

## Table des matières

1	Introduction	
1.1.1	Découverte.....	
1.1.2	Rôle dans le métabolisme ferrique .....	
1.1.3	Mécanismes moléculaires d'action de l'hepcidine.....	
1.2	Le fer	
1.2.1	Répartition.....	
1.2.2	Métabolisme .....	
1.2.2.1	Absorption.....	
1.2.2.1.1	Fer inorganique.....	
1.2.2.1.2	Fer héminique .....	
1.2.2.2	Utilisation par les précurseurs érythroïdes .....	
1.2.2.3	Stockage. ....	
1.2.2.4	Recyclage .....	
1.3	Le système Iron-Regulatory Proteins/Iron Responsive Elements (IRP/IRE) et la régulation du fer cellulaire .....	
1.4	Hepcidine et rôle dans la régulation systémique du fer .....	
1.4.1	Synthèse .....	
1.4.2	Structure.....	
1.4.3	Mode d'action .....	
1.4.4	Liaison protéique et comportement rénal.....	
1.4.5	Variation circadienne.....	
1.4.6	Production paracrine d'hepcidine .....	
1.4.7	Régulation de la synthèse .....	
1.4.7.1	Réserves en fer.....	
1.4.7.2	Erythropoïèse .....	
1.4.7.3	Inflammation .....	
1.4.8	Quantification de l'hepcidine dans divers milieux biologiques.....	
1.4.8.1	Difficultés rencontrées.....	
1.4.8.2	Méthodes immunochimiques .....	
1.4.8.3	Spectrométrie de masse.....	
1.4.9	Intérêts cliniques de la détermination de l'hepcidine.....	
1.4.9.1	La carence en fer absolue.....	
1.4.9.2	L'anémie sur carence en fer réfractaire à l'administration de fer oral .....	
1.4.9.3	Les anémies combinées .....	
1.4.9.4	Les hémochromatoses héréditaires.....	

1.5	Autres paramètres biologiques évaluant le statut ferrique .....	
1.5.1	Le fer.....	
1.5.2	La transferrine et le coefficient de la saturation de la transferrine .....	
1.5.3	La ferritine .....	
1.5.4	Le récepteur soluble à la transferrine .....	
1.5.5	La ponction médullaire et coloration au bleu de Prusse.....	
1.6	L'anémie du sujet âgé.....	
1.6.1	Définition et prévalence .....	
1.6.2	Types d'anémie chez le sujet âgé.....	
2	Objectifs du projet.....	
2.1	Développement d'une technique de dosage de l'hepcidine sérique et urinaire : aspects pré-analytiques et analytiques .....	
2.2	Etude des paramètres pré-analytiques et de l'efficacité diagnostique de l'hepcidine urinaire dans l'identification d'une carence martiale .....	
2.3	Mesure de l'hepcidine basale dans le diagnostic différentiel des anémies du sujet âgé et étude de sa corrélation avec l'augmentation relative de la saturation de la transferrine après un test d'absorption en fer oral.....	
3	Matériel et méthodes.....	
3.1	Matériel.....	
3.1.1	Produits et réactifs.....	
3.1.2	Appareillages.....	
3.2	Méthodes .....	
3.2.1	Quantification des paramètres biochimiques et hématologiques.....	
3.2.2	Développement d'une technique de dosage de l'hepcidine sérique et urinaire : aspects pré-analytiques et analytiques .....	
3.2.2.1	Etablissement des transitions optimales et des paramètres du spectromètre pour la quantification par MS/MS.....	
3.2.2.2	Impact de la nature du vial utilisé pour la réalisation des solutions de travail .....	
3.2.2.3	Optimisation de la séparation chromatographique .....	
3.2.2.4	Procédures d'extraction des échantillons .....	
3.2.2.5	Validation de la méthode .....	
3.2.2.6	Population étudiée et échantillonnage.....	
3.2.2.7	Evaluation des variations de concentrations en hepcidine dans diverses conditions pathologiques .....	
3.2.2.8	Variables pré-analytiques évaluées .....	
3.2.2.8.1	Impact du tube primaire.....	
3.2.2.8.2	Impact du tube de stockage secondaire.....	

3.2.2.8.3	Impact de la température, de la durée de stockage du tube primaire et de l'aliquot secondaire .....	
3.2.2.9	Tests statistiques utilisés .....	
3.2.3	Etude des facteurs pré-analytiques et évaluation de l'efficacité diagnostique de l'hepcidine urinaire dans l'identification d'une carence martiale .....	
3.2.3.1	Procédure d'extraction des échantillons et quantification de l'hepcidine-25 par spectrométrie de masse .....	
3.2.3.2	Populations étudiées et échantillonnage.....	
3.2.3.3	Etude des paramètres pré-analytiques pour l'hepcidine urinaire .....	
3.2.3.4	Tests statistiques utilisés .....	
3.2.4	Mesure de l'hepcidine basale dans le diagnostic différentiel des anémies du sujet âgé et étude de sa corrélation avec l'augmentation relative de la saturation de la transferrine après un test d'absorption en fer oral.....	
3.2.4.1	Populations étudiées .....	
3.2.4.1.1	Volontaires sains avec test d'absorption en fer oral .....	
3.2.4.1.2	Patients .....	
3.2.4.1.2.1	Patients avec mesure de l'hepcidine basale .....	
3.2.4.1.2.2	Patients avec test d'absorption en fer oral.....	
3.2.4.2	Classification des anémies.....	
3.2.4.3	Mesure de l'hepcidine .....	
3.2.4.4	Tests statistiques utilisés .....	
4	Résultats et discussion .....	
4.1	Développement d'une technique de dosage de l'hepcidine sérique et urinaire : aspects pré-analytiques et analytiques .....	
4.1.1	Etablissement des transitions optimales et des paramètres du spectromètre pour la quantification par MS/MS .....	
4.1.2	Impact de la nature du vial utilisé pour la réalisation des solutions de travail.....	
4.1.3	Optimisation de la séparation chromatographique.....	
4.1.4	Rendement d'extraction.....	
4.1.5	Validation de la méthode .....	
4.1.6	Etablissement de l'intervalle de référence .....	
4.1.7	Paramètres biochimiques et hématologiques associés à l'hepcidinémie .....	
4.1.8	Calcul du coefficient d'excrétion rénale de l'hepcidine .....	
4.1.9	Quantification de l'hepcidine dans la carence martiale absolue.....	
4.1.10	Etude des variables pré-analytiques sur la mesure de l'hepcidine sérique et urinaire	
4.1.10.1	Impact du tube primaire .....	
4.1.10.2	Impact de l'aliquot secondaire .....	

4.1.10.3	Impact de la température, de la durée de stockage du tube primaire et de l'aliquot secondaire.....	
4.1.11	Discussion.....	
4.2	Etude des paramètres pré-analytiques et évaluation de l'efficacité diagnostique de l'hepcidine urinaire dans l'identification d'une carence martiale .....	
4.2.1	Résultats de la population étudiée.....	
4.2.2	Impact de l'ajout d'ABS sur les concentrations urinaires en hepcidine.....	
4.2.3	Corrélation entre l'hepcidine urinaire et la ferritine.....	
4.2.4	Evaluation de l'efficacité diagnostique des taux d'hepcidine mesurés sur des échantillonnages différents pour l'identification de la carence martiale absolue.....	
4.2.5	Aspects pré-analytiques pour la mesure de l'hepcidine urinaire.....	
4.2.6	Discussion.....	
4.3	Mesure de l'hepcidine basale dans le diagnostic différentiel des anémies du sujet âgé et étude de sa corrélation avec l'augmentation relative de la saturation de la transferrine après un test de surcharge en fer oral.....	
4.3.1	Temps de prélèvement optimal pour la réalisation du test d'absorption en fer oral	
4.3.2	Efficacité diagnostique de l'hepcidinémie basale dans le diagnostic différentiel des anémies .....	
4.3.3	Corrélation entre la valeur d'hepcidinémie basale et l'augmentation relative de la saturation de la transferrine après de test de surcharge.....	
4.3.4	Discussion.....	
5	Discussion générale.....	
6	Conclusions et perspectives .....	
7	Bibliographie:.....	