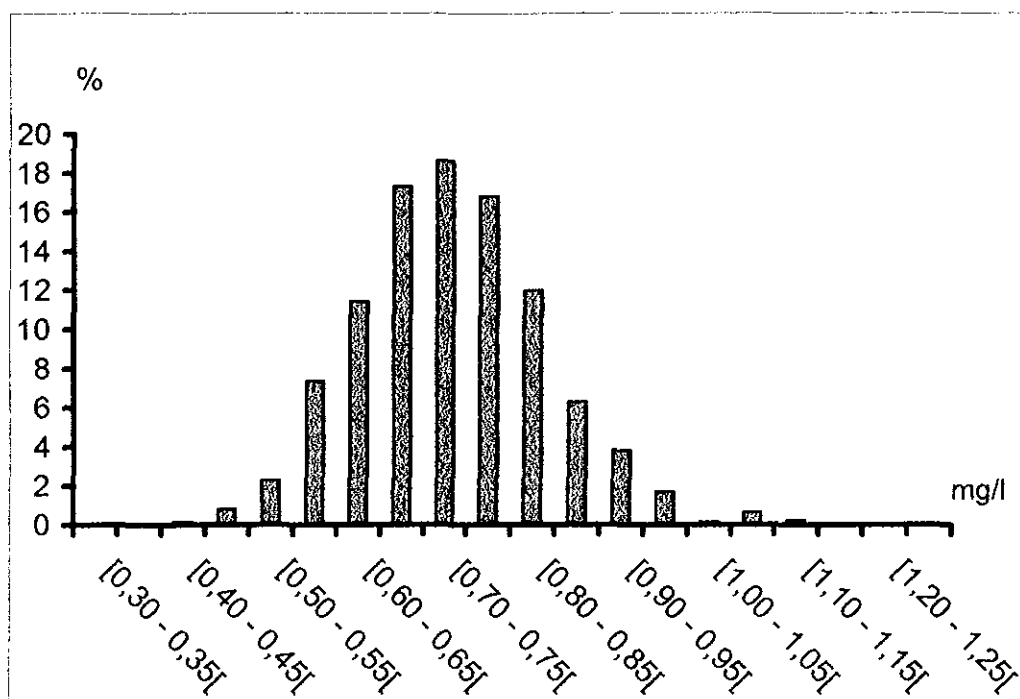


Figure 10 : Distribution de la cystatine C dans la population totale (N = 1223)

Comme le montre ce graphique, la cystatine C suit une loi de Gauss. Cette normalité est prouvée par un test du χ^2 positif ($p = 0,03$). On observe tout de même un léger décalage vers la droite de l'histogramme. A l'intérieur de chaque groupe et pour les deux sexes, la cystatine C est aussi distribuée de façon gaussienne. Nous avons choisi de présenter en exemple (figures 11 à 14) des histogrammes de sujets adultes, ne prenant pas de contraception oestroprogestative pour les femmes et ne consommant ni alcool, ni tabac pour les deux sexes, afin d'exclure toute éventuelle variation biologique.

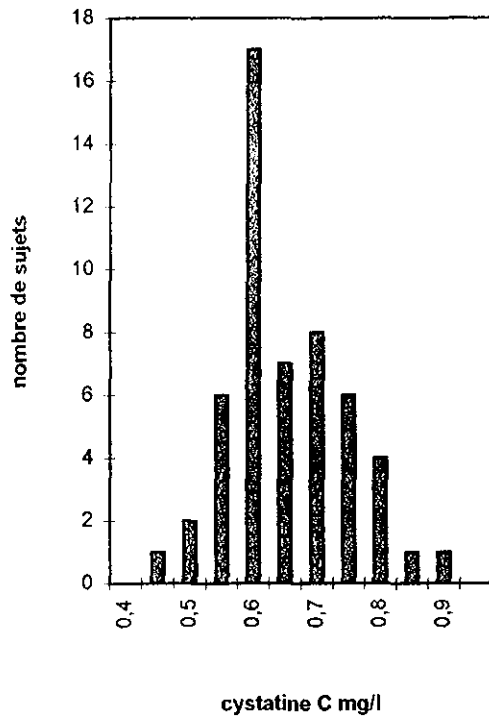


Figure 11 : Distribution de la cystatine C chez les femmes de 20 à 29 ans

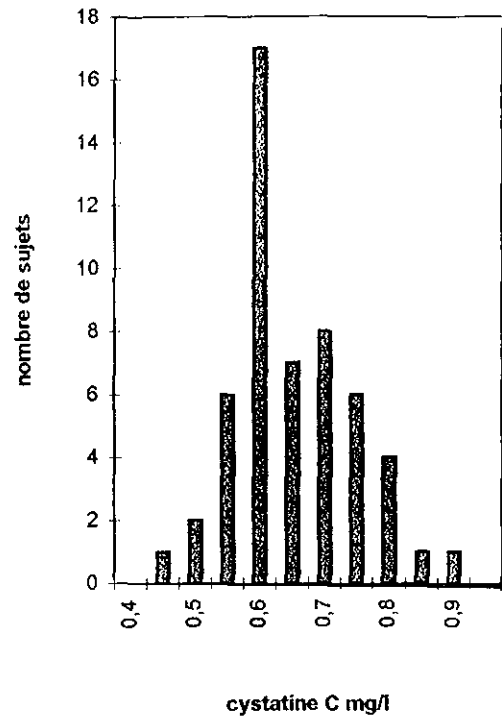


Figure 12 : Distribution de la cystatine chez les femmes de 30 à 39 ans

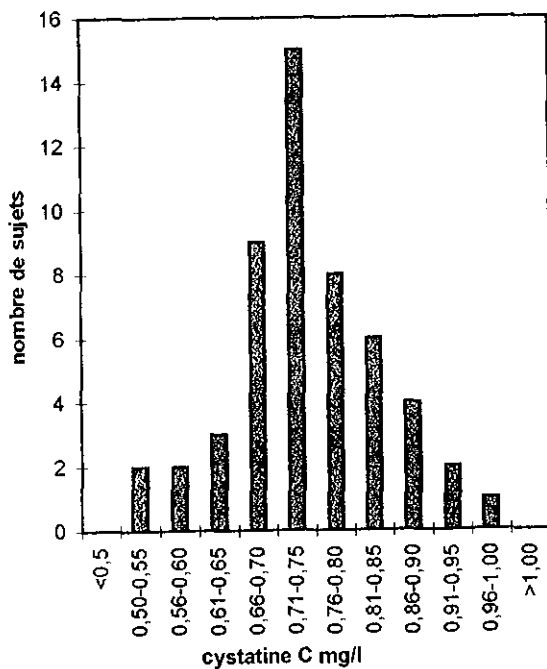


Figure 13 : Distribution de la cystatine C chez les hommes de 40 à 49 ans

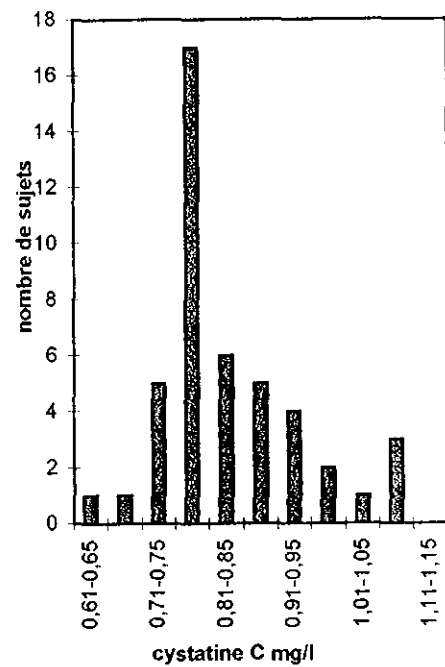


Figure 14 : Distribution de la cystatine C chez les hommes de plus de 60 ans

Erlandsen et al (19), avaient déjà démontré que la cystatine C suivait ce type de distribution. Cependant, si on examine avec plus d'attention les résultats, moyenne et valeurs de référence sont très proches : (respectivement de 0,86 et 0,87 mg/l pour les hommes et 0,82 et 0,84 mg/l pour les femmes). La plupart des études menées ont montré que la cystatine C suivait une distribution gaussienne (28, 58, 66), seuls Finney et al ont trouvé le contraire (21, 23). En général, les paramètres biologiques ne répondent pas à cette loi et ont un histogramme de fréquence asymétrique, la cystatine C semblerait donc être une exception. Nous pourrions donc donner les valeurs de référence sous forme d'une moyenne et d'un écart type.

4.3. Variations avec l'âge et le sexe

Afin d'évaluer l'influence de l'âge sur la concentration en cystatine C, nous avons tracé le graphique présenté à la figure 15.

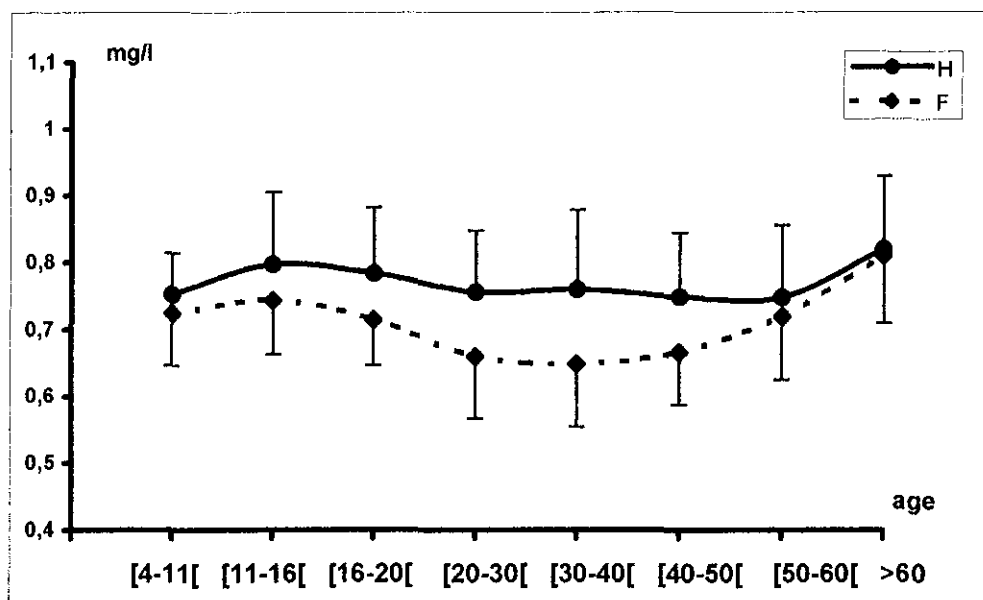


Figure 15 : Variation de la concentration sérique moyenne en cystatine C en fonction de l'âge et du sexe.

➤ Enfants

Dans notre étude, nous n'avons trouvé aucune différence significative ni avec l'âge pour les 3 groupes formés entre 4-19 ans, ni avec le sexe. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus dans les études déjà réalisées : la cystatine C sérique ne varie plus après l'âge de 1 an (20, 32, 58). En effet, d'après Bökenkamp et al (6), chez les enfants âgés de 1 à 18 ans, ne souffrant pas de pathologies rénales, la concentration sérique en cystatine C serait plus élevée au cours

des premiers jours de la vie à cause d'un passage transplacentaire de la cystatine C maternelle ($m = 2,16 \text{ mg/l}$; valeurs limites = $1,64-2,59 \text{ mg/l}$) et diminuerait ensuite rapidement dans les semaines suivant la naissance ($m = 1,59 \text{ mg/l}$; valeurs limites = $1,08-2,30 \text{ mg/l}$ entre 2 et 4 mois). Ces résultats sont corroborés avec ceux de la littérature. Mussap et al (57) et Randers et al (69), avaient déjà trouvé des valeurs plus élevées à la naissance, puis une diminution rapide au cours des mois qui suivent. Récemment, Cataldi et al (12), ont montré que la cystatine C diminuait fortement entre la naissance et les 5 premiers jours de la vie : chez les nouveaux nés, sa concentration est de $1,17$ à $3,06 \text{ mg/l}$, chez les prématurés elle est plus élevée que chez les enfants nés à terme, mais d'après Finney et al (23), sa concentration n'est pas corrélée avec l'âge gestationnel. En revanche, selon Harmoinen et al (30), chez les moins de 1 an, la concentration sérique en cystatine C est significativement corrélée avec l'âge.

On peut donc conclure que la concentration en cystatine C est élevée de la naissance à l'âge de un an (valeurs doublées car la fonction rénale est immature). Chez les enfants de plus de un an, cette valeur diminue puis se maintient jusqu'à 5 ans. A partir de 5 ans, ni l'âge, ni le sexe, n'ont d'influence sur la cystatine C sérique : on pourra donc donner un intervalle de référence commun aux filles et aux garçons.

➤ Adultes

N'obtenant aucune variation ni avec l'âge, ni avec le sexe chez les enfants, nous avons testé l'influence de ces deux paramètres chez les adultes. Comme le montre la figure 15, nous avons trouvé des valeurs inférieures chez les personnes âgées de 20 à 60 ans par rapport aux 4-19 ans. Cette différence est significative pour les femmes ($p < 0,001$) mais pas pour les hommes ($p = 0,065$). Chez ces adultes jeunes, nous avons trouvé des valeurs ne variant pas avec l'âge, mais significativement plus élevées chez les hommes (+ 12 %) que chez les femmes ($p < 0,001$). Dans la littérature, les résultats sont assez contradictoires. Pergande et Jung (60) ont trouvé, tout comme nous, une différence significative : la concentration en cystatine C est plus élevée chez l'homme de 17 % que chez la femme. Pour Finney et al (22), cette différence n'est que de 8 % mais très significative ($n < 0,0001$) et cette différence est encore plus importante si on corrige par la surface corporelle : augmentation de 1 à 5% chez la femme et diminution de 1,4 % chez l'homme. Pour Mussap et al (58), la cystatine C est supérieure de 11,8 % chez les femmes mais cette différence n'est pas significative. D'autres, en revanche, ne trouvent aucune différence significative entre hommes et femmes et définissent un intervalle de référence commun aux deux sexes (19, 38, 42, 45, 49, 60) et contrairement à la plupart des études, Erlandsen et al (19), ont observé une augmentation significative de la cystatine C avec l'âge, de 20 à 65 ans, mais seulement chez les femmes.

D'après la figure 15, au delà de 60 ans, la concentration en cystatine C augmente indiscutablement autant chez les hommes que chez les femmes : pour les deux sexes, les différences obtenues entre les personnes de plus de 60 ans et celles âgées de 20 à 60 ans sont significativement différentes ($p < 0,001$). De nombreuses études trouvent des résultats similaires aux nôtres : chez les plus de 60 ans, la concentration en cystatine C augmente significativement jusqu'à 90 ans sans aucune différence avec le sexe (21). Fliser et al (26), ont trouvé des valeurs de cystatine C chez les personnes âgées corrélées avec la clairance à l'inuline (corrélation négative), donc l'augmentation de la cystatine C semble être due au vieillissement physiologique.

Les résultats de la littérature sont donc globalement contraires aux nôtres, ce qui pourrait s'expliquer par notre tri très poussé de la population choisie : la plupart des études menées jusqu'à présent ne sélectionnaient pas suffisamment les sujets. D'après notre travail, la cystatine C ne varierait ni avec l'âge, ni avec le sexe pour les enfants de 4 à 19 ans et les personnes de plus de 60 ans : nous pourrions donc donner une moyenne commune dans ces deux groupes. En revanche, elle ne varierait pas avec l'âge, mais avec le sexe chez les 20-60 ans : il faudra définir une moyenne pour les hommes et pour les femmes.

4.4. Variations dues au statut hormonal

Certains paramètres biologiques variant avec la prise de contraceptifs, la puberté ou la ménopause, nous avons testé l'influence de ces facteurs sur la concentration en cystatine C comme le présente le tableau XVI.

Tableau XVI : Variations de la cystatine C avec le statut hormonal

FEMMES	n	m ± s	Valeurs limites
11 - 15 pubères	36	0,73 ± 0,093	0,53 – 0,92
11 - 15 impubères	34	0,76 ± 0,063	0,65 – 0,93
20 - 49 sans CO	156	0,65 ± 0,083	0,44 – 0,90
20 – 49 avec CO	125	0,64 ± 0,087	0,46 – 0,99
50 - 59 non ménopausées	16	0,69 ± 0,095	0,50 – 0,88
50 - 59 ménopausées	28	0,71 ± 0,102	0,47 – 0,88
50 - 59 ménopausées + THS	59	0,74 ± 0,086	0,57 – 0,98

CO : contraception oestroprogestative ; THS : traitement hormonal substitutif.

Nous n'avons trouvé aucune variation significative de la cystatine C ni avec la puberté chez les filles âgées de 11 à 15 ans, ni avec la ménopause ou la prise d'un traitement hormonal substitutif chez les femmes de 50 à 59 ans. Toutefois, chez les femmes de 20 à 49 ans sous contraceptifs oraux, la cystatine C est légèrement inférieure à celle des femmes ne prenant pas de contraceptifs, mais cette différence n'est pas statistiquement significative.

Ces résultats ne peuvent être comparés à ceux de la littérature, car aucune étude concernant l'effet du statut hormonal sur cette protéine n'a été étudié. Cependant, Finney et al (25) et Cataldi et al (12) ont trouvé que la cystatine C chez les femmes enceintes était similaire à celle des femmes non enceintes.

4.5. Variations dues au poids et à la masse musculaire

Pour Bökenkamp et al (5), la concentration sérique en cystatine C est indépendante de la taille et de la composition corporelle. Pour Keevil et al (38) et Vinge et al (82), le BMI ne possède non plus aucune influence : la concentration en cystatine C n'est pas corrélée avec la diminution de la masse musculaire. Ces résultats sont corroborés par Brion et al qui a étudié la cystatine C chez des enfants anorexiques (10). De même, selon Finney et al (22), il n'est pas nécessaire de corriger par la surface corporelle (BSA), la clairance obtenue par la cystatine C sérique, contrairement à la créatinine.

Remarque :

La clairance de la créatinine corrigée par le BSA est donnée par la formule :

$$BSA = 0,20247 \times h^{0,725} \times \text{poids}^{0,425}$$

$$Cl \text{ créat} = ((140 - \text{âge}) \times 2,12 \times \text{poids} \times k) / (\text{cc créat} \times BSA)$$

k = 0,85 chez les femmes et 1 pour les hommes ; poids (kg) ; h : taille (m) ; Cl créat : clairance de la créatinine (ml/min) ; cc créat : concentration sérique en créatinine ; BSA : "Body Surface area" ou surface corporelle.

4.6. Variations dues à l'alcool et au tabac

Les paramètres biologiques variant fréquemment avec la consommation d'alcool ou de tabac, nous nous sommes proposés d'évaluer l'influence de ces facteurs sur la concentration sérique en cystatine C. Cette consommation est présentée au tableau XVII.

Tableau XVII : Consommation de tabac et d'alcool chez les fumeurs et/ou buveurs (m ± s).

	Non buveurs - fumeurs		Buveurs- non fumeurs		Buveurs - fumeurs		
	n	tabac (cig/j)	n	alcool (g d'alcool pur/j)	n	alcool (g d'alcool pur/j)	tabac cig/j
HOMMES	50	22,0 ± 4,84	61	60,0 ± 49,96	52	71,5 ± 59,40	22,3 ± 11,65
Valeurs limites		(20 - 40)		(30 - 400)		(10 - 245)	(10 - 60)
FEMMES	84	22,2 ± 5,48	22	31,9 ± 11,78	17	37,7 ± 20,02	19,12 ± 5,36
Valeurs limites		(20 - 50)		(20 - 50)		(10 - 90)	(10 - 30)

Cig/j : cigarettes par jour

Selon nos critères, tous les hommes consomment plus de 30 g d'alcool pur par jour et les femmes plus de 20 g. Tous (hommes et femmes confondus) fument également plus de 20 cigarettes par jour. Le tableau XVIII présente les variations de la cystatine C chez les hommes et les femmes consommant de l'alcool et / ou du tabac.

Tableau XVIII : Effet de la consommation d'alcool et/ou de tabac sur la cystatine C (mg/l).

	n	m ± s	Valeurs limites
HOMMES			
Non buveurs - non fumeurs	261	0,76 ± 0,108	0,49 - 1,26
Non buveurs - fumeurs	50	0,79 ± 0,090	0,65 - 1,05
Buveurs - non fumeurs	61	0,75 ± 0,094	0,57 - 0,98
Buveurs - fumeurs	52	0,77 ± 0,131	0,34 - 1,09
FEMMES			
Non buveurs - non fumeurs	430	0,68 ± 0,107	0,44 - 1,14
Non buveurs - fumeurs	84	0,71 ± 0,104	0,42 - 0,99
Buveurs - non fumeurs	22	0,71 ± 0,096	0,52 - 0,92
Buveurs - fumeurs	17	0,69 ± 0,082	0,59 - 0,90

Nous n'avons trouvé aucune différence significative avec la consommation d'alcool ou de tabac pris seuls ou en association chez les hommes comme chez les femmes. Aucune étude dans la littérature n'ayant été jusqu'à présent publiée, nous n'avons pas pu comparer ces

résultats. Seuls Randers et al (68) ont démontré que la cystatine C augmentait sous l'influence de la fumée de cigarette, mais *in vitro*. Il semblerait que la cystatine C, chez l'homme, ne varie pas selon ces deux facteurs, mais des investigations supplémentaires seraient nécessaires.

4.7. Variations dues aux xénobiotiques

D'après Randers et al (68), certains médicaments et xénobiotiques augmentent, *in vitro* la concentration en cystatine C notamment la dexaméthasone, les glucocorticoïdes, les lipopolysaccharides des parasites, l'interféron γ , le facteur de croissance β . Les corticoïdes, très utilisés au cours des épisodes de rejet de greffe, et les interférons impliqués dans de nombreuses maladies inflammatoires pourraient peut être faire varier la concentration en cystatine C. Mais tout ceci reste à prouver, car *in vivo*, aucune drogue utilisée en thérapeutique courante ne semble affecter la concentration en cystatine C. Toutefois, selon Cimerman et al (14), la méthylprednisolone administrée pendant une semaine à des sujets asthmatiques ferait significativement augmenter les concentrations en cystatine C ($p < 0,0001$) comparativement à des sujets non traités. De même, la ciclosporine A ferait diminuer la concentration en cystatine C après une semaine de traitement. Ce sujet reste donc encore obscur, et avant de tirer des conclusions, des études plus précises, utilisant des médicaments communs (contraceptifs oraux, traitements hormonaux substitutifs) seraient nécessaires.

4.8. Variations dues aux rythmes circadiens

Selon Cimerman et al (15), la cystatine C, mesurée chez 8 personnes en bonne santé (5 femmes et 3 hommes), ne présenterait une variation significative avec les rythmes circadiens que chez une seule personne. Ici aussi, des investigations plus approfondies seraient souhaitables.

4.9. Variations dues aux facteurs génétiques

Lee et al (47) et Uhlmann et al (81), n'ont trouvé aucune différence significative concernant les valeurs de référence obtenues chez les caucasiens et dans une population coréenne ou africano-américaine.

III. Valeurs de référence

Avant de présenter les valeurs de référence trouvées au cours de notre étude, nous pouvons dresser un rapide bilan des valeurs usuelles déjà trouvées dans la littérature chez les enfants (tableaux XIX) et chez les adultes (tableau XX). Nous ne présenterons que les valeurs obtenues par immunonéphélométrie et immunoturbidimétrie.

Tableau XIX : Valeurs usuelles chez les enfants

Sexe	N°	Age	Concentration en cystatine C mg/l	Méthode	Référence
	216	0,8 – 18 ans	0,61-1,28 ⁽²⁾	PETIA	20
11 filles	20	A la naissance 72 h après la naissance	2,20 ⁽³⁾ (1,55-2,98) ⁽⁴⁾ 1,82 ⁽³⁾ (1,38-2,67) ⁽⁴⁾	PETIA	57
	56	1-16 ans	0,63-1,33 ⁽²⁾	PETIA	32
Garçons	165	1-18 ans	1,06 +/- 0,161 ⁽¹⁾	PETIA	3
Filles	93	1-18 ans	1,04 +/- 0,204 ⁽¹⁾		
	23	1-3 jours	1,64-2,59 ⁽⁴⁾		
	14	3-30 jours	1,52-2,40 ⁽⁴⁾		
	13	2-4 mois	1,08-2,30 ⁽⁴⁾		
	8	4-12 mois	1,05-1,52 ⁽⁴⁾		
			1,03 ⁽³⁾ ; 0,69 – 1,90 ⁽²⁾	PETIA	5
	12	< 1 mois	1,63 ± 0,26 ⁽¹⁾	PENIA	69
	29	1 – 12 mois	0,95 ± 0,22 ⁽¹⁾		
	96	>12 mois	0,72 ± 0,12 ⁽¹⁾		
	30	prématurés	1,56 ⁽¹⁾ ; 0,43 – 2,77 ⁽⁴⁾	PENIA	23
	79	< 1 an	1,20 ⁽¹⁾ ; 0,59 – 1,97 ⁽⁴⁾		
	182	1 – 17 ans	0,82 ⁽¹⁾ ; 0,50 – 1,27 ⁽⁴⁾		
	58	Avant-terme	1,34 – 2,57 ⁽²⁾	PETIA	30
	50	A terme	1,36 – 2,23 ⁽²⁾		
	65	8 jours – 1an	0,75 – 1,87 ⁽²⁾		
	72	1 – 3 ans	0,68 – 1,60 ⁽²⁾		
	162	3 – 16 ans	0,51 – 0,31 ⁽²⁾		

⁽¹⁾ moyenne +/- DS ; ⁽²⁾ intervalle de référence à 95% ; ⁽³⁾ médiane ; ⁽⁴⁾ valeurs limites

Tableau XX : Valeurs usuelles chez l'adulte sain (DFG normal)

sexe	N°	Age	Concentration sérique en cystatine C mg/l	Méthode	Référence
	27	8-81 ans	0,61 ± 1,21 ⁽¹⁾	PETIA	42
hommes	115		1,24 ⁽¹⁾	PETIA	60
femmes	91		1,17 ⁽¹⁾		
	NI	20-50	0,70 – 1,21 ⁽²⁾	PETIA	61
		> 50	0,84 – 1,55 ⁽²⁾		
14 hommes	28	13-80 ans	0,95 ⁽³⁾ ; 0,66-1,44 ⁽⁴⁾	PETIA	57
	30	NI	0,64-1,04 ⁽²⁾	PENIA	24
hommes	57	35 ± 9	0,92 ± 0,13 ⁽¹⁾	PETIA	62
femmes	57	65 ± 9	1,11 ± 0,23 ⁽¹⁾		
	61	34 ± 9	0,87 ± 0,12 ⁽¹⁾		
	64	65 ± 10	1,10 ± 0,25 ⁽¹⁾		
135 hommes	270	20-65 ans*	0,54-1,21 ⁽²⁾ 0,83 ⁽³⁾	PETIA	19
hommes	7	21-55 ans	0,658 ± 0,05 ⁽¹⁾	PETIA	38
femmes	5	26-42 ans	0,636 ± 0,08 ⁽¹⁾		
femmes	309	NI	0,76 ± 0,17 ⁽¹⁾	PENIA	25
24 hommes	52	21-79 ans	0,80 ⁽¹⁾⁽³⁾ ; 0,37-1,22 ⁽⁴⁾	PENIA	58
	56	38	0,45 – 0,94 ⁽⁷⁾	PENIA	45
	32	NI	0,61-1,28 ⁽⁴⁾ 0,97 ± 0,15 ⁽¹⁾	PETIA	53
	32		0,97 ⁽¹⁾ ; 0,61 – 1,28 ⁽⁴⁾	PETIA	54
	258	18 - 49	0,70 ⁽³⁾ ; 0,53 – 0,92 ⁽²⁾	PENIA	21
	51	>50	0,77 ⁽³⁾ ; 0,58 – 1,02 ⁽²⁾		
	203	60 – 79	1,39 ⁽³⁾ ; 0,93 – 2,68 ⁽²⁾		
	195	>80	1,70 ⁽³⁾ ; 1,07 – 3,35 ⁽²⁾		
17 hommes	42	24 ± 3	0,85 ± 0,08	PETIA	82
25 femmes		31 ± 3	0,81 ± 0,10		
	96	NI	0,4-11,5 ⁽⁴⁾ 0,57-1,3 ⁽²⁾	PETIA	47
	258	19-49 ans	0,53-0,92 ⁽²⁾	PENIA	22
	51	>50 ans	0,58-1,02 ⁽²⁾		
	133	20-69 ans	0,67 ⁽¹⁾ 0,51 – 0,91 ⁽²⁾	PENIA	81
164 hommes	250	19 - 64	0,51 – 1,02 ⁽²⁾	PENIA	68
6 hommes	12	25 ± 2	0,69 ± 0,08 ⁽¹⁾	PENIA	26
19 hommes	41	67 ± 6	0,84 ± 0,10 ⁽¹⁾		
hommes	100	20 – 60	0,50 – 0,82 ⁽²⁾	PENIA	83
femmes	100	19 - 55	0,50 – 0,74 ⁽²⁾		

⁽¹⁾ moyenne +/- DS ; ⁽²⁾ intervalle de référence à 95% ; ⁽³⁾ médiane ; ⁽⁴⁾ valeurs limites ; NI : non indiqué

Toutes les études vont dans le même sens : la cystatine C est plus élevée chez les nouveaux nés, sa concentration diminue durant les premiers jours de la vie et rejoint celle des jeunes enfants vers la fin de la première année.

Chez les adultes, les valeurs obtenues par les différents auteurs sont relativement similaires. La plupart ne trouvent aucune différence avec le sexe et donnent un intervalle de référence commun pour les hommes et pour les femmes. En revanche, la cystatine C varie avec l'âge : après 60 ans, elle augmente autant chez les hommes que chez les femmes. Ceci serait dû au vieillissement physiologique de la fonction rénale. Les travaux les plus récents donnent donc des valeurs de référence pour les adultes et les personnes de plus de 60 ans.

Nous pouvons maintenant comparer nos résultats, présentés au tableau XXI, à ceux de la littérature.

Tableau XXI : Valeurs de référence de la cystatine C obtenues au cours de nos travaux

	N	Age (ans)	Cystatine C(mg/l)
Enfants	246	4 – 19	0,75 ± 0,069
Hommes	216	20 – 59	0,74 ± 0,100
Femmes	172	20 – 59	0,65 ± 0,085
Hommes et femmes	92	≥ 60	0,83 ± 0,103

Nos valeurs sont inférieures à celles publiées précédemment : ceci peut s'expliquer par un tri très poussé de notre population. Les résultats publiés par les différents auteurs ne peuvent être qualifiés de valeurs de référence, mais de valeurs usuelles, car elles n'ont pas été réalisées sur une population de référence. Au contraire, nous avons soigneusement sélectionné nos échantillons, et nous pouvons considérer que nous avons travaillé sur une population de référence, supposée en bonne santé. La cystatine C présente donc peu de variations biologiques : elle ne varie ni avec le sexe ni avec l'âge chez les enfants et les personnes âgées, ceci permettant de définir une moyenne commune pour la population masculine et féminine. En revanche, entre 20 et 59 ans, la concentration sérique en cystatine C est plus faible chez les femmes que chez les hommes : on distinguera une moyenne pour les hommes et une pour les femmes.

Avant d'être utilisée comme nouveau marqueur en néphrologie, la cystatine C devra être étudiée dans certaines pathologies afin de démontrer qu'elle varie spécifiquement en cas d'altération de la fonction rénale, ce que nous avons expérimenté dans le chapitre suivant.

Troisième partie :

VARIATIONS PATHOLOGIQUES

I. Rappels sur le fonctionnement rénal et les pathologies rencontrées

1. Structure du rein :

Les reins sont au nombre de deux, ils ont une forme de haricot, ils sont situés de part et d'autre de la colonne vertébrale. Leurs caractéristiques macroscopiques sont les suivantes :

- Poids : 150 g
- Longueur : 12 à 14 cm
- Largeur : 7 cm
- Nombre de glomérules : 10 à 12 millions

Ils sont constitués :

- Du bassinnet d'où part l'uretère
 - D'une zone corticale = cortex
 - D'une zone médullaire constituée de pyramides de Malpighi, de calices et de papilles.
- Les colonnes de Bertin sont situées entre les pyramides.

La figure 16 présente la position anatomique des reins ainsi que le schéma simplifié d'un rein.

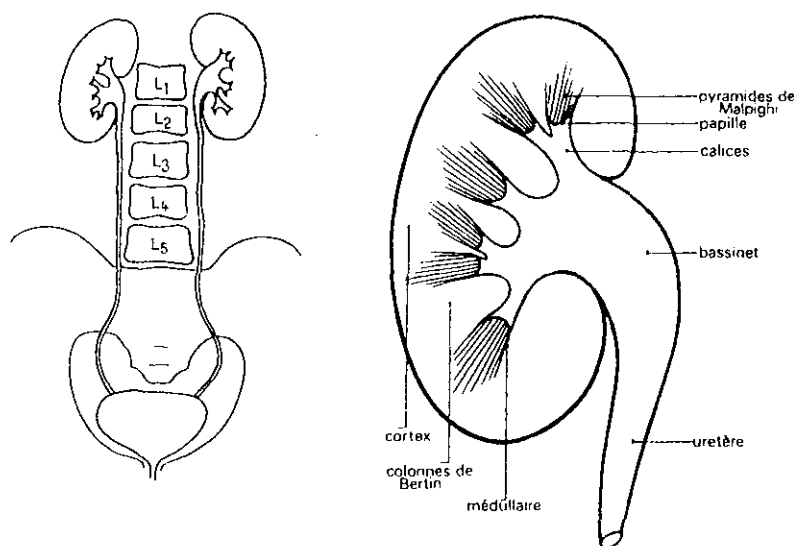


Figure 16 : Repères de l'appareil urinaire et coupe sagittale du rein et du bassinnet (8)

Les reins sont formés par des unités fonctionnelles : les **néphrons** (un rein en possède environ 1 million).

Le néphron est constitué par un ensemble de structures permettant l'élaboration de l'urine définitive :

- Le glomérule ayant une grande perméabilité et une vascularisation intense : on y trouve la macula densa et des artérioles afférentes
- Le tube contourné proximal (TCP)

- L'anse de Henlé : avec une branche descendante grêle et une branche ascendante large
- Le tube contourné distal (TCD)
- Le tube collecteur (TC)

La figure 17 présente la disposition anatomique précise des néphrons et des vaisseaux.

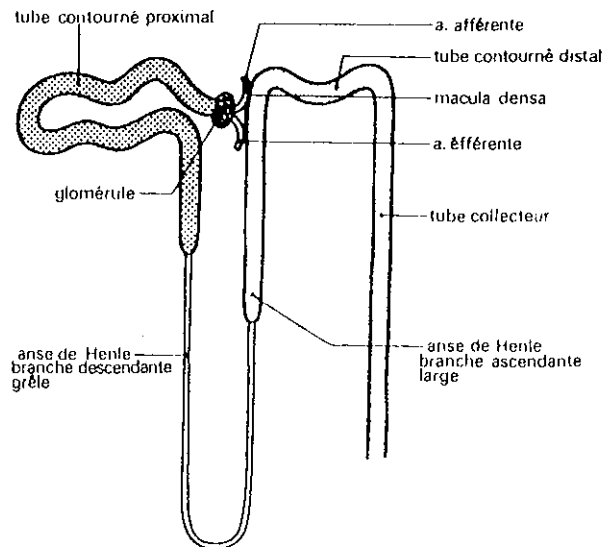


Figure 17 : Schéma d'un néphron (8)

Le rein est donc un système très vascularisé, fragile, complexe, et on peut aisément comprendre que l'altération d'un seul néphron ou vaisseau retentit sur tout le fonctionnement de l'organe.

2. Fonction des reins :

Le rein a pour fonction essentielle de former l'urine, constituée d'éléments d'origine plasmatique et de déchets de l'activité métabolique (8).

Elle est formée en 2 étapes :

- Filtration glomérulaire :

La filtration glomérulaire conduit à l'urine primitive dépourvue de protéines de haut poids moléculaire, c'est un ultrafiltrat de plasma. Cette ultrafiltration est rendue possible par une différence de pression (hydrostatique et oncostatique) de part et d'autre de la membrane du glomérule très vascularisée et semi-perméable.

- Ajustements tubulaires :

Dans un deuxième temps, il y a réabsorption et sécrétion par les cellules tubulaires rénales d'eau et d'ions par des phénomènes actifs ou passifs. On aboutit à l'urine finale.

La figure 18 présente les mouvements de l'eau et de différents ions le long du néphron.

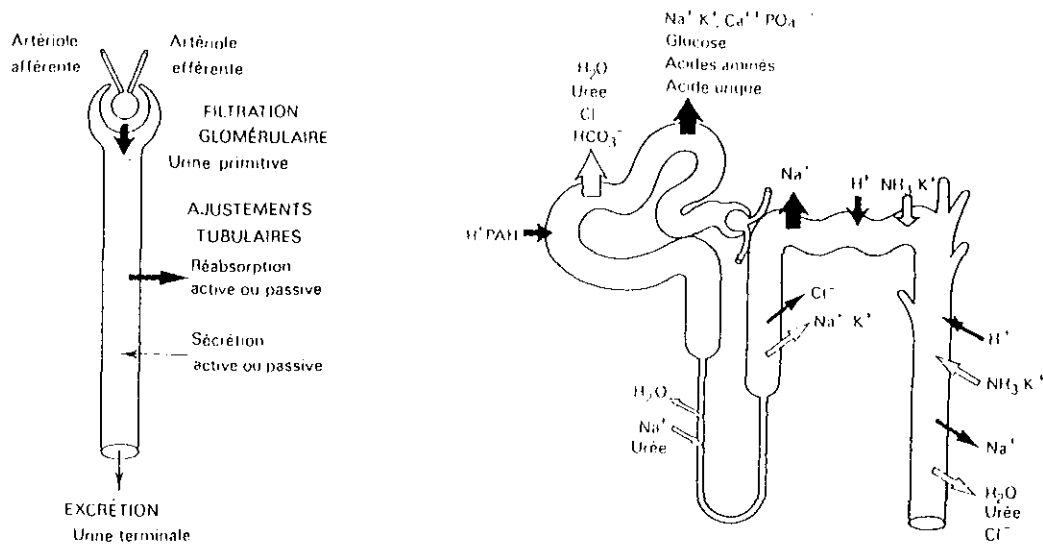


Figure 18 : Etapes de la formation de l'urine et principaux transferts tubulaires (8)

Au niveau du tube distal, de l'Anse de Henlé et du tube contourné proximal, l'eau, le sodium, le potassium, le calcium, les phosphates, les ions acides et le glucose sont réabsorbés passivement, ou activement par des pompes échangeant les différents ions et consommant de l'énergie.

Le rein possède également une deuxième fonction dite de régulation, plus précisément de type hormonale : en effet, les reins produisent plusieurs hormones comme la **rénine**, des **prostaglandines**, des **kinines**, du **calcitriol** et l'**érythropoïétine (EPO)**.

Les anomalies liées aux perturbations des fonctions endocrines surviennent dès qu'apparaît l'insuffisance rénale (IR) et leur gravité augmente au fur et à mesure de sa progression. Elles touchent principalement le **métabolisme osseux** (calcitriol) avec fuite de calcium dans les urines et celui **des globules rouges** (EPO) entraînant une anémie normochrome, normocytaire arégénérative.

En conclusion, on peut dire que le rein possède deux grandes fonctions :

- **Fonction d'épuration** sélective car les transferts glomérulaires et tubulaires permettent l'élaboration de l'urine définitive.

- Fonction de **régulation** car l'urine est une solution aqueuse de sels minéraux et de substances organiques.

3. Les pathologies rencontrées :

Nous ne nous intéresserons ici qu'aux pathologies dont souffrent les enfants inclus dans notre étude. Elles sont variées. Nous en avons recensé sept différentes : toutes altèrent la fonction rénale, mais à des degrés divers, c'est pourquoi nous nous proposons de les passer en revue afin de mieux situer le contexte dans lequel nous avons travaillé (48).

✂ Le syndrome néphrotique :

Qu'il soit congénital ou infantile ou qu'il atteigne des enfants de plus de 20 ans, il est, dans la majorité des cas, primitif. On distingue des syndromes cortico-sensibles, dont le pronostic est favorable en dépit de rechutes multiples, et cortico-résistants pouvant évoluer vers l'insuffisance rénale terminale. Les symptômes sont très évocateurs : œdème, ascite, hernie ombilicale, albuminémie et gamma globulinémie faibles par perte urinaire de protéines, les reins peuvent être volumineux. Ces enfants peuvent souffrir d'une dénutrition sévère, si la survenue du syndrome est précoce et s' il est cortico-résistant.

✂ La néphropathie à immunoglobulines A :

Le terme de néphropathie à immunoglobulines A (Ig A) regroupe deux maladies : le purpura rhumatoïde et la maladie de Berger. Elles sont caractérisées toutes les deux par la présence de dépôts mésangiaux d'Ig A. Le purpura rhumatoïde est plutôt caractérisé par l'association de signes cutanés articulaires et gastro-intestinaux qui peuvent survenir par poussées. L'hématurie, microscopique ou macroscopique, est le symptôme d'atteinte rénale le plus fréquent, mais elle reste isolée. Au cours de la maladie de Berger, l'hématurie est majeure et elle peut être associée à une insuffisance rénale progressive.

Aucun traitement n'a réellement fait la preuve de son efficacité, mais l'éradication des foyers infectieux ORL est importante. Une corticothérapie intra-veineuse peut être tentée dans les formes sévères.

✂ Les glomérulonéphrites

Il existe différentes sortes de maladies glomérulaires primitives ou secondaires mais toutes se manifestent de la même façon : protéinurie, hématurie, hypertension, insuffisance rénale. La protéinurie est liée à une anomalie de la perméabilité glomérulaire. Dans ces glomérulonéphrites, un syndrome néphrotique peut expliquer l'évolution.

✂ La cystinose

C'est une néphrite chronique caractérisée par des dépôts de cristaux de cystine dans les tubules, les cellules épithéliales glomérulaires. C'est une maladie génétique rare, à transmission autosomique récessive, elle peut être mise en évidence précocement par une protéinurie de type tubulaire. Elle engendre une tubulopathie avec diabète gluco-phospho-aminé responsable d'un rachitisme vitamino-résistant puis d'une insuffisance rénale chronique. Le traitement par cystéamine est efficace pour ralentir l'évolution.

II. Evaluation de la fonction rénale

Du fait de son poids moléculaire faible, on a pensé que la cystatine C pourrait être utilisée pour évaluer la fonction rénale. La mesure de la filtration glomérulaire est généralement considérée comme le meilleur reflet de l'état de la fonction rénale. Tout dysfonctionnement rénal retentit à la fois sur la balance hydroélectrolytique, le maintien de l'homéostasie, la production d'érythropoïétine, le métabolisme osseux et le maintien de la tension artérielle (par le système rénine – angiotensine – aldostérone).

Deux types de tests sont réalisés pour estimer la filtration glomérulaire :

* la mesure des clairances dynamiques : différentes molécules peuvent être utilisées, mais elles doivent répondre à des caractéristiques précises.

* des mesures statiques.

1. Tests statiques :

- Urée

L'urée est le produit final du catabolisme des protéines. La mesure de l'urée sanguine est considérée comme un mauvais reflet de la fonction rénale et ne présente aucun avantage par rapport à la créatinine. Tout d'abord, la molécule en elle-même ne possède pas les caractéristiques idéales pour refléter la filtration glomérulaire : elle est produite à un taux variable selon la masse musculaire et elle subit une réabsorption tubulaire. De plus, sa production dépend de nombreux états pathologiques comme l'insuffisance cardiaque congestive, la malnutrition, la surnutrition ou le catabolisme. En effet, l'urée étant un produit de dégradation des protéines, si les apports alimentaires protidiques sont augmentés, sa production sera également augmentée (79).

- Créatinine

La créatinine est une molécule de poids moléculaire 113d, résultant du catabolisme musculaire (34). Elle possède l'avantage de ne pas être liée aux protéines plasmatiques, d'être filtrée librement par le glomérule rénal, d'être inerte physiologiquement et de ne pas être métabolisée par le rein. Sa mesure est encore la plus utilisée pour mesurer l'état de la fonction rénale du fait de sa facilité de dosage et de son prix peu élevé (79). La première mesure de la créatininémie remonte à 1938. A l'époque, on pensait que la créatininémie était un excellent marqueur de la fonction rénale, sa filtration étant totale, sa réabsorption nulle et son métabolisme constant. Elle devait donc être inversement proportionnelle au débit de filtration glomérulaire.

➤ Métabolisme de la créatinine sanguine et urinaire

Du fait de son métabolisme particulier, la créatinine ne possède pas toutes les qualités requises précédemment pour estimer le DFG :

- Elle subit tout d'abord une **sécrétion tubulaire** proximale et ceci d'autant plus qu'on a à faire à une population d'insuffisants rénaux (on peut atteindre une sécrétion tubulaire de 60% de la sécrétion urinaire totale).
- Elle subit également une **réabsorption tubulaire**.

Mais la créatinine, bien que non filtrée, n'augmente pas indéfiniment, sans doute par arrêt de production par une inhibition en rétrocontrôle négatif.

➤ Variations préanalytiques (34)

Les interférences préanalytiques et analytiques touchent principalement, comme nous venons de la dire, la créatininémie. Néanmoins, la créatinurie diminue lors d'une conservation prolongée de l'urine à pH = 4. La créatininémie diminue de 2,3 % trente minutes après un repas par rapport à l'état à jeun, et, au contraire, elle augmente de 5,1 % deux heures après un repas. Mais elle ne varie pas, ni en fonction de la pose d'un garrot, ni en fonction du dosage sur plasma hépariné ou sur sérum. Il faut tout de même séparer rapidement le surnageant du culot globulaire, sinon, la créatininémie diminue.

➤ Variations analytiques (34)

Dans les années 1980, Bowers et Dorwart ont démontré de nombreuses interférences avec les méthodes utilisées pour mesurer la créatinine sanguine (tableau XXII). La créatinine urinaire est assez préservée de ces interférences, car les substances susceptibles de fausser les résultats

sont rarement présentes dans les urines. De nombreuses techniques ont été utilisées, mais aujourd'hui, deux méthodes sont retenues pour la mesure de la créatininémie (34).

- *Méthode colorimétrique de Jaffé :*

La créatinine en présence d'**acide picrique en milieu alcalin** donne un complexe de coloration rouge orangé (appelé complexe de Janovsky), l'intensité de la coloration est directement proportionnelle à la concentration en créatinine. Il existe deux types de méthode : en point final ou cinétique.

- *Méthode enzymatique :*

C'est aujourd'hui celle qui élimine le plus les interférences. Deux types existent : avec formation de NH_3 ou de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 qui seront révélés dans un deuxième temps. Mais les enzymes utilisables (créatininase et créatinine désaminase) sont limitantes, la réaction est lente, coûteuse donc peu utilisée.

Tableau XXII: Principales interférences analytiques de la créatinine.

Influence	Réaction enzymatique	Réaction de Jaffé
Dérivés carbonylés (acide acétoacétique, pyruvique)	0	+
Glucose	+	+
Bilirubine (ajoutée au sérum ou chez un patient ictérique)	+	-
Hémoglobine	+	-
Lipides	-	-
Créatine	+/-	0
Dopamine	-	+
Acide ascorbique	0	+
céphalosporine	0	+

+ : augmentation ; - : diminution ; 0 : pas d'interférence

La mesure de la créatininémie semble donc meilleure si on utilise une méthode enzymatique. Par la méthode colorimétrique de Jaffé, on observe deux grandes interférences :

- Augmentation de la créatininémie : (jusque 20 %) en présence de glucose, d'acide ascorbique, d'acide urique, d'acide acétoacétique, pyruvique, d'acides cétoniques, et de céphalosporines.

- Diminution de la créatininémie avec la bilirubine et l'hémolyse.

La créatinine est stable 4 jours à température ambiante, 7 jours à + 4°C, et sans notion de durée à - 20°C.

➤ Valeurs de référence

Le tableau XXIII présente les limites de référence de la créatinine plasmatique et urinaire en fonction de l'âge et du sexe. La distribution n'étant gaussienne, il faut donner ces limites aux centiles 2,5 ; 50 et 97,5 (le centile 2,5 définit la concentration en créatinine chez 2,5 % de la population, de même pour le centile 97,5, mais à 97,5 % de la population).

Tableau XXIII : Limites de référence de la créatinine plasmatique (μmol/l) (34).

Age (ans)	HOMMES			FEMMES		
	Centile 2,5	Centile 50	Centile 97,5	Centile 2,5	Centile 50	Centile 97,5
4 – 10	31,0	49,5	74,0	28,5	49,0	72,0
10 – 14	39,5	60,0	84,0	40,0	58,5	82,5
14 – 18	50,5	75,5	105,0	46,0	69,0	95,5
18 – 55	65,0	89,0	120,0	50,0	72,0	100,0
> 55	66,5	95,5	128,0	60,0	80,0	98,0

➤ Variations physiologiques (34)

La créatininémie varie avec l'âge, elle est supérieure chez l'homme car la **masse musculaire** est plus importante que chez la femme. Elle est inférieure chez l'enfant, se stabilise à 15 ans chez les filles et à 18 ans chez les garçons. Elle augmente après 60 ans bien que la masse musculaire régresse car le vieillissement physiologique du rein fait que le DFG diminue de 10 ml/min/1,73m² par tranche de 10 ans à partir de la trentaine.

Au cours de la **grossesse**, la créatininémie diminue d'environ 34 % jusqu'à la quatorzième semaine, ceci serait dû à des modifications hormonales, à un effet sur les protéines, à la rétention d'eau. On peut également évoquer une diminution de la sécrétion tubulaire de la créatinine et parallèlement, sa réabsorption pourrait être plus importante du fait de la stase urinaire qu'engendre la présence du fœtus. En revanche, elle ne varie ni avec le **cycle menstruel**, ni avec la **ménopause**, mais avec la **puberté** : elle est supérieure de 4 % chez les filles réglées.

La créatininémie varie également en fonction des **rythmes circadiens** et au cours de l'effort : elle augmente d'environ 6 % en fonction des **saisons**, de 5 % en fonction des **rythmes nycthéméraux**, elle est minimale à 12 heures et maximale le soir, la nuit et le matin.

Un **exercice musculaire** trop intense fait également augmenter la créatininémie de 20 % environ, mais elle revient à son taux normal en 24 heures.

L'état nutritionnel est aussi la source de variations de la créatininémie : une alimentation carencée en protéine fait diminuer la créatine donc la créatininémie, au contraire, un régime hyperprotéiné la fait augmenter.

Pour ce qui concerne l'influence des **médicaments** sur la créatininémie, il faut distinguer la diminution de l'excrétion d'un médicament par une altération de la fonction rénale préalable et une diminution de la fonction rénale induite par un médicament. On peut avoir une diminution de la filtration de la créatinine par des agents néphrotoxiques sur les cellules parenchymateuses (gentamycine, méticilline), une altération du système hémodynamique (diurétiques), ou une perturbation du métabolisme (l'indométacine induit une diminution des prostaglandines rénales vasodilatatrices). La cimétidine, le probénécide, le triméthoprime, le calcitriol ou les glucocorticoïdes diminuent la sécrétion tubulaire de créatinine. Ces effets sont en général transitoires et réversibles. Ainsi, de nombreux médicaments sont à proscrire en cas d'insuffisance rénale et il existe une liste de médicaments formellement contre indiqués avec cette pathologie.

Ni l'alcool, ni la consommation de tabac n'ont montré d'influence sur la créatininémie.

La créatinurie, comme nous l'avons déjà dit précédemment, est stable.

➤ Variations pathologiques

En cas de dystrophie musculaire progressive, d'atrophie musculaire, d'amyotrophie latérale sclérosante, de poliomyélite, de para ou tétraplégie et de déficit en apport protéique (balance azotée négative), on observe une diminution de la masse musculaire donc de l'excrétion de la créatinine. En cas de pathologie hépatique, on observe aussi une diminution de la créatinine due à la diminution de la production de protéines.

Un état traumatique fébrile, une hyperthyroïdie, une leucémie, une acromégalie ou un gigantisme peuvent au contraire entraîner une augmentation de la créatinine.

Chez le diabétique, deux situations sont possibles :

- En phase aiguë, c'est à dire en cas d'hyperglycémie, de coma diabétique (acidocétose), on observe une diminution des liquides extracellulaires donc du DFG, ce qui cause une augmentation de la créatininémie. La présence de corps cétoniques dans le sang provoque également des interférences avec les méthodes de dosage.

- En phase chronique, les complications micro-vasculaires (glomérulosclérose, sténose sur les artérioles) sont très importantes ce qui retentit sur la fonction rénale car le rein est une structure très élaborée donc fragile. Ces mécanismes sont très complexes, et même sous traitement approprié, le DFG ne revient jamais à la normale. Aujourd'hui, on mesure la protéinurie, c'est à dire la capacité du rein à laisser passer les protéines de haut poids moléculaire. Celle-ci devant être la plus faible possible. La microalbuminurie (paucialbuminurie) permet également de détecter une anomalie de la fonction rénale de façon très précoce.

L'insuffisance rénale aiguë (IRA) est une situation métabolique d'urgence résultant d'une détérioration rapide de la fonction rénale avec accumulation de produits azotés comme la créatinine. Communément, une IRA est due à une nécrose tubulaire avec diminution du flux sanguin rénal. Elle peut également faire suite à une rhabdomyolyse (médicamenteuse ou traumatique) donc à une brusque libération de créatine, précurseur de la créatinine, qui sera transformée en celle ci par le foie. Contrairement à l'IRC, aucun problème particulier au dosage de la créatinine ne se pose.

En cas d'insuffisance rénale chronique (IRC), on observe une diminution progressive de la fonction rénale due à la diminution du coefficient de perméabilité (surface glomérulaire diminuée ou perméabilité hydraulique altérée). Beaucoup de facteurs interviennent dans les altérations hémodynamiques incluant l'ingestion de protéines, la stimulation du système rénine-angiotensine-aldostérone et l'augmentation de la synthèse de Pg. La mesure de la créatininémie est insensible si le DFG est peu ou modérément réduit : elle surestime le DFG car son excrétion augmente avec la diminution de la fonction rénale. On a également pu observer une modification du métabolisme de la créatinine chez l'insuffisant rénal avec diminution de l'excrétion de la créatinine (= activité créatininase de la flore intestinale).

La mesure de la créatininémie présente l'avantage d'être facile et peu chère mais elle varie selon les conditions physiopathologiques pouvant masquer son intérêt potentiel en néphrologie.

2. Tests dynamiques

2.1. Rappels sur la notion de clairance.(67)

La clairance d'une molécule se définit comme le volume virtuel de plasma totalement épuré de cette substance par unité de temps. Elle permet de mesurer la capacité du rein à contrôler la concentration des substances dans les liquides extracellulaires. Elle est très utilisée pour évaluer la fonction rénale, l'excrétion ou la toxicité des médicaments et pour optimiser les thérapeutiques (en particulier chez les personnes âgées).

La clairance d'une molécule se calcule par la formule :

$$CI = UV/P$$

CI : clairance (ml/mn) ; U : concentration urinaire de la substance ; V : débit urinaire (ml/mn) ; P : concentration plasmatique de la substance

On corrige la clairance par la surface corporelle ramenée à 1,73 m².

La clairance diminue physiologiquement avec l'âge, le sexe, l'alimentation, le changement de posture, mais aussi dans des situations pathologiques comme les altérations de la commande nerveuse centrale, les troubles hormonaux (exemple : le peptide natriurétique auriculaire est une hormone impliquée dans la réabsorption du sodium par le rein). Sa mesure doit être standardisée : la prise de sang s'effectue après une collation légère ou mieux à jeun, en position couchée, en assurant un apport hydrique suffisant pour obtenir un débit urinaire supérieur à 1 ml/min. En général, le DFG est, soit mesuré par la clairance de la créatinine urinaire, soit calculé par la clairance de la créatinine à partir de la créatininémie par la formule de Cockcroft chez l'adulte ou par la formule de Schwartz chez l'enfant.

2.2. Qualités requises pour la mesure du DFG

Le marqueur idéal du DFG doit posséder une concentration constante dans le plasma et rester à ce taux tout au long de l'épreuve, être filtré librement et totalement par le glomérule, être éliminé exclusivement par le rein, être stable au cours des situations pathologiques, atoxique, n'être ni réabsorbé ni sécrété par les cellules tubulaires rénales et ne pas se fixer aux protéines plasmatiques (79). Cette molécule doit également être facile à doser, se conserver correctement et se mesurer par une méthode simple, rapide et peu onéreuse. Les résultats obtenus doivent également être répétables, reproductibles et exacts. De préférence, il faut aussi utiliser des marqueurs n'exposant pas à des risques lors de leur manipulation.

2.3. Molécules utilisées

Dès 1773, Rouelle (79) essaya de quantifier la fonction rénale par la mesure de l'urée plasmatique. Mais la notion de clairance n'apparut qu'en 1929 et dès 1930 on découvrit que la mesure de la clairance de la créatinine reflétait le DFG.

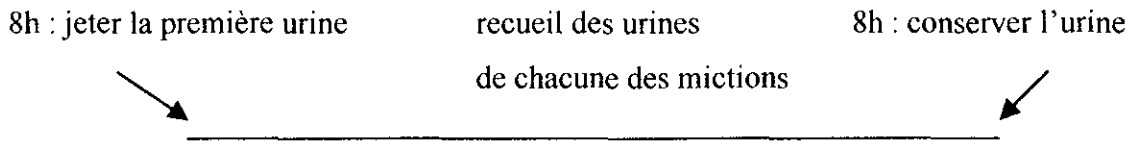
Deux types de molécules sont utilisables :

➤ Des composés endogènes : la créatinine

La mesure de la clairance de la créatinine endogène a été proposée. Il s'agit de récolter les urines sur une période de 24h. En pratique, il est très difficile de faire comprendre aux patients la façon dont il faut recueillir les urines, c'est à dire jeter la première urine du matin

(8h), mais récolter celles-ci jusqu'au matin du lendemain 8h et conserver cette urine. Ce protocole a pour conséquence, bien souvent, un volume collecté trop petit ou au contraire trop important.

Sur 24 heures, le schéma est le suivant :



On doit donc estimer la clairance de la créatinine, par la **mesure de la créatininémie** et le calcul de la clairance de la créatinine par la **formule de Cockcroft** donnant la clairance par unité de surface corporelle.

Cette formule dépend de l'âge et du sexe car l'excrétion et la production de créatinine dépendent de la masse musculaire ce qui implique une variation en cas d'obésité, d'état œdémateux, de cirrhose (diminution de la production hépatique de protéines), de diminution de la masse musculaire (paraplégie ou tétraplégie).

$$\text{Clairance} = (140 - \text{âge}) \times \text{poids (kg)} / (K \times \text{créatininémie } (\mu\text{mol/l}))$$

K = 72 chez l'homme ; K = 85 chez la femme

Chez les enfants, on estime la clairance de la créatinine à partir de la créatininémie par la formule de Schwartz :

$$\text{Clairance} = (K \times \text{taille (cm)}) / \text{Créatinine } (\mu\text{mol/l})$$

K = 29 pour les prématurés et nouveau-nés

K = 40 pour les bébés jusqu'à 2 ans

K = 48 pour les enfants de 2 à 12 ans et les filles de 13 à 21 ans

K = 62 pour les garçons de 13-21 ans

Sources de variations de la clairance de la créatinine

L'estimation de la clairance de la créatinine par la formule de Cockcroft à partir de la créatininémie, chez l'adulte, diminue la valeur de la clairance. Chez les enfants, à cause des variations de la créatininémie avec l'âge, on doit utiliser les tables de Schwartz pour calculer la clairance de la créatinine.

Lorsque le débit urinaire est diminué (lors d'une insuffisance cardiaque décompensée ou d'un diabète incontrôlé), la clairance de la créatinine est diminuée par rapport à la clairance à l'inuline, ce qui laisse supposer une réabsorption tubulaire. Ceci serait dû à une diffusion

passive vers le sang de créatinine : plus le débit urinaire diminue (jusqu'à 5 à 10 % de diminution), plus la clairance de la créatinine diminue, et plus la créatininémie augmente. En revanche, au cours d'une IRA, on ne sait pas si la diminution de la clairance de la créatinine est due à une diminution de la filtration de cette molécule, ou une diminution de sa réabsorption.

➤ Des composés exogènes

Ces molécules sont injectées par voie intra-veineuse après administration d'une dose de charge, puis maintenues à un taux constant dans le plasma afin d'évaluer leurs clairances.

- Inuline

L'inuline est une molécule de masse moléculaire 5000 d, elle est filtrée librement par le glomérule rénal, elle n'est pas réabsorbée ni sécrétée ou métabolisée par les cellules tubulaires rénales. Elle possède l'avantage de ne pas être liée aux protéines plasmatiques, de ne pas être toxique et physiologiquement inerte. Elle semble donc être le marqueur idéal car elle donne directement le DFG, mais elle doit être injectée par voie intraveineuse et son dosage est difficile à mettre en œuvre. Néanmoins, elle est très utilisée car considérée comme exacte : c'est la méthode de référence. Les valeurs de références obtenues chez les adultes de moins de 30 ans sont : Homme : 130 ml/min/1,73m²

Femme : 120 ml/min/1,73m²

- Radionucléotides (79).

Ces méthodes utilisent différentes molécules comme le ⁹⁹TcDTPA (acide diéthylènetriaminepentaacétique), ⁵¹CrEDTA (acide éthylène diamine tétraacétique), ¹²⁵I EDTA. Certes la mesure de ces éléments est très bien corrélée au DFG, considérée comme exacte, mais elle est coûteuse et expose aux radiations donc elle est réservée à des personnes bien formées et pratiquées dans des laboratoires spécialisés.

- Iohexol

D'après O'Reilly (1986), il semblerait que la détérioration de cette molécule dans le plasma soit une nouvelle méthode précise pour évaluer le DFG. Les résultats ont été assez concluants pour proposer de remplacer la clairance à l'inuline (méthode de référence) par la mesure à l'iohexol. Chez les personnes en hémodialyse, cette méthode peut également être utilisée pour adapter leur prescription de dialyse à leur DFG résiduel. Mais pour utiliser cette molécule, il faut s'assurer qu'il n'y ait pas d'allergie à l'iode, faire une prise de sang 4 à 6 heures après

son administration. L'iohexol est aussi un marqueur exogène à administrer comme l'inuline.
(79)

La mesure de la **clairance à l'inuline et aux radionucléotides sont des méthodes de référence considérées comme exactes**, tandis que la clairance de la créatinine pourtant la plus utilisée est loin d'être exacte. Il faudrait donc de trouver de nouvelles molécules, comme la cystatine C, pour mesurer le DFG et pour détecter plus précocement une altération rénale débutante.

Intérêt comparé des différents marqueurs du DFG.

Différentes molécules sont utilisées pour estimer le DFG (tableau XXIV), mais les méthodes les plus couramment utilisées actuellement restent la mesure de la créatinine plasmatique, la mesure de la clairance de la créatinine urinaire ou à l'inuline.

Tableau XXIV : Comparaison des différents types de méthodes utilisables pour mesurer le débit de filtration glomérulaire.

	Créatinine plasmatique	Cystatine C	Inuline	Référence
Filtration glomérulaire totale	+	+	+	
Réabsorption	+	+	+	
Sécrétion	+	-	-	
Facilité de dosage	+	+	±	
Coût	+	±	-	
Sensibilité				78
Enfants	-	+	+	
Adultes	+	+	+	
Spécificité	+	+	+	78
Variation en fonction du sexe (adulte)	+	+	-	3 ;22 ;58 ; 60 ;66
Variation en fonction de la taille et la masse corporelle	+	-	-	
Besoin de corriger par le BMI	+	-	-	22

La cystatine C possède beaucoup de qualités physico-chimiques et techniques pour évaluer le débit de filtration glomérulaire :

- * Elle est filtrée exclusivement et totalement par le glomérule rénal car son poids moléculaire est faible
- * Elle n'est pas sécrétée par les cellules tubulaires ou proximales rénales
- * Elle ne varierait pas au cours d'affections pathologiques
- * Elle n'est pas influencée par la masse musculaire
- * Elle peut être dosée relativement facilement et avec fiabilité (malgré un prix de revient élevé).

Mais on peut se demander si elle est réellement une technique plus précise pour évaluer la fonction glomérulaire en néphrologie et si le rapport fiabilité/prix de revient du dosage est meilleur que la créatinine. C'est ce que nous nous proposons d'étudier dans le chapitre suivant.

III. Etude en néphrologie infantile réalisée à l'hôpital de Nancy

1. Matériel et méthodes

1.1. Description de la population

➤ Malades

Les 34 enfants malades, âgés de 4 à 19 ans et suivis sur une période de 6 mois : du 15 mai 2000 au 15 novembre 2000, sont atteints de pathologies rénales ou sont greffés. Leur degré d'insuffisance rénale est variable. Pour chaque enfant, le dosage de la cystatine C et de la créatininémie a été réalisé de 1 à 4 fois. Afin d'augmenter la sensibilité de nos résultats, chaque examen a été considéré isolément comme reflétant l'état d'un enfant : soit au total 64 dosages pour 34 enfants. Ont été exclus un enfant ayant un index de masse corporelle supérieur à 30, un autre enfant âgé de 1 an pour lequel on ne pouvait recruter aucun témoin, et un enfant ayant une fonction rénale se dégradant pendant la durée de l'étude. Parmi ces 34 enfants malades, on recense 19 enfants greffés (= 37 dosages) et 15 enfants non greffés (= 27 dosages) souffrant de pathologies variées : uropathie (3), syndrome hémolytique et urémique (2), syndrome néphrotique (4), néphropathie à IgA (2), cystinose (1), hypoplasie rénale (2) et glomérulonéphrite (1).

➤ Témoins

128 enfants témoins ont été choisis parmi les enfants sélectionnés pour établir les valeurs de référence présentées au chapitre précédent. Ils sont également âgés de 4 à 19 ans et possèdent un index de masse corporelle inférieur à celui établi par Rolland et Cachera en fonction de l'âge (70). Pour chaque examen en néphrologie infantile, nous avons cherché deux enfants

témoins appariés, d'âge et de BMI aussi proche que possible issus du Centre de Médecine Préventive. Ceci a été rendu possible, car ni l'âge ni le sexe n'ont démontré d'influence sur les concentrations en cystatine C. De plus, cystatine C et créatinine ne sont pas liées génétiquement.

1.2. Méthode de dosage

➤ Malades

La créatinine plasmatique et urinaire est mesurée sur automat Express plus Bayer par la méthode colorimétrique de Jaffé à l'acide picrique (laboratoire Randox) au Centre Hospitalier de Nancy Brabois. Nous n'avons pas tenu compte des résultats de la clairance mesurée sur les urines car le recueil des urines de 24 heures est trop imprécis.

➤ Témoins

La créatinine plasmatique est mesurée sur automat AU5010 (Olympus, Paris, France) par une méthode colorimétrique de Jaffé à l'acide picrique au Centre de médecine Préventive.

La cystatine C, pour tous les enfants, est mesurée par la méthode décrite précédemment et la clairance de la créatinine est calculée par la formule de Schwartz et est exprimée en ml/mn/1,73m².

2. Résultats et discussion

Avant de commenter et de discuter notre étude, il faut préciser, que, pour faciliter la compréhension de cet exposé, certains résultats, ont été présentés en annexe et donc disponibles pour des lecteurs plus intéressés. De plus, tous nos graphiques n'ont pas été réalisés avec la même échelle, toujours dans un souci de clarté, car la population étudiée est très hétérogène. En annexe 1, nous avons présenté tous les résultats obtenus pour chaque enfant et en annexe 3 les histogrammes de fréquence tracés à partir des résultats obtenus chez les enfants du CMP.

2.1. Etude chez les enfants malades et les enfants témoins

➤ Enfants malades / Enfants témoins

Nous avons calculé, pour les 2 groupes d'enfants les moyennes et les écarts-type obtenus pour la cystatine C et la créatininémie. Afin de comparer les valeurs obtenues, ces résultats sont présentés dans le tableau XXV.

Tableau XXV: Paramètres rénaux des deux groupes d'enfants étudiés.

	Témoins N = 128		Malades N = 64	
	Moyenne ± écart type	Valeurs extrêmes	Moyenne ± écart type	Valeurs extrêmes
Créatininémie (μ moles/l)	65 ± 11*	42-89	157 ± 131	49-566
Clairance calculée (ml/mn/1,73m ²)	118 ± 15*	92-165	71 ± 32	19-135
Cystatine C (mg/l)	0,75 ± 0,084*	0,53-1,14	1,85 ± 1,00	0,84-5,33

* : p<0,001

Chez les enfants malades, la créatininémie et la concentration sérique en cystatine C sont nettement plus élevées que chez les enfants témoins. La créatininémie est augmentée en moyenne de 141 % chez les enfants malades par rapport aux enfants témoins, tandis que la clairance est diminuée de 39 %. La créatininémie serait donc un meilleur reflet de la fonction rénale, mais bien moins que la cystatine C qui augmente de 146 %. Dans le groupe des enfants malades, les écarts-type pour les trois paramètres sont très importants : le degré d'altération de la fonction rénale de ces enfants étant extrêmement variable, les valeurs sont donc très dispersées. Chez les enfants témoins (figure 19), il n'existe aucune corrélation ni entre la concentration en cystatine C et la clairance de la créatinine, ni entre la créatininémie et la clairance de la créatinine, ni entre la concentration en cystatine C et la créatininémie. En revanche, chez les enfants malades (figure 20), les corrélations entre créatininémie / clairance et cystatine C / clairance sont similaires.

➤ Enfants greffés / Enfants non greffés

Afin de voir si la cystatine C pourrait avoir un intérêt dans le suivi des enfants greffés, nous avons effectué la même étude comparative entre les 2 groupes d'enfants malades : greffés et non greffés. Le tableau XXVI présente les résultats de leur examen biologique.

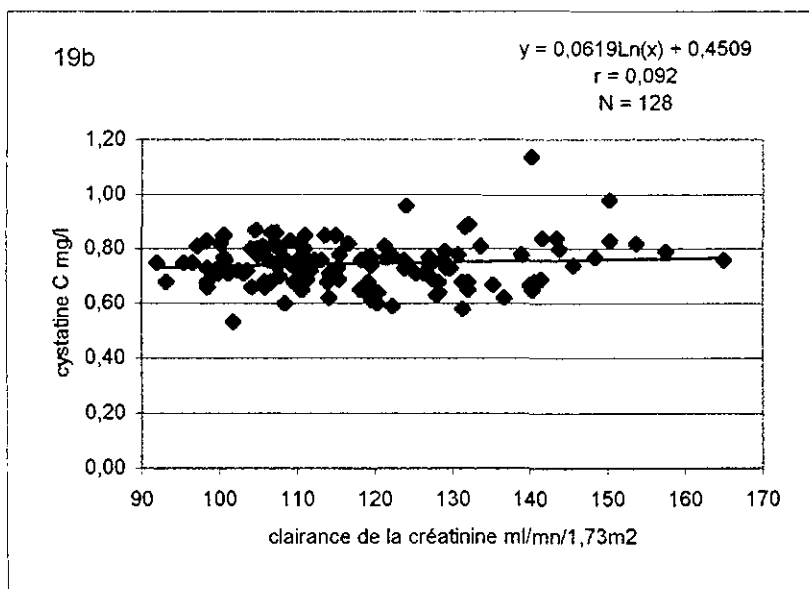
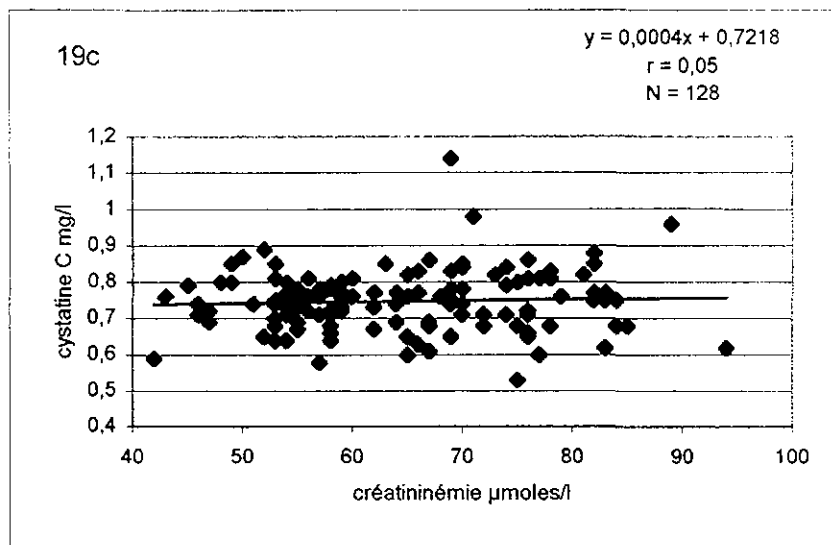
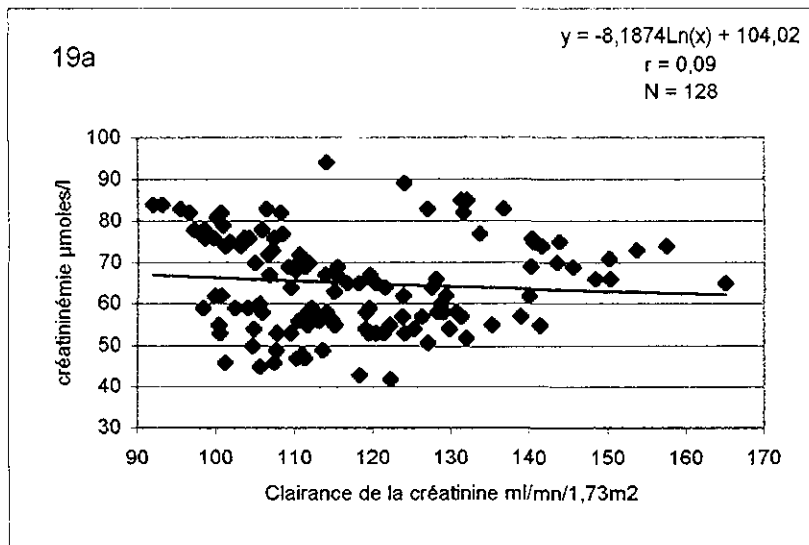


Figure 19 : Corrélation entre la clairance de la cystatine (19a), la créatinine (19b), et entre la créatinine et la cystatine (19c) chez les enfants sains

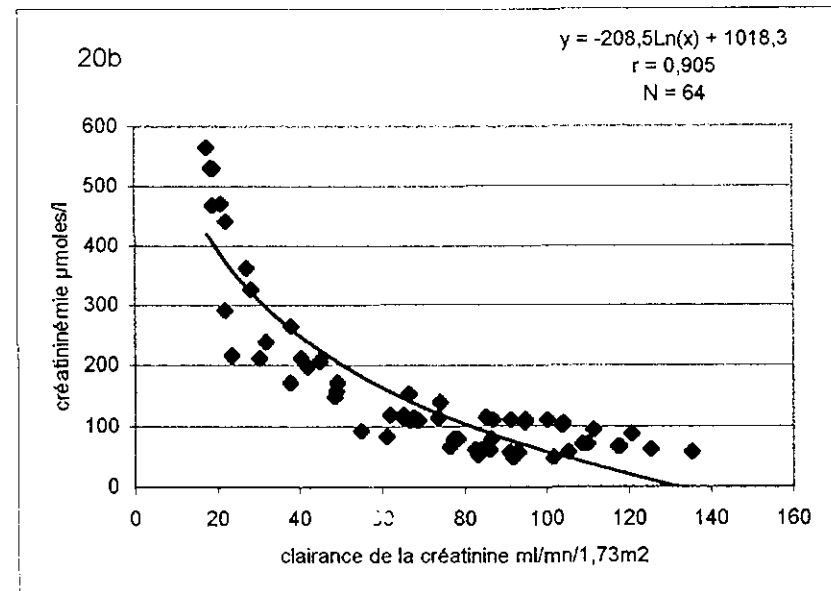
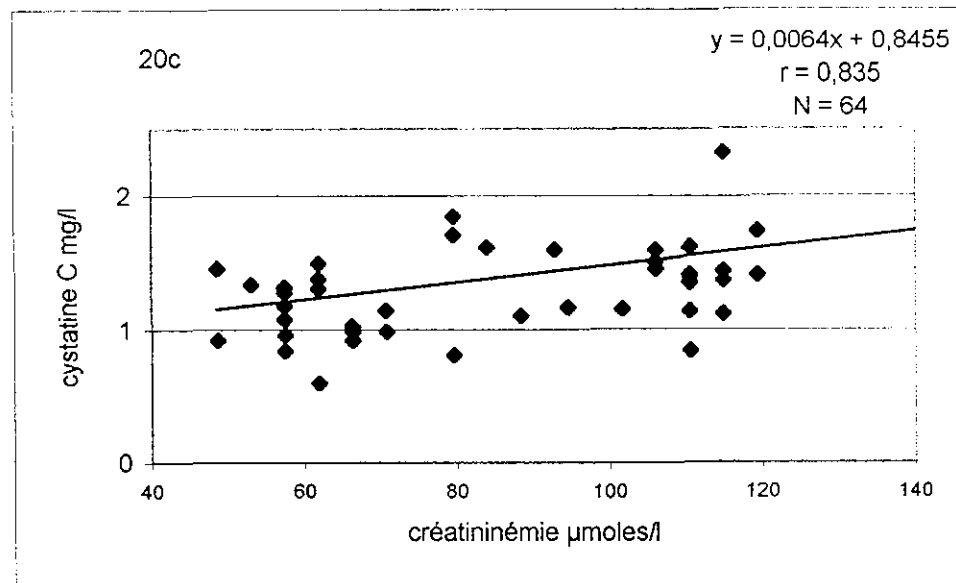
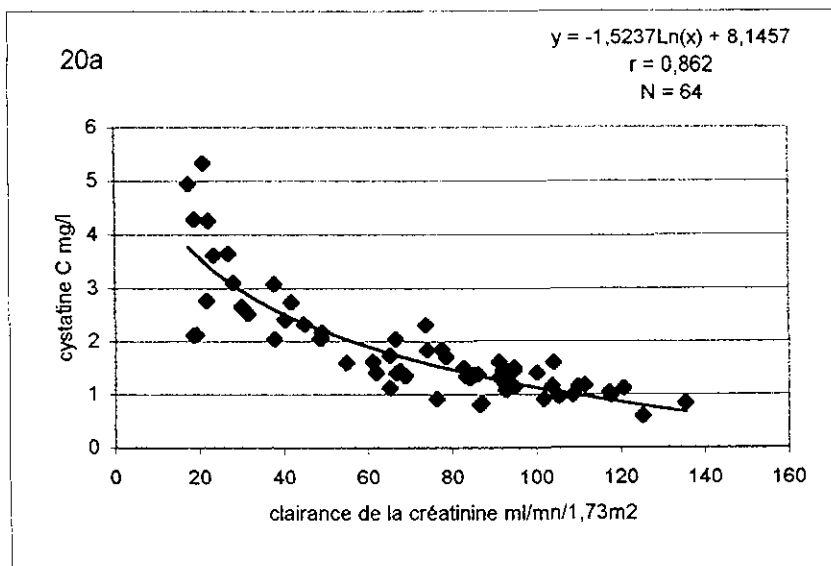


Figure 20 : Corrélation entre la clairance de la créatinine et la cystatine C (20a) et la créatinine (20b) et entre la créatinine et la cystatine C (20c) chez les enfants greffés et souffrant de pathologies rénales

Tableaux XXVI : Paramètres rénaux des enfants greffés et non greffés

	Greffés N = 37		Non greffés N = 27	
	Moyenne ± écart type	Valeurs extrêmes	Moyenne ± écart type	Valeurs extrêmes
Créatininémie (μ moles/l)	105 ± 58	49-327	229 ± 167	49-566
Clairance calculée (ml/mn/1,73m ²)	83 ± 23	28-135	55 ± 35	18-125
Cystatine C (mg/l)	1,53 ± 0,52	0,84-3,10	2,30 ± 1,32	0,6-5,33

Chez les enfants non greffés, la créatininémie et la concentration sérique en cystatine C sont nettement plus élevées que chez les enfants greffés. La créatininémie est augmentée de 118 % chez les enfants non greffés par rapport aux enfants greffés, tandis que la clairance est diminuée de 34 %. La créatininémie serait donc un meilleur reflet de la fonction rénale car la cystatine C, elle, n'augmente que de 50 %. Quant aux corrélations (figure 21), elles sont toutes correctes. Le coefficient de corrélation chez les enfants malades est semblable pour tous les paramètres comparés et les équations obtenues quasiment identiques à celles obtenues en tenant compte des enfants greffés et souffrant de pathologies rénales. Chez les enfants greffés, les corrélations sont également acceptables (figure 22) et les équations obtenues semblables à celles des enfants souffrant de pathologies rénales. Dans cette population, on peut aussi remarquer que les créatininémies sont plus basses que celles des sujets non greffés. Ces résultats signent un bon fonctionnement du rein greffé. On peut toutefois constater que certains enfants ont des clairances très basses (jusqu'à 28 ml/mn/1,73m²) et l'élimination de certaines valeurs totalement aberrantes permettent d'améliorer les corrélations.

➤ Enfants avec Cl < 50 ml/mn/1,73m² / Enfants avec Cl > 50 ml/mn/1,73m².

Nous avons ensuite différencié les enfants malades en 2 groupes : ceux dont la clairance de la créatinine est inférieure à 50 ml/mn/1,73m² (groupe 1) et ceux dont la clairance de la créatinine est supérieure à 50 ml/mn/1,73m² (groupe 2). Les valeurs de leur examen biologique ont été présentées au tableau XXVII.

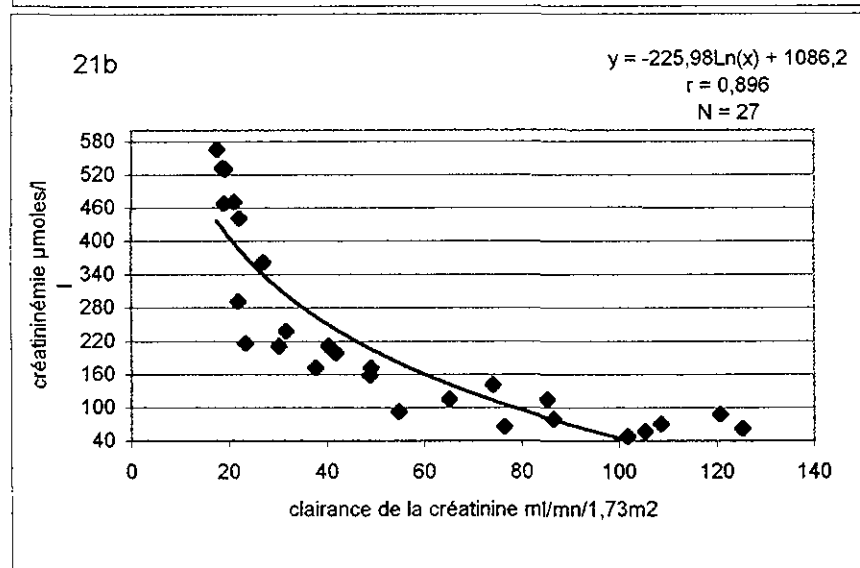
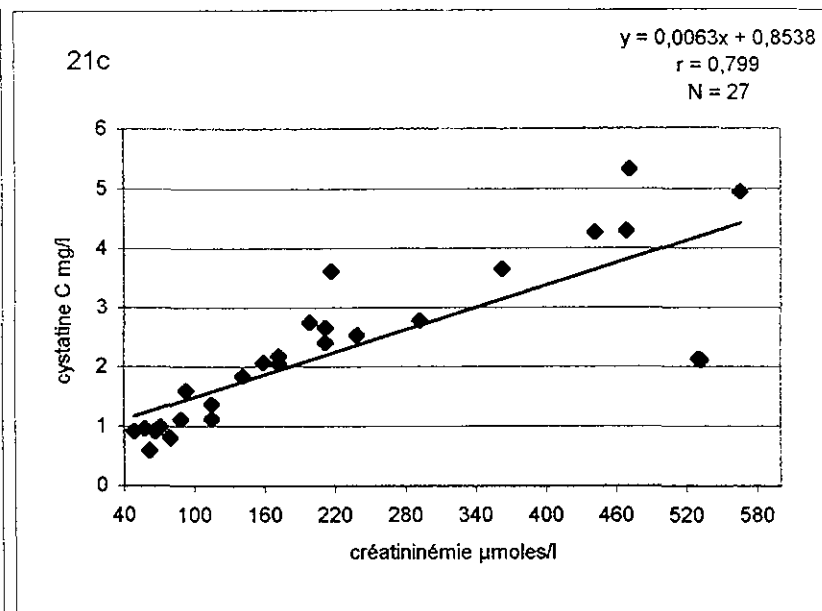
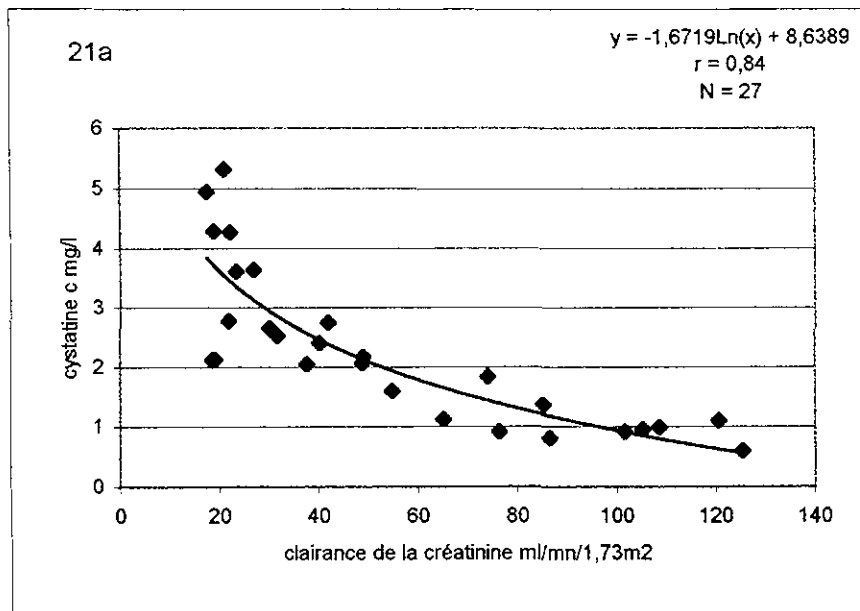


Figure 21 : Corrélation entre la clairance de la créatinine et la cystatine (21a) et la créatinine (21b) et entre la créatinine et la cystatine C (21c) chez les enfants souffrant de pathologies rénales,

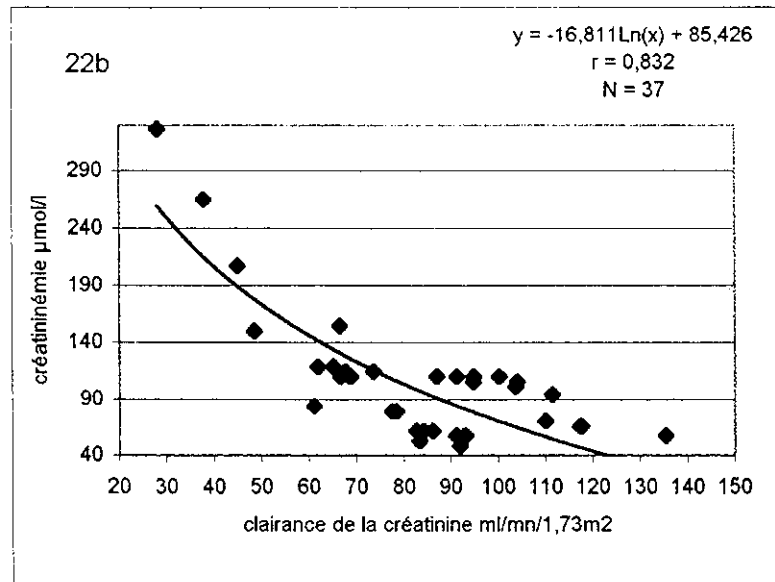
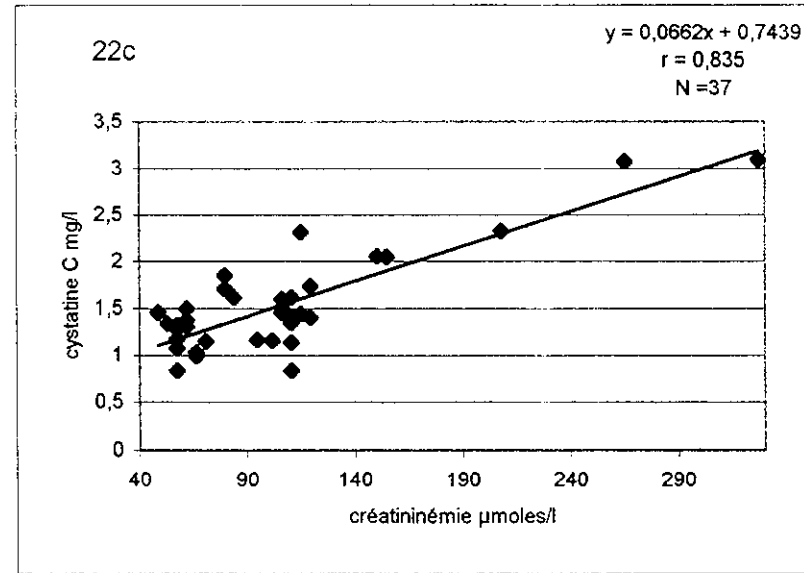
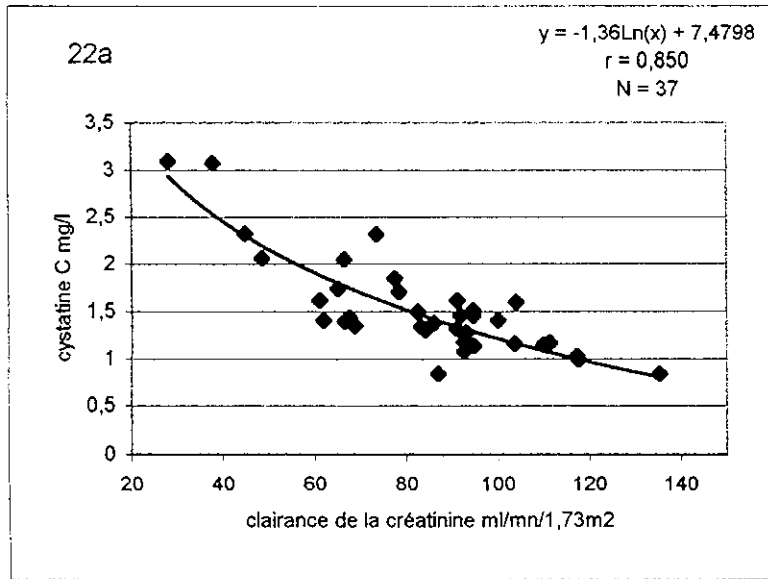


Figure 22: Corrélation entre la clairance de la créatinine et la cystatine C (22a), et la créatinine (22b) et entre la créatinine et la cystatine C (22c) chez les enfants greffés.

Tableau XXVII : Paramètres rénaux des enfants selon la clairance de la créatinine.

	Groupe 1 N = 20		Groupe 2 N = 44	
	Moyenne ± écart type	Valeurs extrêmes	Moyenne ± écart type	Valeurs extrêmes
Créatininémie (μ moles/l)	310 ± 141	150-566	88 ± 27	49-141
Clairance calculée (ml/mn/1,73m ²)	31 ± 11	18-49	89 ± 19	55-125
Cystatine C (mg/l)	3,00 ± 1,00	2,05-5,33	1,32 ± 0,35	0,6-2,32

Chez les enfants appartenant au groupe 1, la créatininémie et la concentration sérique en cystatine C sont nettement plus élevées que chez les enfants du groupe 2 (tableau XXV). La créatininémie augmente de 252 % dans le groupe 1 par rapport au groupe 2, tandis que la clairance diminue de 65 %. La créatininémie serait donc un meilleur reflet de la fonction rénale car la cystatine C, elle, n'augmente que de 127 %. Quant aux corrélations, chez les enfants dont la clairance de la créatinine est inférieure à 50 ml/mn/1,73m², elles sont toutes correctes (figure 23). Toutefois, le coefficient de corrélation semble meilleur entre la créatininémie et la clairance de la créatinine ($r = 0,885$) qu'entre la cystatine et la clairance de la créatinine ($r = 0,61$). Les équations sont également semblables aux précédentes. En revanche, chez les enfants dont la clairance de la créatinine est supérieure à 50ml/mn/1.73m², les corrélations sont médiocres (figure 24). Tous les coefficients de corrélation sont bien meilleurs quand la clairance de la créatinine est inférieure à 50 ml/mn/1.73m² (dans tous les cas $r < 0,6$).

Seuls Bökenkamp et al (4) ont montré que la mesure de la cystatine C sérique n'était pas très probante, en particulier lors de transplantation rénale. En effet, mesurée chez 100 enfants transplantés rénaux, celle-ci est augmentée comparativement à des enfants non transplantés dont la filtration glomérulaire est identique. La différence entre les deux groupes, pour la cystatine C est significative ($p = 0,002$), mais pas pour la clairance à l'inuline ($p = 0,423$). **La cystatine C chez les personnes non transplantées sous estime de 25 % la fonction rénale.** ce qui confirme les résultats d'une étude précédente (5). Cette augmentation en cas de transplantation, pourrait être due à :

- des interférences entre la cystatine C et les immunosuppresseurs utilisés comme substances anti-rejet.

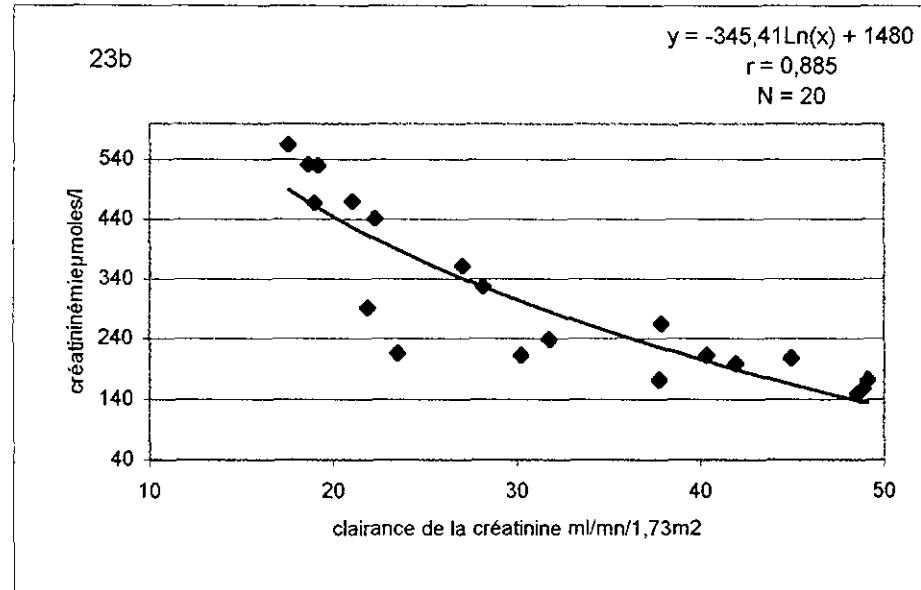
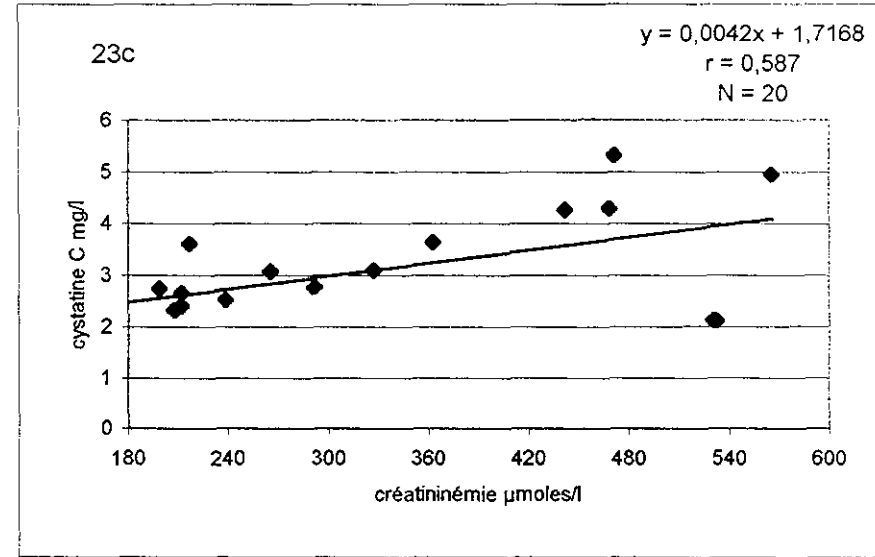
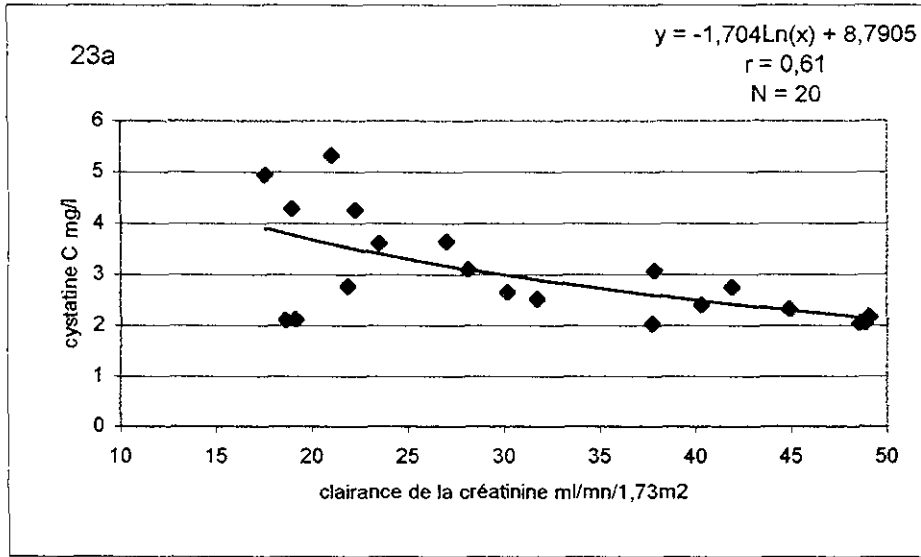


Figure 23 : Corrélation entre la clairance de la créatinine et la cystatine (23a), et la créatininémie (23b) et entre la créatininémie et la clairance de la créatinine (23c) chez les enfants dont la clairance est inférieure à 50ml/mn/1,73m²

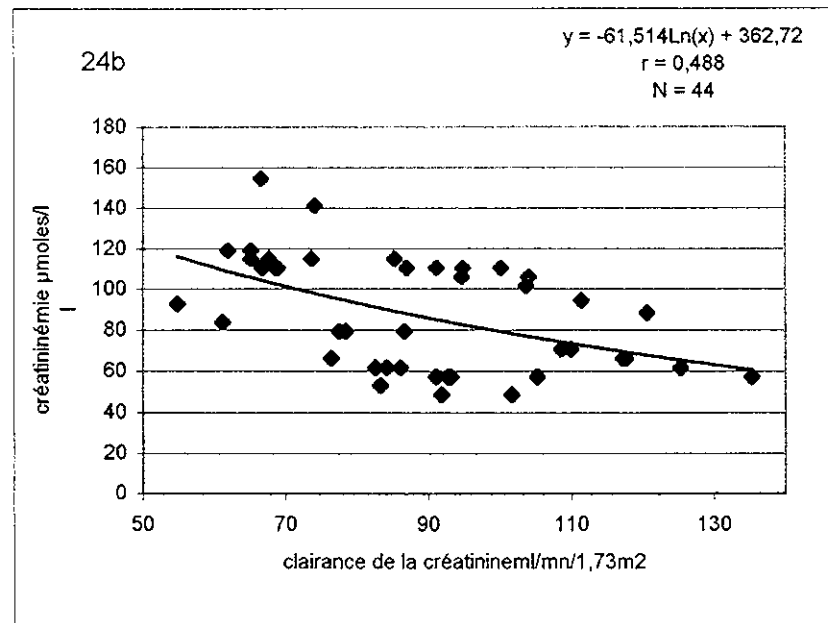
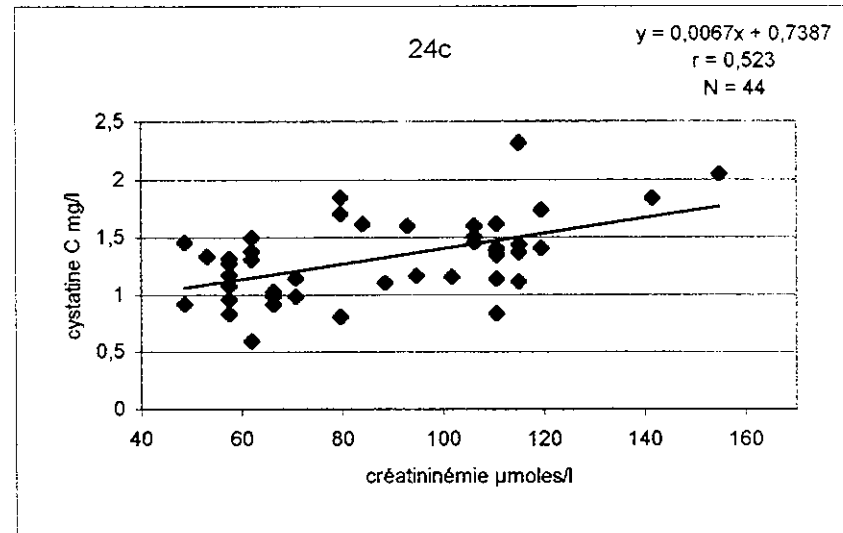
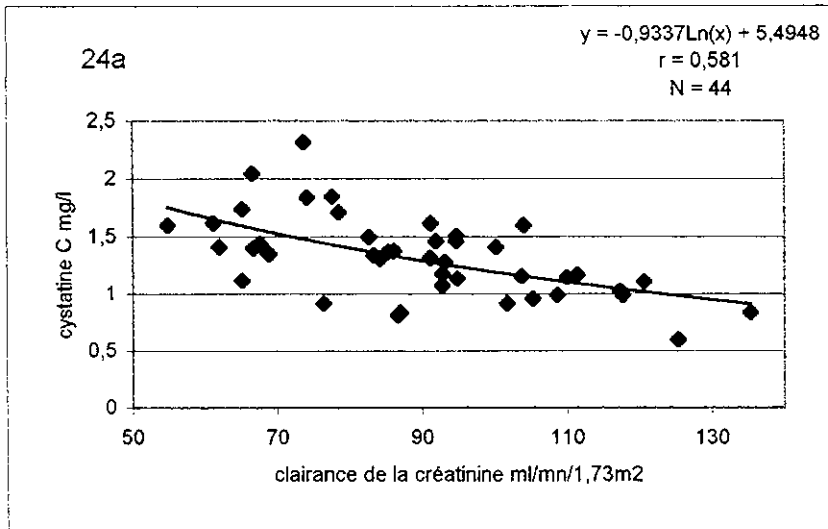


Figure 24 : Corrélation entre la clairance de la créatinine et la cystatine C (24a), et la créatininémie (24b), et entre la créatininémie et la cystatine C (24c) chez les enfants dont la clairance de la créatinine est supérieure à 50 ml/mn/1,73m²

- des altérations des cellules tubulointerstitielles qui libèreraient de la cystatine C
- une mauvaise filtration de la cystatine C du fait de sa liaison possible avec des protéines

Différents facteurs pouvant jouer un rôle sur la cystatine C ont été testés, notamment la ciclosporine A, la prednisolone, une dose de charge en corticostéroïdes, différentes drogues immunosuppressives ou la lipémie mais aucun ne s'est avéré en cause. Un mécanisme, lié à l'allogreffe, pourrait être évoqué celle-ci étant à l'origine de la production d'anticorps pouvant, éventuellement, se lier à la cystatine et empêcher sa filtration. Ceci se produirait donc quelle que soit la transplantation.

En revanche, d'après Le Bricon et al (46) la cystatine C est un meilleur marqueur de la fonction rénale chez les adultes ayant subi une transplantation rénale (45) et tout spécialement lors des épisodes de rejet. La clairance de la créatinine et la créatininémie, mesurées chez 25 patients, sont toutes deux de mauvaises méthodes d'estimation du DFG car elles le surestiment et 30 à 40 % de personnes malades ne sont pas détectées, mais les coefficients de corrélation sont corrects. La corrélation entre la clairance à l'EDTA et la cystatine C est meilleure ($r = 0,879$) et cette technique permet de dépister toutes les personnes malades. Au cours de la première semaine suivant la transplantation, la concentration en cystatine C diminue plus significativement pour la cystatine C que pour la créatinine. Mais au cours des trois premières semaines suivant la transplantation elle ne semble pas être un meilleur marqueur que la créatininémie. Néanmoins, la cystatine C serait un bon reflet de la filtration glomérulaire au cours d'une transplantation rénale car elle est indépendante de l'âge, du sexe, de la surface corporelle et de plus, elle est facile à doser. De même, d'après Hayashi et al (31), sur 26 personnes adultes souffrant de pathologies rénales la cystatine, reflète correctement toute diminution du DFG. Les études statistiques montrent que la cystatine C permet d'améliorer le diagnostic d'altération de la fonction rénale : les techniques de dosages de la cystatine C étant plus fiables que celles de la créatinine. D'après Uhlman et al (81), la cystatine C semblerait également être un marqueur très utile en clinique courante, toutes leurs corrélations étant, comme les nôtres, excellentes ($r > 0,8$).

En unité de soins intensifs, chez des adultes, Le Bricon et al (44) ont aussi trouvé des corrélations acceptables entre les mêmes paramètres que ceux que nous avons étudiés. La cystatine C, plus sensible et plus spécifique, donnerait toutefois de meilleurs résultats pour la mesure du DFG que la créatininémie. Pour Bökenkamp et al (6), la cystatine C serait aussi un meilleur marqueur pour évaluer la fonctionnalité d'un rein greffé après transplantation : juste après la transplantation, chez les enfants dont le greffon sera, par la suite, fonctionnel, la cystatine C diminue beaucoup plus rapidement que la créatinine : cette dernière étant

relarguée par les tubules. Cependant, comme ils l'avait déjà constaté précédemment, la cystatine C semble plus élevée et sous estime le DFG de 40 % en cas de transplantation rénale. D'après Tian et al (80), la cystatine C sérique, mesurée chez des adultes en bonne santé et souffrant de pathologies rénales diverses commence à augmenter quand la créatininémie devient inférieure à 94,4 ml/min/1,73m² alors que la créatinine paraît normale à 10 mg/l : en effet, la valeur limite « haute » pour la cystatine est de 1,03mg/l, ce qui correspond à une clairance de la créatinine de 94,4 ml/min et à une créatininémie de 10mg/l. La cystatine C serait donc un marqueur plus précoce d'une détérioration de la fonction rénale.

Nos résultats sont plutôt corroborés avec ceux de Stickle et al (78) : la cystatine C n'est pas un meilleur marqueur de la diminution de la filtration glomérulaire que la créatinine. Chez les enfants d'enfants souffrant de pathologies variées, les mesures de la créatininémie et de la cystatine C sérique semblent être équivalentes pour évaluer une légère altération de la fonction rénale. Les corrélations entre les différents paramètres sont, tout comme les nôtres, excellentes. De même, d'après Lee et al (47), la cystatine C, mesurée sur un grand échantillon de personnes saines et malades ne semblerait augmenter que dans le cas de pathologies rénales, cancers, affections cardiaques, diabète, hypertension artérielle et la différence entre la créatininémie et la cystatine C sérique n'est pas significative. Selon Page et al (65), chez les personnes souffrant de pathologies rénales, la valeur diagnostique de la cystatine C ne semble pas non plus révéler des résultats très probants. D'après Mussap et al. (58), la cystatine C semble au contraire être un marqueur très prometteur pour détecter une réduction modérée du DFG et chez les adultes sains, il n'existe aucune corrélation ni entre la clairance de la créatinine et la concentration en cystatine C, ni entre la concentration en cystatine C et la créatininémie. En revanche, chez les adultes malades ayant une clairance de la créatinine inférieure à 80 ml/mn/1,73m², il existe une corrélation significative entre la clairance de la créatinine et la concentration en cystatine C : ces résultats coïncident donc avec les nôtres.

D'après Muller F. (56), la cystatine C pourrait également être utilisée dans un autre contexte, pour détecter l'uropathie fœtale obstructive, anomalie fréquemment détectée par un diagnostic prénatal aux ultrasons. A ce jour, aucune méthode n'est facile à mettre en œuvre et la mesure de la créatininémie fœtale est inutilisable car la créatinine est filtrée par les reins de la mère, et elle traverse le placenta. Actuellement, on utilise le sodium, le chlorure, le calcium, le phosphore, la β 2 microglobuline pour détecter cette pathologie : la cystatine C pourrait donc peut-être bientôt y trouver également sa place.

Nous pouvons donc penser que la cystatine C n'apporte aucun avantage flagrant sur la créatinine, les corrélations ne devenant significatives que si l'état du malade est

défavorable (CI < 50) : nous n'avons pas trouvé que la cystatine C serait un marqueur plus précoce de l'altération du DFG.

2.2. Etude de l'évolution dans le temps des marqueurs biologiques chez 6 enfants

Nous avons cherché dans cette étude, à déterminer si les variations de la cystatine C présentent plus d'intérêt que celles de la créatinine ou de sa clairance en fonction de l'état du patient. Nous avons choisi un enfant : MAX, malade dont la fonction rénale se modifie au cours du temps, et 5 enfants, malades ou greffés, mais dont la maladie ne progresse pas, et ayant subi au moins 3 examens sur la même période.

Quand on étudie les graphes présentant l'évolution de la cystatine C sérique et de la créatininémie en fonction du temps (figure 25) on constate que les courbes sont quasiment parallèles ce qui signifierait que cystatine C et créatinine varient de la même façon. Par exemple, l'enfant BA dont la créatinine est la plus élevée présente une cystatine sérique supérieure à celle des autres enfants. De même, pour l'enfant Max, l'évolution de la créatinine et de la cystatine C est tout à fait parallèle.

La cystatine C sérique varie dans les mêmes proportions et donc ne présente pas d'intérêt dans le suivi à long terme.

Dans un deuxième temps nous avons calculé les pourcentages d'augmentation et diminution relatives pour chaque point de la cystatine et de la créatinine et calculer le rapport créatinine/cystatine, mais les résultats se sont avérés peu intéressants car cystatine C et créatinine varient dans les mêmes proportions (annexe 2). Nous n'avons pas pu comparer nos résultats à ceux de la littérature, car, à ce jour, aucune étude de ce type n'a été réalisée.

2.3. Etude de la sensibilité et de la spécificité épidémiologique

Pour évaluer la valeur diagnostique d'une méthode de dépistage, il s'agit de comparer les résultats du test chez les sujets atteints de la maladie que l'on cherche à dépister et chez ceux qui ne le sont pas. Pour cela, il faut disposer de critères de référence permettant de définir de façon précise les malades et les non malades. Afin de décrire les qualités d'un test de dépistage, on peut calculer deux paramètres : la sensibilité et la spécificité.

- La sensibilité est le pourcentage de malades reconnus comme tels (vrais positifs), elle se détermine à partir d'un échantillon de malades.

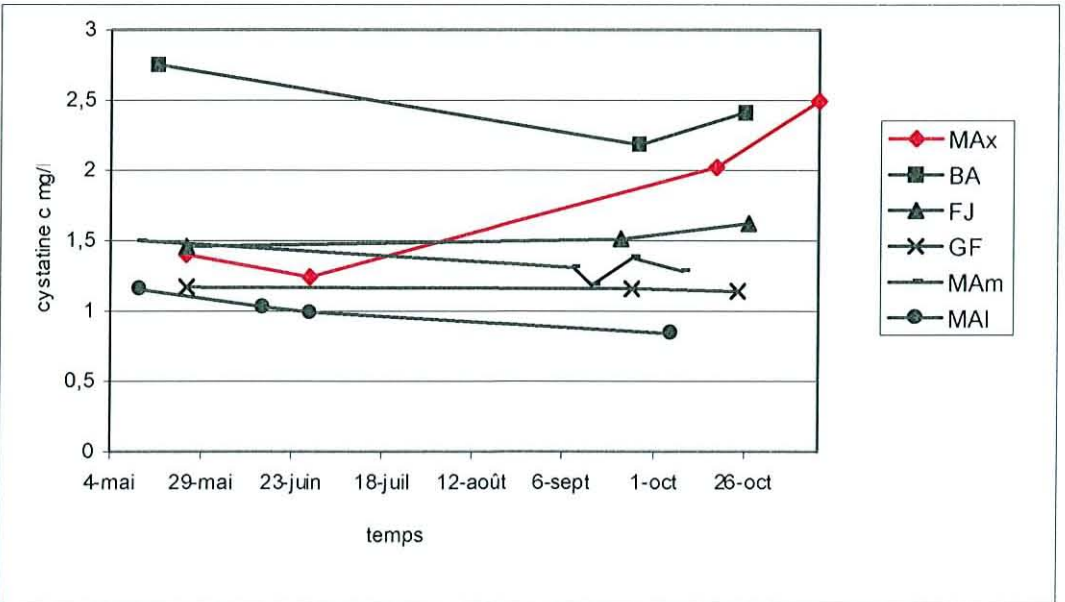
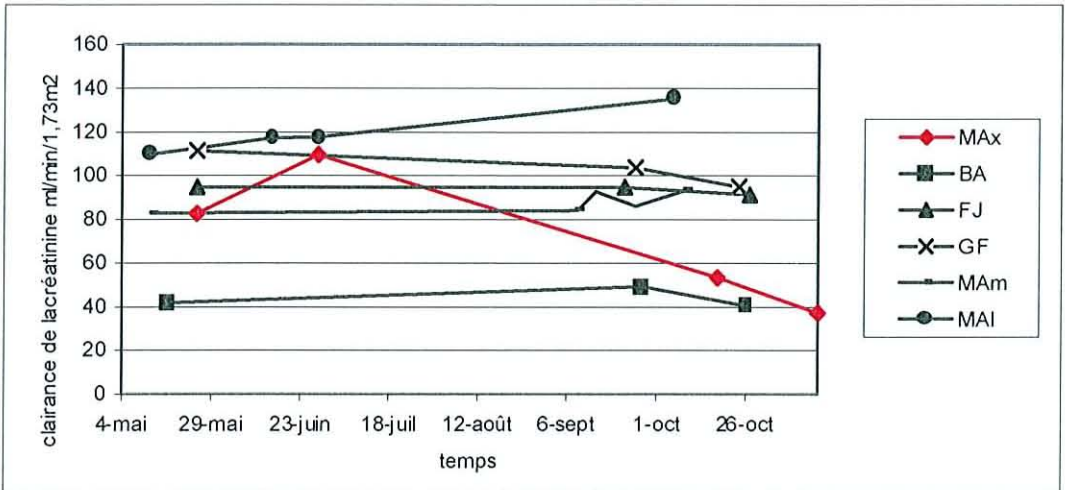
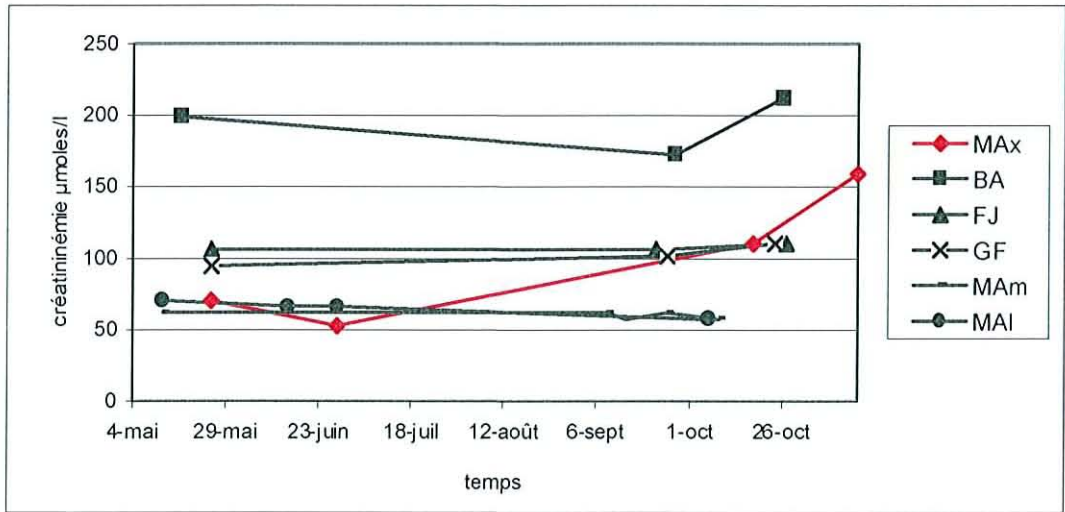


Figure 25 : Evolution de la créatininémie, de la concentration en cystatine C et de la clairance de la créatinine chez six enfants malades en fonction du temps.

La courbe en rouge représente un enfant dont la fonction rénale se dégrade.

- La spécificité est le pourcentage de non reconnus comme tels (vrais négatifs), elle se détermine à partir d'un échantillon de non malades.

La courbe ROC (Receiver Operating Characteristics) présentée à la figure 26 s'établit de la façon suivante :

- On se fixe un seuil de créatininémie ou de concentration en cystatine C
- On sépare les enfants malades et les enfants témoins
- On compte le nombre d'enfants malades et témoins selon le tableau suivant :

		Malades	Non malades	Total
Résultat du test	+	a	b	n ₁
	-	c	d	n ₀
Total		m ₁	m ₀	n

On construit la courbe ROC par le calcul de la sensibilité et de la spécificité

$$\text{Sensibilité} = a / m_1$$

$$\text{Spécificité} = d / m_0$$

Deux autres indices peuvent être calculés :

- La valeur prédictive positive (VPP) : elle représente le pourcentage de sujets malades parmi les sujets ayant un test positif

$$\text{VPP} = a / n_1$$

- La valeur prédictive négative (VPN) : elle représente le pourcentage de sujets non malades parmi les sujets ayant un test négatif

$$\text{VPN} = d / n_0$$

Exemple:

Pour un seuil de cystatine C fixé à 0,6 mg/l:

		Malades	Témoins	Total
Résultat du test	> 0,6	63	123	186
	≤ 0,6	1	5	6
Total		64	128	192

$$\text{Sensibilité} = 63 / 64 = 0,98$$

$$\text{Spécificité} = 5 / 128 = 0,39$$

$$\text{VPP} = 63 / 186 = 0,34$$

$$\text{VPN} = 5 / 6 = 0,83$$

Pour un seuil de créatininémie fixé à 45 $\mu\text{moles/l}$:

		Malades	Témoins	Total
Résultat du test	> 45	64	125	189
	\leq 45	0	3	3
Total		64	128	192

$$\text{Sensibilité} = 64 / 64 = 1$$

$$\text{Spécificité} = 3 / 3 = 1$$

$$\text{VPP} = 64 / 189 = 0,34$$

$$\text{VPN} = 3 / 3 = 1$$

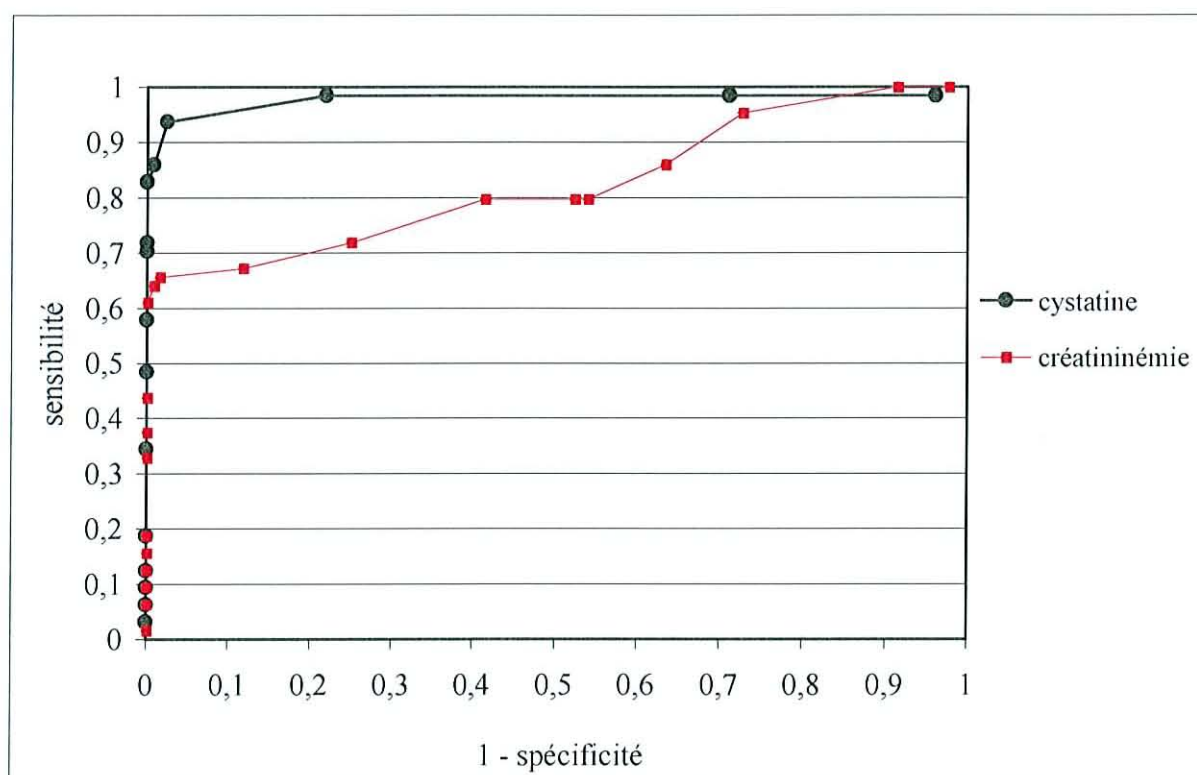


Figure 26 : Courbe ROC montrant l'évolution de la sensibilité, la spécificité de la cystatine C sérique et de la créatininémie chez les enfants témoins et malades.

Cette étude de la courbe ROC (figure 26) est très révélatrice : la cystatine C sérique est une méthode de diagnostic bien plus sensible et spécifique que la créatininémie en particulier lorsque la fonction rénale est moyennement altérée. Nous avons ensuite calculé les valeurs prédictives positives et négatives pour la cystatine C et la créatininémie à différentes concentrations choisies arbitrairement (tableau XXVIII).

Tableau XXVIII : Valeur prédictive positive et valeur prédictive négative de la cystatine C (mg/l) et de la créatininémie ($\mu\text{mol/l}$)

	Concentration	VPP	VPN
Cystatine C (mg/l)	0,8	0,70	0,99
	0,9	0,95	0,97
	1,3	1	0,87
Créatininémie ($\mu\text{mol/l}$)	80	0,74	0,84
	85	0,95	0,85
	92	0,97	0,95
	100	1	0,84

On constate que la cystatine C possède une valeur diagnostique de dépistage bien supérieure à celle de la créatinine.

En ce qui concerne la spécificité et la sensibilité de la cystatine, les résultats de la littérature, comparés aux nôtres sont présentés au tableau XXIX. D'après Meier et al (51), les valeurs « critiques » pour définir s'il y a altération de la fonction rénale ou non sont d'environ 0,96 mg/l pour la cystatine C sérique et de 92 $\mu\text{mol/l}$ pour la créatininémie.

Tableau XXIX : Sensibilité et spécificité comparées de la cystatine C et de la créatinine

	Concentration	Sensibilité	Spécificité	N	Référence
Cystatine C (mg/l)	0,96	0,94	0,95	75	51
	0,96	0,96	0,65	138	65
	0,96	0,89	0,99	192	<i>Cette étude</i>
	1,2	0,8	0,91	26	78
	1,33	1	0,87	72	77
Créatininémie ($\mu\text{mol/l}$)	80	0,91	0,91	26	78
	92	0,64	0,99	192	<i>Cette étude</i>
	92	0,86	0,91	75	51
	97	0,63	0,95	138	65
	101	0,61	0,98	72	91

Les résultats ne vont pas tous dans le même sens : plus la filtration glomérulaire est diminuée, plus la sensibilité et la spécificité de la cystatine C et de la créatininémie devraient être élevées, mais en vérité, les résultats sont plutôt discordants. En effet, Page et al (65) trouvent une spécificité assez faible pour une concentration en cystatine C de 0,96 mg/l (0,65). Cette étude s'est pourtant réalisée sur un nombre de sujets convenable (N = 138), mais les auteurs n'ont pas tracé les courbes ROC correspondant à leurs mesures . Globalement, nos résultats corroborent ceux de la littérature : la supériorité de la cystatine est due à sa plus grande sensibilité et sa plus grande spécificité. Nous avons trouvé que pour une altération moyenne de la filtration glomérulaire (créatininémie de 90 μ mol/l et cystatine C sérique de 1 mg/l), la cystatine C était plus sensible et spécifique que la créatinine. Stickle et al (78) ont prouvé ceci, quel que soit l'âge des enfants (4-12 ans ou 12-19 ans). Selon Page et al (65), la cystatine C est également plus sensible et spécifique quels que soient le sexe ou la pathologie (cancer, transplantation). Pour le même auteur (65), la valeur prédictive négative de la cystatine C est supérieure à la valeur prédictive négative de la créatininémie dans toute situation clinique (96,3 % contre 78,8 %). En revanche, la valeur prédictive positive de la créatinine est meilleure pour la créatininémie que pour la cystatine C (0,9 contre 0,65). En cas de néphropathie diabétique, d'après Mojiminiyi et al (54), la cystatine C serait également un meilleur marqueur que la créatinine car, comparé à la microalbuminurie, sa spécificité est de 1 et sa sensibilité de 0,4.

On peut donc conclure que pour une diminution modérée de la fonction rénale, la cystatine C serait plus sensible et plus spécifique que la créatinine, ce qui la rend intéressante, car les valeurs moyennement élevées de créatininémie sont souvent difficiles à interpréter.

CONCLUSION

Nous avons établi des valeurs de référence pour la cystatine C sérique : chez les enfants et les personnes âgées, elle ne varie pas en fonction du sexe, mais chez les adultes âgés de 20 à 59 ans, on définit une moyenne distincte pour les hommes et pour les femmes. En ce qui concerne les variations dues à l'âge, on peut conclure que la cystatine C est plus élevée chez les enfants, qu'elle diminue chez l'adulte, puis qu'elle augmente à nouveau après 60 ans, probablement à cause du vieillissement physiologique des reins.

En pathologie, actuellement, l'évaluation de la fonction rénale se réalise principalement par la mesure de la créatinémie. Celle-ci possède l'avantage de varier peu en fonction des états pathologiques sauf en cas d'insuffisance rénale, d'être facile à mettre en œuvre, d'avoir un prix de revient peu élevé. En revanche, les interférences analytiques et les variations biologiques sont nombreuses. Elle est, par conséquent, assez mal adaptée à l'évaluation de la fonction rénale particulièrement chez l'enfant. La mesure de la clairance de la créatinine sur les urines des 24 heures étant difficilement réalisable, surtout chez les enfants, on doit estimer la filtration glomérulaire par calcul de cette clairance à partir de la créatinine plasmatique. Mais ce calcul est peu satisfaisant.

Quant à la mesure de la cystatine C plasmatique, notre étude montre qu'en pathologie rénale, comme en cas de transplantation, les résultats sont semblables à ceux obtenus par la mesure de la créatininémie. Elle nécessite certes plus de temps, a un prix de revient plus élevé, en revanche, les agents interférents sont peu nombreux et surtout c'est une méthode plus sensible et plus spécifique d'un point de vue épidémiologique que la mesure de la créatinémie. A partir d'une créatininémie de 92 $\mu\text{mol/l}$ et jusqu'à 145 $\mu\text{mol/l}$ les valeurs deviennent difficiles à interpréter : y-a-t-il oui ou non insuffisance rénale ? Quand la créatininémie est basse ou élevée aucun examen supplémentaire n'est nécessaire, en revanche dans ces valeurs la cystatine C deviendrait intéressante. Si la cystatine est inférieure à 0,9 mg/l on peut considérer que le sujet a une bonne fonction rénale mais si elle est supérieure à 0,9 mg/l le sujet a sa fonction rénale altérée.

Annexes

Annexe 1 : Résultats biologiques obtenus chez les enfants.

Enfants du CMP

n° tube apparié	âge	sexe	poids (kg)	Taille (m)	BMI	T (cm)	créatininémie $\mu\text{mol/l}$	créatininémie mg/l	K	clairance (ml/mn/1,73m ²)	cystatine mg/l
8	4	F	16,30	1,08	13,97	108,00	47,00	5,31	48	110,30	0,72
3	4	F	20,60	1,10	17,02	110,00	49,00	5,54	48	107,76	0,80
36	4	F	14,20	0,99	14,49	99,00	45,00	5,09	48	105,60	0,79
8	4	F	17,00	1,06	15,13	106,00	43,00	4,86	48	118,33	0,76
62	4	M	19,00	1,11	15,42	111,00	53,00	5,99	48	100,53	0,85
34	4	M	13,00	0,97	13,82	97,00	46,00	5,20	48	101,22	0,71
86	4	M	18,80	1,09	15,82	109,00	50,00	5,65	48	104,64	0,87
36	4	M	14,50	1,03	13,67	103,00	46,00	5,20	48	107,48	0,74
86	5	F	18,20	1,09	15,32	109,00	47,00	5,31	48	111,32	0,69
40	5	M	20,30	1,11	16,48	111,00	48,00	5,42	48	111,00	0,80
64	5	M	20,40	1,19	14,41	119,00	53,00	5,99	48	107,77	0,70
75	5	M	20,10	1,16	14,94	116,00	49,00	5,54	48	113,63	0,85
64	6	F	19,90	1,18	14,29	118,00	54,00	6,10	48	104,89	0,80
34	6	F	21,10	1,21	14,41	121,00	53,00	5,99	48	109,58	0,68
75	6	F	20,00	1,15	15,12	115,00	55,00	6,22	48	100,36	0,73
40	6	F	20,30	1,07	17,73	107,00	42,00	4,75	48	122,29	0,59
3	7	F	30,50	1,28	18,62	128,00	55,00	6,22	48	111,71	0,75
15	7	F	28,80	1,26	18,14	126,00	59,00	6,67	48	102,51	0,72
62	7	M	23,60	1,21	16,12	121,00	59,00	6,67	48	98,44	0,73
24	7	M	28,50	1,34	15,87	134,00	54,00	6,10	48	119,11	0,64
15	7	M	29,80	1,29	17,91	129,00	62,00	7,01	48	99,87	0,73
38	8	F	24,40	1,28	14,89	128,00	59,00	6,67	48	104,14	0,80

93	8	F	27,00	1,33	15,26	133,00	53	5,99	48	120,45	0,64
37	8	F	33,00	1,32	18,94	132,00	53	5,99	48	119,55	0,74
24	8	F	28,20	1,28	17,21	128,00	58	6,55	48	105,93	0,66
7	8	F	30,60	1,32	17,56	132,00	55	6,22	48	115,20	0,73
37	8	M	30,70	1,29	18,45	129,00	56	6,33	48	110,57	0,81
38	8	M	25,50	1,32	14,63	132,00	56	6,33	48	113,14	0,76
7	8	M	29,20	1,32	16,76	132,00	60	6,78	48	105,60	0,81
39	8	M	34,60	1,37	18,43	137,00	53	5,99	48	124,08	0,75
39	9	F	38,20	1,43	18,68	143,00	52	5,88	48	132,00	0,65
52	9	F	37,50	1,43	18,34	143,00	52	5,88	48	132,00	0,89
52	9	F	33,10	1,34	18,43	134,00	53	5,99	48	121,36	0,81
59	9	M	34,60	1,34	19,27	134,00	54	6,10	48	119,11	0,77
68	9	M	33,00	1,34	18,38	134,00	56	6,33	48	114,86	0,72
88	9	M	27,70	1,30	16,39	130,00	62	7,01	48	100,65	0,77
59	9	M	34,30	1,40	17,50	140,00	55	6,22	48	122,18	0,78
16	9	M	29,50	1,35	16,19	135,00	51	5,76	48	127,06	0,74
16	10	F	31,20	1,38	16,38	138,00	58	6,55	48	114,21	0,71
85	10	F	35,00	1,44	16,88	144,00	58	6,55	48	119,17	0,68
88	10	F	33,20	1,41	16,70	141,00	54	6,10	48	125,33	0,71
17	10	M	27,50	1,38	14,44	138,00	59	6,67	48	112,27	0,76
17	10	M	25,90	1,35	14,21	135,00	58	6,55	48	111,72	0,72
68	10	M	39,10	1,46	18,34	146,00	64	7,23	48	109,50	0,74
93	11	F	44,70	1,65	16,42	165,00	57	6,44	48	138,95	0,78
13	11	F	52,20	1,61	20,14	161,00	60	6,78	48	128,80	0,76
30	11	F	52,90	1,62	20,16	162,00	55	6,22	48	141,38	0,69
85	11	F	35,60	1,46	16,70	146,00	54	6,10	48	129,78	0,73
27	11	F	42,40	1,50	18,84	150,00	57	6,44	48	126,32	0,71
91	11	F	51,50	1,56	21,16	156,00	58	6,55	48	129,10	0,79

29	11	M	48,80	1,53	20,85	153,00	70	7,91	48	104,91	0,78
30	12	F	50,10	1,57	20,33	157,00	69	7,80	48	109,22	0,83
29	12	F	46,80	1,56	19,23	156,00	57	6,44	48	131,37	0,58
27	12	F	42,20	1,49	19,01	149,00	67	7,57	48	106,75	0,86
13	12	M	43,70	1,47	20,22	147,00	59	6,67	48	119,59	0,77
67	13	F	36,00	1,51	15,79	151,00	63	7,12	48	115,05	0,85
67	13	F	37,10	1,55	15,44	155,00	58	6,55	48	128,28	0,68
2	18	F	41,20	1,60	16,09	160,00	72	8,14	48	106,67	0,68
31	13	F	42,90	1,58	17,18	158,00	58	6,55	48	130,76	0,78
31	13	F	43,20	1,58	17,30	158,00	65	7,35	48	116,68	0,82
46	14	F	44,70	1,62	17,03	162,00	70	7,91	48	111,09	0,85
41	14	F	47,50	1,55	19,77	155,00	58	6,55	48	128,28	0,64
61	13	F	47,60	1,60	18,59	160,00	65	7,35	48	118,15	0,65
61	19	F	48,10	1,58	19,27	158,00	78	8,81	48	97,23	0,81
41	13	F	48,20	1,47	22,31	147,00	57	6,44	48	123,79	0,76
46	13	F	48,40	1,67	17,35	167,00	62	7,01	48	129,29	0,73
55	15	F	50,10	1,56	20,59	156,00	76	8,59	48	98,53	0,66
19	15	F	50,10	1,63	18,86	163,00	65	7,35	48	120,37	0,60
48	19	F	51,00	1,65	18,73	165,00	83	9,38	48	95,42	0,75
78	17	F	51,60	1,67	18,50	167,00	67	7,57	48	119,64	0,61
71	13	F	52,00	1,56	21,37	156,00	68	7,68	48	110,12	0,76
82	18	F	52,60	1,62	20,04	162,00	64	7,23	48	121,50	0,77
71	14	F	52,80	1,55	21,98	155,00	55	6,22	48	135,27	0,67
89	19	F	53,00	1,72	17,92	172,00	82	9,27	48	100,68	0,85
82	18	F	53,30	1,60	20,82	160,00	78	8,81	48	98,46	0,68
74	19	F	53,40	1,56	21,94	156,00	74	8,36	48	101,19	0,71
26	18	F	53,80	1,61	20,76	161,00	84	9,49	48	92,00	0,75
48	14	F	53,90	1,66	19,56	166,00	69	7,80	48	115,48	0,78

26	15	F	53,90	1,61	20,79	161,00	70	7,91	48	110,40	0,74
44	19	F	54,60	1,58	21,87	158,00	76	8,59	48	99,79	0,71
44	18	F	54,80	1,59	21,68	159,00	75	8,48	48	101,76	0,53
54	16	F	54,90	1,59	21,72	159,00	67	7,57	48	113,91	0,68
54	16	F	55,00	1,59	21,76	159,00	74	8,36	48	103,14	0,71
81	13	F	55,60	1,60	21,72	160,00	69	7,80	48	111,30	0,75
81	18	F	55,60	1,60	21,72	160,00	78	8,81	48	98,46	0,83
45	18	F	55,90	1,70	19,34	170,00	76	8,59	48	107,37	0,81
51	15	F	56,00	1,66	20,32	166,00	72	8,14	48	110,67	0,71
45	14	F	56,40	1,70	19,52	170,00	76	8,59	48	107,37	0,86
84	16	F	57,60	1,65	21,16	165,00	82	9,27	48	96,59	0,75
51	19	F	57,90	1,65	21,27	165,00	76	8,59	48	104,21	0,66
65	13	F	58,20	1,63	21,91	163,00	73	8,25	48	107,18	0,82
55	19	F	59,20	1,69	20,73	169,00	81	9,15	48	100,15	0,82
56	19	F	59,20	1,63	22,28	163,00	70	7,91	48	111,77	0,74
56	18	F	59,30	1,63	22,32	163,00	84	9,49	48	93,14	0,68
84	16	F	63,00	1,59	24,92	159,00	69	7,80	48	110,61	0,65
91	14	F	63,90	1,74	21,11	174,00	77	8,70	48	108,47	0,60
79	18	F	66,00	1,62	25,15	162,00	70	7,91	48	111,09	0,71
14	17	F	66,70	1,70	23,08	170,00	64	7,23	48	127,50	0,69
1	17	F	68,60	1,84	20,26	184,00	83	9,38	48	106,41	0,76
58	18	F	68,80	1,66	24,97	166,00	79	8,93	48	100,86	0,76
90	16	F	73,00	1,72	24,68	172,00	78	8,81	48	105,85	0,68
79	16	F	74,00	1,64	27,51	164,00	76	8,59	48	103,58	0,72
49	19	F	78,20	1,76	25,25	176,00	66	7,46	48	128,00	0,63
14	17	F	78,80	1,85	23,02	185,00	82	9,27	48	108,29	0,77
89	13	M	34,30	1,40	17,50	140,00	62	7,01	62	140,00	0,67
33	13	M	42,30	1,58	16,94	158,00	66	7,46	62	148,42	0,77

19	13	M	50,30	1,62	19,17	162,00	69	7,80	62	145,57	0,74
65	13	M	59,00	1,66	21,41	166,00	77	8,70	62	133,66	0,81
33	14	M	42,20	1,56	17,34	156,00	69	7,80	62	140,17	1,14
1	14	M	59,90	1,72	20,25	172,00	71	8,02	62	150,20	0,98
2	15	M	41,00	1,62	15,62	162,00	70	7,91	62	143,49	0,84
77	16	M	48,90	1,69	17,12	169,00	74	8,36	62	141,59	0,84
78	16	M	50,60	1,60	19,77	160,00	66	7,46	62	150,30	0,83
87	16	M	61,20	1,70	21,18	170,00	83	9,38	62	126,99	0,77
74	17	M	64,50	1,74	21,30	174,00	82	9,27	62	131,56	0,88
63	17	M	64,70	1,70	22,39	170,00	75	8,48	62	140,53	0,68
21	17	M	76,90	1,73	25,69	173,00	94	10,62	62	114,11	0,62
90	17	M	80,00	1,81	24,42	181,00	73	8,25	62	153,73	0,82
77	18	M	54,50	1,73	18,21	173,00	65	7,35	62	165,02	0,76
9	18	M	65,50	1,74	21,63	174,00	75	8,48	62	143,84	0,80
63	18	M	70,60	1,78	22,28	178,00	89	10,06	62	124,00	0,96
58	18	M	71,00	1,72	24,00	172,00	76	8,59	62	140,32	0,65
9	18	M	76,80	1,88	21,73	188,00	74	8,36	62	157,51	0,79
49	18	M	81,40	1,80	25,12	180,00	85	9,61	62	131,29	0,68
21	18	M	82,20	1,81	25,09	181,00	85	9,61	62	132,02	0,68
87	19	M	71,20	1,83	21,26	183,00	83	9,38	62	136,70	0,62
32	13	F	44,70	1,61	17,24	161,00	67	7,57	48	115,34	0,69
32	14	F	45,30	1,60	17,70	160,00	62	7,01	48	123,87	0,73

Enfants de néphrologie

n°tube	âge	BMI	poids	taille (cm)	créatininémie ($\mu\text{mol/l}$)	créatininémie (mg/l)	K	clairance (ml/mn/1,73m ²)	cystatine C (mg/l)	diagnostic
29	21	19,65	47,20	155,00	110,50	12,50	62	86,97	0,84	G
32	17	17,49	45,90	162,00	159,12	18,00	48	48,87	2,07	P
9	14	21,56	39,00	134,50	198,90	22,50	62	41,93	2,75	P
54	14	21,28	39,65	136,50	172,38	19,50	62	49,10	2,18	P
81	14	20,48	39,00	138,00	212,16	24,00	62	40,33	2,41	P
71	16	20,87	52,10	158,00	238,68	27,00	48	31,77	2,53	P
65	16	23,95	59,80	158,00	114,92	13,00	62	85,24	1,37	P
56	16	24,03	60,00	158,00	110,50	12,50	48	68,63	1,36	G
84	16	23,84	59,90	158,50	110,50	12,50	48	68,85	1,35	G
15	9	18,52	29,40	126,00	57,46	6,50	48	105,26	0,96	P
86	6	17,88	19,90	105,50	66,30	7,50	48	76,38	0,92	P
41	21	22,04	48,60	148,50	327,08	37,00	62	28,15	3,10	G
7	12	16,61	30,50	135,50	172,38	19,50	48	37,73	2,05	P
45	15	18,25	54,00	172,00	88,40	10,00	62	120,63	1,11	P
26	17	20,08	52,70	162,00	106,08	12,00	62	94,68	1,46	G
82	17	19,62	51,80	162,50	110,50	12,50	62	91,18	1,62	G
48	17	19,89	52,20	162,00	106,08	12,00	62	94,68	1,51	G
21	21	26,09	75,40	170,00	94,59	10,70	62	111,43	1,17	G
49	21	26,54	76,70	170,00	101,66	11,50	62	103,68	1,16	G
79	21	26,33	75,20	169,00	110,50	12,50	62	94,82	1,14	G
36	4	13,95	14,80	103,00	48,62	5,50	48	101,69	0,92	P
61	12	18,75	48,00	160,00	70,72	8,00	48	108,60	0,99	P
85	10	17,14	35,30	143,50	79,56	9,00	48	86,58	0,81	P
34	3	14,35	12,15	92,00	53,04	6,00	48	83,26	1,34	G

64	3	14,67	12,70	93,05	48,62	5,50	48	91,86	1,46	G
8	4	14,68	16,50	106,00	216,58	24,50	48	23,49	3,62	P
40	18	18,52	21,20	107,00	83,98	9,50	48	61,16	1,62	G
17	13	14,33	29,50	143,50	468,52	53,00	62	18,99	4,29	P
38	11	13,40	23,70	133,00	291,72	33,00	48	21,88	2,78	P
75	5	15,04	16,90	106,00	92,82	10,50	48	54,82	1,60	P
3	5	18,16	20,60	106,50	61,88	7,00	48	82,61	1,50	G
37	5	18,60	21,90	108,50	61,88	7,00	48	84,16	1,31	G
39	6	18,18	22,40	111,00	57,46	6,50	48	92,73	1,18	G
52	6	18,34	22,60	111,00	61,88	7,00	48	86,10	1,38	G
68	6	18,18	22,60	111,50	57,46	6,50	48	93,14	1,28	G
16	10	16,27	29,00	133,50	212,16	24,00	48	30,20	2,66	P
77	18	17,16	49,00	169,00	141,44	16,00	62	74,08	1,84	P
90	14	24,46	63,80	161,50	61,88	7,00	48	125,27	0,60	P
62	6	16,57	19,70	109,05	57,46	6,50	48	91,10	1,32	G
88	6	16,15	19,90	111,00	57,46	6,50	48	92,73	1,08	G
14	14	23,30	56,70	156,00	114,92	13,00	48	65,16	1,12	P
2	15	15,43	40,50	162,00	70,72	8,00	48	109,95	1,15	G
31	15	15,28	40,10	162,00	66,30	7,50	48	117,29	1,03	G
33	15	15,34	40,50	162,50	66,30	7,50	48	117,65	0,99	G
67	15	15,81	41,50	162,00	57,46	6,50	48	135,33	0,84	G
51	21	20,61	56,80	166,00	154,70	17,50	62	66,53	2,05	G
87	21	21,12	48,80	152,00	150,28	17,00	48	48,55	2,06	G
19	14	19,18	49,10	160,00	532,17	60,20	62	18,64	2,12	P
78	14	18,63	50,10	164,00	530,40	60,00	62	19,17	2,13	P
59	14	18,30	34,10	136,50	114,92	13,00	62	73,64	2,32	G
58	21	24,39	64,00	162,00	265,20	30,00	62	37,87	3,08	G
44	14	22,11	55,20	158,00	362,44	41,00	62	27,03	3,65	P

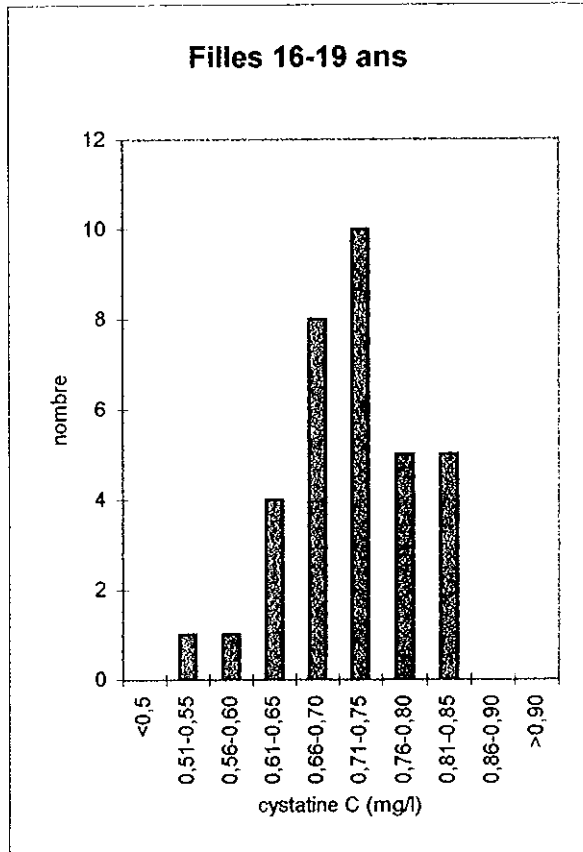
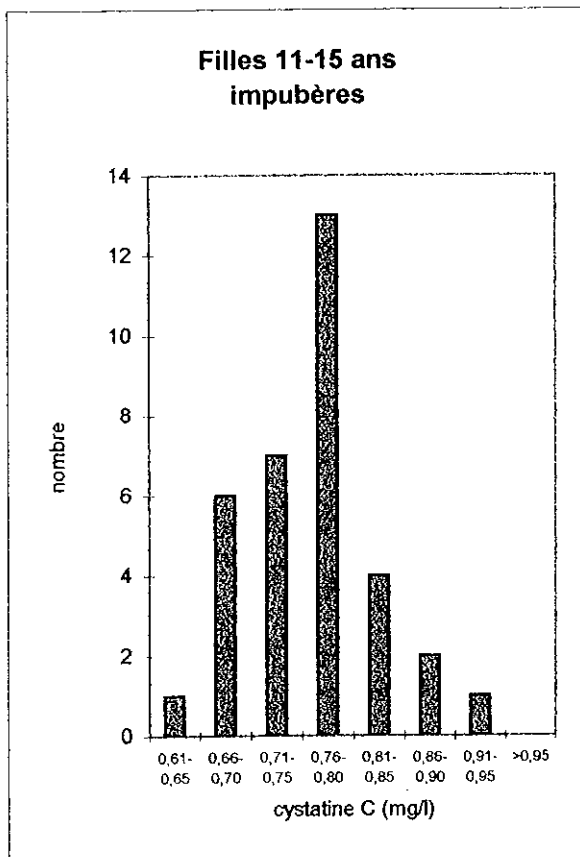
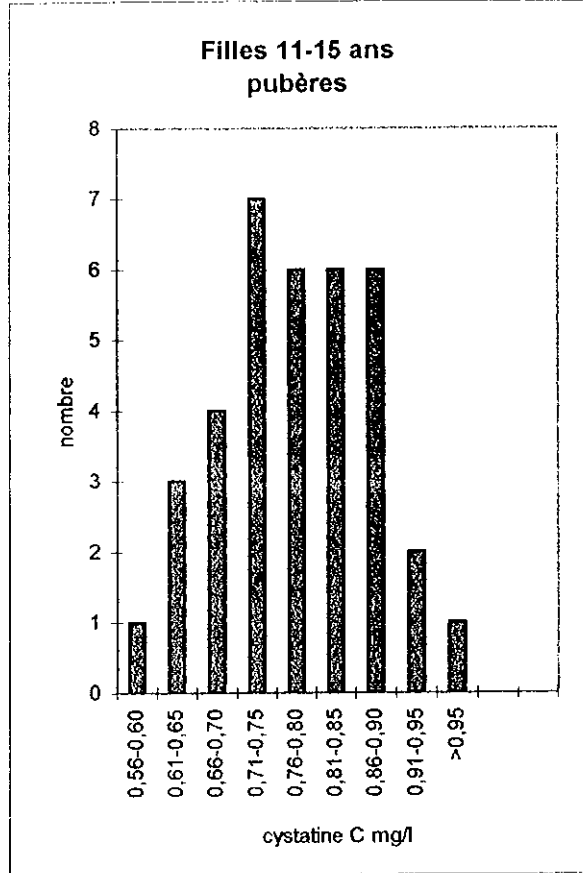
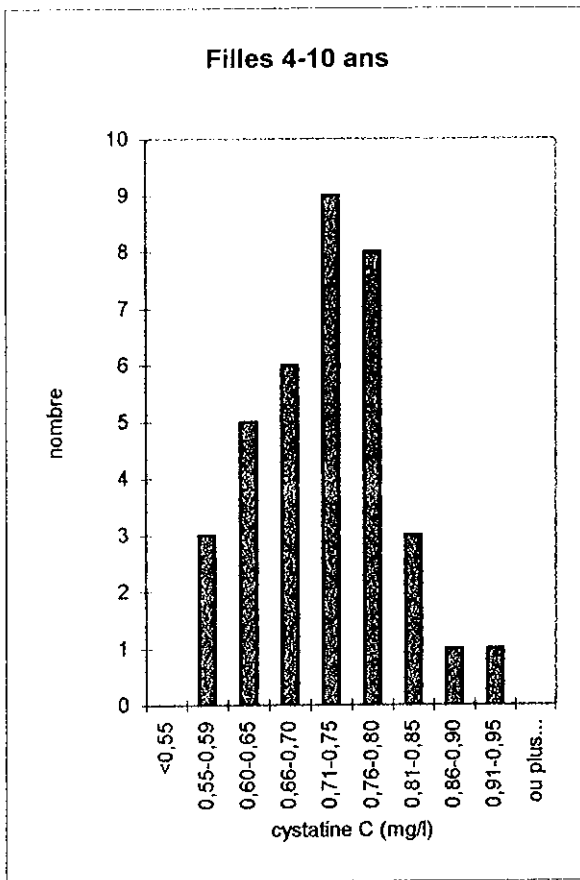
55	15	21,16	53,50	159,00	442,00	50,00	62	22,30	4,27	P
74	14	20,98	53,70	160,00	471,17	53,30	62	21,05	5,33	P
91	14	20,57	53,00	160,50	565,76	64,00	62	17,59	4,95	P
46	18	17,01	53,90	178,00	106,08	12,00	62	104,03	1,60	G
89	19	17,95	57,20	178,50	110,50	12,50	62	100,15	1,41	G
13	18	20,45	48,50	154,00	119,34	13,50	48	61,94	1,41	G
30	18	20,20	47,60	153,50	110,50	12,50	48	66,68	1,40	G
1	16	20,96	55,00	162,00	114,92	13,00	48	67,66	1,44	G
63	17	21,22	55,70	162,00	119,34	13,50	48	65,16	1,74	G
24	12	16,96	28,00	128,50	79,56	9,00	48	77,53	1,85	G
93	12	16,86	28,50	130,00	79,56	9,00	48	78,43	1,71	G
27	18	17,75	40,20	150,50	207,74	23,50	62	44,92	2,33	G

G: greffe ; P: pathologie rénale

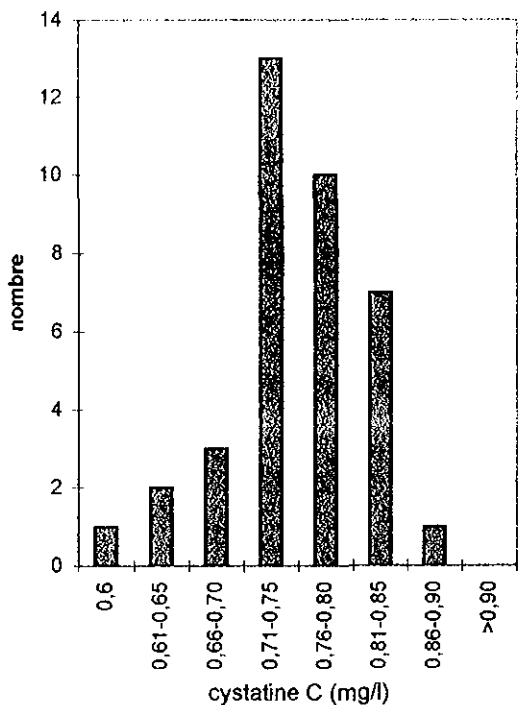
Annexe 2 : Pourcentage d'augmentation et de diminution relative de la cystatine et de la créatininémie et rapport entre la créatininémie et la cystatine C chez six enfants malades

date de recueil	initiales	cystatine mg/l	créatininémie μ mol/l	créatininémie/cystatine	% cystatine	% créatinine	diagnostic
25-mai	Max	1,4	70,72	50,51			pathologie
28-juin	Max	1,24	53,04	42,77	-11,43	-25,00	
18-oct	Max	2,02	110,5	54,70	44,29	56,25	
15-nov	Max	2,49	159,12	63,90	77,86	125,00	
17-mai	BA	2,75	198,9	72,33			pathologie
27-sept	BA	2,18	172,38	79,07	-20,73	-13,33	
26-oct	BA	2,41	212,16	88,03	-12,36	6,67	
25-mai	FJ	1,46	106,08	72,66			greffe
27-oct	FJ	1,62	110,5	68,21	10,96	4,17	
22-sept	FJ	1,51	106,08	70,25	3,42	0,00	
25-mai	GF	1,17	94,588	80,84			greffe
24-oct	GF	1,14	110,5	96,93	-2,56	16,82	
25-sept	GF	1,16	101,66	87,64	-0,85	7,48	
12-mai	Mam	1,5	61,88	41,25			greffe
9-sept	Mam	1,31	61,88	47,24	-12,67	0,00	
14-sept	Mam	1,18	57,46	48,69	-21,33	-7,14	
25-sept	Mam	1,38	61,88	44,84	-8,00	0,00	
9-oct	Mam	1,28	57,46	44,89	-14,67	-7,14	

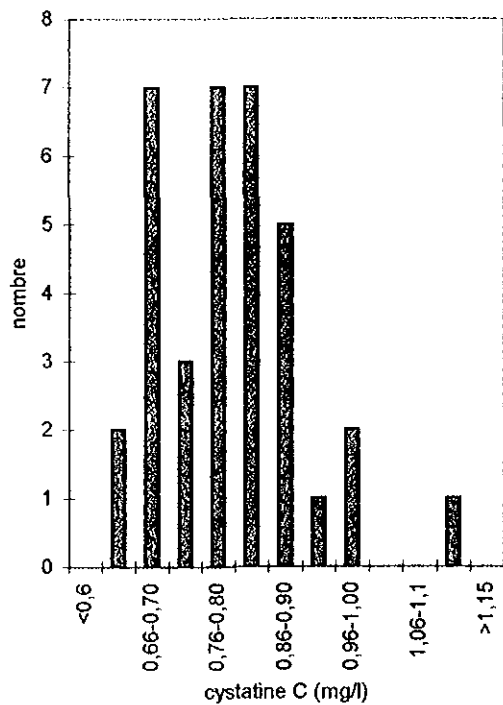
Annexe 3 : Distribution de la cystatine C chez les enfants du CMP



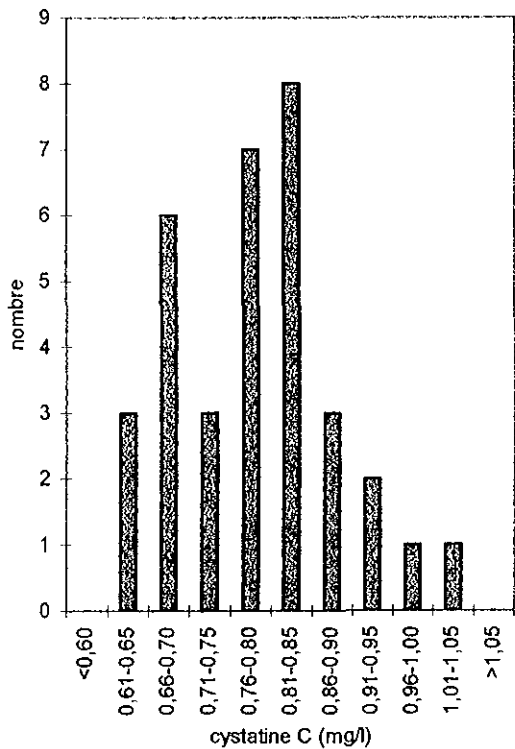
Hommes 4-10 ans



Hommes 11-15 ans



Hommes 16-19 ans



BIBLIOGRAPHIE

- 1 – Abrahamson M, Olafsson I, Palsdottir A, Ulvsback M, Lundwall A, Jensson O, Grubb A. Structure and expression of the human cystatin C gene. *Biochem J.* 1990; 268:287-94.
- 2 – Abrahamson M. Human cysteine proteinase inhibitors. Isolation, physiological importance, inhibitory mechanism, gene structure and relation to hereditary cerebral hemorrhage. *Scand J Clin Lab Invest.* 1988;Suppl 191:21-31.
- 3 – Bokenkamp A, Domanetzki M, Zinck R, Schumann G, Brodehl J. Reference values for cystatin C serum concentrations in children. *Pediatr Nephrol.* 1998; 12:125-9.
- 4 – Bokenkamp A, Domanetzki M, Zinck R, Schumann G, Byrd D, Brodehl J. Cystatin C serum concentration underestimate GFR in renal transplants recipients. *Clin Chem.* 1999; 45 (10):1866-8.
- 5 – Bökenkamp A, Domanetzki M, Zinck R, Schumann G, Byrd D, Brodehl J. Cystatin C - a new marker of glomerular filtration rate in children independent of age and height. *Pediatrics.* 1998; 101(5):875-81.
- 6 – Bökenkamp A, Ozden N, Dieterich C, Schumann G, Ehrich JHH, Brodehl J. Cystatin C and creatinine after successful kidney transplantation in children. *Clinical Nephrology.* 1999; 52(6):371-6.
- 7 – Bostom AG, Bausserman L, Jacques PF, Liaugaudas G, Selhub J, Rosenberg IH. Cystatin C as a determinant of fasting plasma total homocystein level in coronary artery disease patients with normal serum creatinine. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999; 19:2241-4.
- 8 – Bouvenot G, Devulder B, Guillevin L, Queneau P, Schaeffer A. *Abrégé de pathologie médicale.* Edition Masson 1994.
- 9 – Bozbas A, Demirtas S, Akbay A, Ehlan A, Bahar K, Karaca L. Diagnostic value of cystatin C for evaluation of hepatorenal syndrome. *Clin Chem.* 2000; 46(6):A17.
- 10 – Brion LP, Boeck MA, Gauthier B, Nussbaum MP, Schwartz GJ. Estimation of GFR in anorectic patients. *Pediatric nephrol.* 1989; 3(1):16-21.
- 11 – Butler EA, Flynn FV. The occurrence of post-gamma protein in urine: a new abnormality. *J Clin Pathol.* 1961; 14:172-8.
- 12 – Cataldi L, Mussap M, Bertelli L, Ruzzante N, Fanos V, Plebani M. Cystatin C in healthy women at term pregnancy and in their infant newborns : relationship between maternal and neonatal serum levels and reference values. *Am J Perinatol.* 1999; 16:287-95.
- 13 – Chantrel M, Agin A, Offner M, Koehl C, Moulin B, Hannedouche T. *Clinican Nephrology.* 2000; 54(5):374-81.

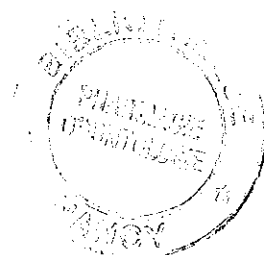
- 14 – Cimerman N, Brguljan PM, Krasovec M, Suskovic S, Kos J. Serum cystatin C, a potent inhibitor of cysteine proteinases, is elevated in asthamatic patients. *Clin Chim Acta*. 2000; 300:83-95.
- 15 – Cimerman N, Brguljan PM, Krasovec M, Suskovic S, Kos J. Twenty-four hour variations of cystatin C ant total cysteine proteinase inhibitory activity in sera from healthy subjects. *Clin Chim Acta*. 2000; 291:89-95.
- 16 – Clausen J. Proteins in normal cerebrospinal fluid not found in serum. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1961; 107:170-2.
- 17 – Cockroft D, Gault MK. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron*. 1976; 16:31-41.
- 18 – Elseviers MM, Verpooten GA, DeBroe ME, De Backer G. Interpretation of creatinin clearance. *Lancet*. 1987; 21:457.
- 19 – Erlandsen EJ, Randers E, Kristensen JH. Reference intervals for serum cystatin C and serum creatinine in adults. *Clin Chem Lab Med*. 1998; 36(6):393-7.
- 20 – Filler G, Witt I, Priem F, Ehrich JHH, Jung K. Are cystatin C and β_2 -microglobulin better markers than serum creatinine for prediction of a normal glomerular filtration rate in pediatric subjects? *Clin Chem*. 1997; 43(6):1077-8.
- 21 – Finney H, Bates CJ, Price CP. Plasma cystatin C determinations in a healthy elderly population. *Arch Gerontol Geriatr*. 1999; 29:75-94.
- 22 – Finney H, Newman D, Price CP. Adult reference ranges for serum cystatin C, creatinine and predicted creatinine clearance. *Ann Clin Biochem*. 2000; 37:49-59.
- 23 – Finney H, Newman D, Thakkar H, Fell JME, Price CP. Reference ranges for plasma cystatin C and creatinine measurements in premature infants, neomates, and older children. *Arch Dis Child* 2000; 82:71-5.
- 24 – Finney H, Newman DJ, Gruber W, Merle P, Price CP. Initial evaluation of cystatin C measurement by particle-enhanced immunonephelometry on the Behring nephelometer systems (BNA, BN II). *Clin Chem*. 1997; 43(6):1016-22.
- 25 – Finney H, Newman DJ, Redman CWG, Price CP. Cystatin C and pre-eclampsia. “ Focus 98 ” *Nat Meet Assoc Clin Biochem*. Glasgow; 1998.
- 26 – Fliser D, Ritz E. Serum cystatin C concentration as a marker of renal dysfunction in the elderly. *Am J Kidney Dis*. 2001; 37:79-83.
- 27 – Grubb A, Löfberg H. Human gamma trace. *Scand J Clin Lab Invest*. 1985; 45, Suppl 177: 7-13.
- 28 – Grubb AO. Cystatin C-Properties and use as diagnostic marker. *Advanced in Clinical Chemistry*. 2001; 35:63:99.

- 29 – Hansen T, Petrow PK, Gaumann A, Keyser G, Bräuer R, Kriegsmann J. Synovial giant cells in rheumatoid arthritis: expression of cystatin C, but not cathepsin B. *Exp Toxic Pathol.* 2000; 52:312-6.
- 30 –Harmoinen A, Ylinen E, Ala-Houhala M, Janas M, Kaila M, Kouri T. Reference intervals for cystatin C in pre- and full-term infants and children. *Pediatr Nephrol.* 2000; 15:105-8.
- 31 – Hayashi T, Nitta K, Hatano M, Nakauchi M, Nihei H. The serum cystatin C concentration measured by particle-enhanced immunonephelometry is well correlated with inulin clearance in patients with various types of glomerulonephritis. *Nephron* 1999; 82(1):90-2.
- 32 – Helin I, Axenram M, Grubb A. Serum cystatin C as a determinant of glomerular filtration rate in children. *Clin Nephrol.* 1998; 49(4):221-5.
- 33 – Hochwald GM, Thorbecke GJ. Use of an antiserum against cerebrospinal fluid in demonstration of trace proteins in biological fluids. *Proc SocExp Biol Med.* 1962; 109:91-5.
- 34 – Houot O. La créatinine. Valeurs de référence en biologie. Option Bio Edition Sandoz.
- 35 – Interferences in current methods for measurements of creatinin. *Clin Chem* vol 37 n°5 (1991) pg 695-700
- 36 – Itoh Y, Yamada M, Hayakawa M, Otomo E, Miyatake T. Cerebral amyloid angiopathy: a significant of cerebellar as well as lobar cerebral hemorrhage in the elderly. *J Neurol Sciences.* 1993; 116:135-41.
- 37 – Kalman J, Marki-Zay J, Juhasz A, Santha A, Dux L, Janka Z. Serum and cerebrospinal fluid cystatin C levels in vascular and Alzheimer's dementia. *Acta Neurologica Scandinavia.* 2000; 101:279-82.
- 38 – Keevil BG., Kilpatrick ES, Nichols SP, Maylor PW. Biological variation of cystatin C: implications for the assessment of glomerular filtration rate. *Clin Chem.* 1998; 44 (7):1535-9.
- 39 – Knox JB, Sukhova GK, Whittemore AD, Libby P. Evidence for altered balance between matrix metalloproteinases and their inhibitors in human aortic diseases. *Circulation.* 1997; 95(1):205-12.
- 40 – Kos J, Stabuc B, Cimerman N, Brünner N. Serum cystatin C, a new marker of glomerular filtration rate, is increased during malignant progression. *Clin Chem.* 1998; 44:2556-7.
- 41 – Kos J, Stabuc B, Schweiger A, Krasovec M, Cimerman N, Kopitar-Jerala N, Vrhovec I. Cathepsins B, H, and L and their inhibitors stefin A and cystatin C in sera of melanoma patients. *Clin Cancer Res.* 1997; 3(10):1815-22.

- 42 – Kyhse-Andersen J, Schmidt C, Nordin G, Andersson B, Nilsson-Ehle P, Lindström V, Grubb A. Serum cystatin C, determined by a rapid, automated particle-enhanced turbidimetric method, is a better marker than serum creatinine for glomerular filtration rate. *Clin Chem.* 1994; 40(10):1921-6.
- 43 – Lah TT, Jos J. Cysteine proteinases in cancer progression and their clinical relevance for prognosis. *Biol Chem.* 1998; 379:125-30.
- 44 – Le Bricon T, Leblanc I, Benlakehal M, Labat F, Beaudry P, Beuzard Y, Boudaoud S, Erlich D. Evaluation of renal function using plasma cystatin C in patients admitted to an intensive care unit. *Clin Chem.* 2000; 46(6):A18.
- 45 – Le Bricon T, Thervet E, Benlakehal M, Bousquet B, Legendre C, Erlich D. Changes in cystatin C after renal transplantation and acute rejection in adults. *Clin Chem.* 1999; 45:2243-9.
- 46 – Le Bricon T, Thervet E, Froissart M, Benlakehal M, Bousquet B, Legendre C, Erlich D. Plasma Cystatin C is superior to 24h creatinine clearance and plasma creatinine for estimation of GFR 3 months after kidney transplantation. 2000. *Clinical Chemistry*; 46(8):1206-7.
- 47 – Lee KR, Ryu JH, Cho K, Kwon OH. Evaluation of particle-enhanced turbidimetric assay for cystatin C and clinical usefulness as renal function test [abstract]. *Clin Chem.* 2000; 46:172-3.
- 48 – Loirat C, Niaudet P. Progrès en pédiatrie néphrologie pédiatrique. 1993. Edition DOIN.
- 49 – Mangge H, Liebmann P, Tanil H, Herrmann J, Wagner C, Gallistl S, Schauenstein K, Erwa W. Cystatin C, an early indicator for incipient renal disease in rheumatoid arthritis. *Clin Chim Acta.* 2000; 300:195-202.
- 50 – Martin A. Introduction au laboratoire de biochimie médicale. Collection Ellipses. Edition Marketing. 1995.
- 51 – Meier P, Froideveaux C, Dayer E, Blanc E. Cystatin C concentration and glomerular filtration rate. *The Lancet.* 2001; 357:634-5.
- 52 – Metais P. Biochimie clinique-Biochimie analytique. Edition SIMEP
- 53 – Mojiminiyi OA, George S. Mechanism of Increased Serum Beta-2 microglobulin in patients with renal transplants. *Clin Chem.* 1999; 45(6) suppl.A55:182.
- 54 – Mojiminiyi OA, George S. Mechanism of increased serum beta-2 microglobulin in patients with renal transplants [abstract]. *Clin Chem.* 1999; 45:55.
- 55 – Moreau T. Inhibiteurs protéiques et zymogènes: les deux armes essentielles du contrôle de la protéolyse. *Regard sur la biochimie.* 1999; 4:43-59.
- 56 – Muller F, Bernard MA, Benkirane A, Ngo S, Lortat-Jacob S, Oury JF, Dommergues M. Fetal urine cystatin C as a predictor of postnatal renal function in bilateral uropathies. *Clin Chem.* 1999; 45(12):2292-3.

- 57 – Mussap M, Plebani M, Fanos V, Bertelli L, Pesce M, Ruzzante N, Varagnolo M, Zaninotto M, Cataldi L. Serum cystatin C in healthy full-term newborns : preliminary reference values for a promising endogenous marker of glomerular filtration rate. *Prenat Neonat Med.* 1997; 2:338-42.
- 58 – Mussap M, Ruzzante N, Varagnolo M, Plebani M. Quantitative automated particle-enhanced immunonephelometric assay for the routinary measurement of human cystatin C. *Clin Chem Lab Med.* 1998; 36:859-865.
- 59 – Newman D. More on cystatin C. *Clin Chem.* 1999; 45(5):718-9.
- 60 – Newman DJ, Thakkar H, Edwards RG, Wilkie M, White T, Grubb AO, Price CP. Serum cystatin C measured by automated immunoassay: a more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine. *Kidney Int.* 1995; 47:312-8.
- 61 – Norlund L, Fex G, Lanke J, Von Schenck H, Nilsson JE, Leksell H, Grubb A. Reference intervals for the glomerular filtration rate and cell-proliferation markers: serum cystatin C and serum beta 2-microglobulin/cystatin C-ratio. *Scand J Clin Lab Invest.* 1997; 57(6):463-70.
- 62 – Norlund L, Grubb A, Fex G, Leksell H, Nilsson JE, Schenck H, Hultberg B. The increase of plasma homocysteine concentrations with age is partly due to the deterioration of renal function as determined by plasma cystatin C. *Clin Chem Lab Med.* 1998; 36(3):175-8.
- 63 – Olafsson I, Grubb A. Hereditary cystatin C amyloid angiopathie. *Amyloid: Int J Exp Clin Invest.* 2000; 7:70-79.
- 64 – Olafsson I. The human cystatin C gene promoter: functionnal analysis and identification of heterogeneous ARNm. *Scand J Clin Lab Invest.* 1995; 55:597-607.
- 65 – Page MK, Bükki J, Luppá P, Neumeier D. Clinical value of cystatin C determination *Clinica Chimica Acta.* 2000; 297:67-72.
- 66 – Pergande M, Jung K. Sandwich enzyme immunoassay of cystatin C in serum with commercially available antibodies. *Clin Chem.* 1993; 39(9):1885-90.
- 67 – Price CP, Finney H. Developments in the assessment of glomerular filtration rate. *Clin Chim Acta.* 2000; 297:55-66.
- 68 – Randers E, Erlandsen EJ. Serum Cystatin C as an Endogenous Marker of the Renal Function – a Review. *Clin Chem Lab Med.* 1999; 37(4):389-395.
- 69 – Randers E, Krue S, Erlandsen EJ, Henning D, Hansen LG. Reference interval for serum cystatin C in children. *Clin Chem.* 1999; 45(9):1856-8.
- 70 – Rolland-Cachera MF, Cole TJ, Sempe M, Tichet J, Rossignol C, Charraud A. Variation of the Weight/Height² index from birth to age 87 years. *Eur J Clin Nutr.* 1991; 45:13-21.

- 72 – Schnitter S, Gopal Rao VVN, Abrahamson M, Hansmann I. Cystatin C (CST3), the candidate gene for HCCAA, and other members of the cystatin gene family are clustered on chr 20p11.2. *Genomics* 1993; 16:50-55.
- 73 – Schwartz GJ, Brion LP, Spitzer A. The use of plasma creatinine concentration for estimating glomerular filtration rate in infants, children and adolescents. *Pediatr Nephrol* 1987; 34:571-90.
- 74 – Schwartz GJ, Haycock GB, Edelman CM, Spitzer A. A simple estimate of glomerular filtration rate in children derived from body length and plasma creatinine. *Pediatrics*. 1976 ; 58:259-63.
- 75 – Shi GP, Sukhova GK, Grubb A, Ducharme A, Rhode LH, Lee RT, Ridker PM, Libby P, Chapman HA. Cystatin C deficiency in human atherosclerosis and aortic aneurysm. *J Clin Lab Invest*. 1999; 104(9):1191-7.
- 76 – Siest G, Henry J, Schiele F, Gueguen R. Le concept de valeurs de références, ses relations avec les sources de variation des examens de laboratoire. Valeurs de référence en biologie. Option Bio Edition Sandoz.
- 77 – Stabuc B, Vrhovec L, Stabuc-Silih M, Cizej TE. Improved prediction of decreased creatinine clearance by serum cystatin C: Use in cancer patients before and during chemotherapy. *Clin Chem*. 2000; 46(2):193-7.
- 78 – Stickle D, Cole B, Hock K, Hruska KA, Scott MG. Correlation of plasma concentrations of cystatin C and creatinine to inulin clearance in a pediatric population. *Clin Chem*. 1998; 44(6):1334-8.
- 79 – Swan SK. The search continues- an ideal marker of GFR. *Clin Chem*. 1997; 43(6):913-4.
- 80 – Tian S, Kusano E, Tabel K, Itoh Y, Kawai T, Asano Y. Cystatin C measurement and its practical use in patients with various renal diseases. 1997; 48(2):104-8.
- 81 – Uhlmann E, Hock KG, Issitt C, Sneeringer MR, Cervelli DR, Groman RT, Scott MG. Evaluation of plasma cystatin C on the Behring Nephelometer™ II [abstract] *Clin Chem*. 2000; 46:175.
- 82 – Vinge E, Lindergard B, Nilsson-Ehle P, Grubb A. Relationships among serum cystatin C, serum creatinine, lean tissue mass and glomerular filtration rate in healthy adults. *Scand J Clin Lab Invest*. 1999; 59:587-92.
- 83 – Woitas RP, Stoffel-Wagner B, Flommersfeld S, Poege U, Schiedermaier P, Klehr HU, Spengler U, Bidlingmaier F, Sauerbruch T. Correlation of serum concentrations of cystatin C and creatinine to inulin clearance in liver cirrhosis. *Clin Chem*. 2000; 46:712-5.
- 84 – Yamada M, Tsukagoshi H, Wada Y, Otomo E, Hayakawa M, Thornsteinsson, Jensson O. Absence of the cystatin C amyloid angiopathy, senile plaque, and extra-CNS amyloid deposits of aged Japanese. *Acta Neurol Scand*. 1989 ; 79:504-9.



DEMANDE D'IMPRIMATUR



**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR
EN PHARMACIE**

présenté par **Myriam Guyon**

Sujet : **La cystatine C
un nouveau marqueur de la fonction rénale ?**

Jury :

Président : **Marie-Madeleine Galteau**

Juges : **Jean-Luc André**

Pascale Veber

Vu,

Nancy, le **3/05/01**

Le Président du Jury,

Vu et approuvé,

Nancy, le **16 mai 2001**

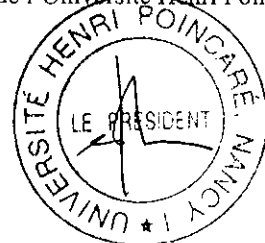
Le Doyen de la Faculté de Pharmacie
de l'Université Henri Poincaré - Nancy I,

Chantal FINANCE

Vu,

Nancy, le **23 mai 2001**

Le Président de l'Université Henri Poincaré - Nancy I



N° 1065

Claude BURLET

LA CYSTATINE C : UN NOUVEAU MARQUEUR DE LA FONCTION RENALE

Thèse soutenue le 22 juin 2001

Par Myriam GUYON

RESUME :

Le rein est un organe vital dont il est indispensable d'évaluer précisément le fonctionnement. A ce jour, seule la créatinine permet de mesurer son degré d'altération : pour les spécialistes et les cliniciens, un nouveau marqueur serait souhaitable. Notre travail a consisté à établir des valeurs de référence pour la cystatine C, proposée comme une molécule pouvant remplir cette fonction, et à déterminer ses variations biologiques. Nous avons travaillé au Centre de Médecine Préventive dans un premier temps pour répondre à cet objectif, puis dans un deuxième temps dans le service de Néphrologie infantile du CHU de Brabois à Vandoeuvre-lès-Nancy afin de mesurer les variations pathologiques de la cystatine C.

Nous en avons conclu que la cystatine C serait un éventuel nouveau marqueur en pathologie rénale, mais des investigations supplémentaires seraient nécessaires.

MOTS CLES : Cystatine C Valeurs de référence
Variations biologiques Variations pathologiques

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Melle MM. GALTEAU	Centre de Médecine Préventive	Expérimentale <input checked="" type="checkbox"/> Bibliographique <input type="checkbox"/> Thème <input type="checkbox"/>

Thèmes 1 – Sciences fondamentales 2 – Hygiène/Environnement
3 – Médicament 4 – Alimentation – Nutrition
5 - Biologie 6 – Pratique professionnelle