

Année 2020

2020 TOU3 1905

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE
SPÉCIALITÉ BIOLOGIE MÉDICALE

Présentée et soutenue publiquement par

Alizée POTRON

Le 12 octobre 2020

ÉTUDE DU STATUT BIOLOGIQUE EN VITAMINES B1, B6 ET C CHEZ LES PATIENTS HÉMODIALYSÉS CHRONIQUES DU CHU DE TOULOUSE

Directeur de la thèse : Dr Anne GALINIER

JURY :

Monsieur le Professeur Thierry LEVADE	Président
Madame le Professeur Peggy GANDIA	Assesseur
Madame le Docteur Cécile INGUENEAU	Assesseur
Monsieur le Docteur Bruno SEIGNEURIC	Assesseur



TABLEAU du PERSONNEL HU
des Facultés de Médecine de l'Université Paul Sabatier
au 1^{er} septembre 2019
Professeurs Honoraires

Doyen Honoraire M. CHAP Hugues
Doyen Honoraire M. GUIRAUD-CHAUMEIL Bernard
Doyen Honoraire M. LAZORTHES Yves
Doyen Honoraire M. PUEL Pierre
Doyen Honoraire M. ROUGE Daniel
Doyen Honoraire M. VINEL Jean-Pierre
Professeur Honoraire M. ABBAL Michel
Professeur Honoraire M. ADER Jean-Louis
Professeur Honoraire M. ARBUS Louis
Professeur Honoraire M. ARLET Jacques
Professeur Honoraire M. ARLET Philippe
Professeur Honoraire M. ARLET-SUAU Elisabeth
Professeur Honoraire M. ARNE Jean-Louis
Professeur Honoraire M. BARRET André
Professeur Honoraire M. BARTHE Philippe
Professeur Honoraire M. BAYARD Francis
Professeur Honoraire M. BOCCALON Henri
Professeur Honoraire M. BONAFÉ Jean-Louis
Professeur Honoraire M. BONEU Bernard
Professeur Honoraire M. BONNEVILLE Paul
Professeur Honoraire M. BOUNHOURE Jean-Paul
Professeur Honoraire M. BOUTAULT Franck
Professeur Honoraire Associé M. BROS Bernard
Professeur Honoraire M. BUGAT Roland
Professeur Honoraire M. CAHUZAC Jean-Philippe
Professeur Honoraire M. CARATERO Claude
Professeur Honoraire M. CARLES Pierre
Professeur Honoraire M. CARRIERE Jean-Paul
Professeur Honoraire M. CARTON Michel
Professeur Honoraire M. CATHALA Bernard
Professeur Honoraire M. CHABANON Gérard
Professeur Honoraire M. CHAMONTIN Bernard
Professeur Honoraire M. CHAP Hugues
Professeur Honoraire M. CHAVOIN Jean-Pierre
Professeur Honoraire M. CLANET Michel
Professeur Honoraire M. CONTE Jean
Professeur Honoraire M. COSTAGLIOLA Michel
Professeur Honoraire M. COTONAT Jean
Professeur Honoraire M. DABERNAT Henri
Professeur Honoraire M. DALOUS Antoine
Professeur Honoraire M. DALY-SCHVEITZER Nicolas
Professeur Honoraire M. DAVID Jean-Frédéric
Professeur Honoraire M. DELSOL Georges
Professeur Honoraire Mme DELISLE Marie-Bernadette
Professeur Honoraire Mme DIDIER Jacqueline
Professeur Honoraire M. DUCOS Jean
Professeur Honoraire M. DUFFAUT Michel
Professeur Honoraire M. DUPRE M.
Professeur Honoraire M. DURAND Dominique
Professeur Honoraire associé M. DUTAU Guy
Professeur Honoraire M. ESCANDE Michel
Professeur Honoraire M. ESCHAPASSE Henri
Professeur Honoraire M. ESCOURROU Jean
Professeur Honoraire M. ESQUERRE J.P.
Professeur Honoraire M. FABIÉ Michel
Professeur Honoraire M. FABRE Jean
Professeur Honoraire M. FOURNIAL Gérard
Professeur Honoraire M. FOURNIE Bernard
Professeur Honoraire M. FOURTANIER Gilles
Professeur Honoraire M. FRAYSSE Bernard
Professeur Honoraire M. FREXINOS Jacques
Professeur Honoraire Mme GENESTAL Michèle
Professeur Honoraire M. GERAUD Gilles
Professeur Honoraire M. GHISOLFI Jacques
Professeur Honoraire M. GOUZI Jean-Louis
Professeur Honoraire M. GUIRAUD CHAUMEIL Bernard
Professeur Honoraire M. HOFF Jean
Professeur Honoraire M. JOFFRE Francis
Professeur Honoraire M. LACOMME Yves
Professeur Honoraire M. LAGARRIGUE Jacques
Professeur Honoraire Mme LARENG Marie-Blanche
Professeur Honoraire M. LARENG Louis
Professeur Honoraire M. LAURENT Guy
Professeur Honoraire M. LAZORTHES Franck
Professeur Honoraire M. LAZORTHES Yves
Professeur Honoraire M. LEOPHONTE Paul
Professeur Honoraire M. MAGNAVAL Jean-François
Professeur Honoraire M. MANELFE Claude

Professeur Honoraire M. MANSAT Michel
Professeur Honoraire M. MASSIP Patrice
Professeur Honoraire Mme MARTY Nicole
Professeur Honoraire M. MAZIERES Bernard
Professeur Honoraire M. MONROZIES Xavier
Professeur Honoraire M. MOSCOVICI Jacques
Professeur Honoraire M. MURAT
Professeur Honoraire associé M. NICODEME Robert
Professeur Honoraire M. OLIVES Jean-Pierre
Professeur Honoraire M. PASCAL Jean-Pierre
Professeur Honoraire M. PESSEY Jean-Jacques
Professeur Honoraire M. PLANTE Pierre
Professeur Honoraire M. PONTONNIER Georges
Professeur Honoraire M. POURRAT Jacques
Professeur Honoraire M. PRADERE Bernard
Professeur Honoraire M. PRIS Jacques
Professeur Honoraire Mme PUEL Jacqueline
Professeur Honoraire M. PUEL Pierre
Professeur Honoraire M. PUJOL Michel
Professeur Honoraire M. QUERLEU Denis
Professeur Honoraire M. RAILHAC Jean-Jacques
Professeur Honoraire M. REGIS Henri
Professeur Honoraire M. REGNIER Claude
Professeur Honoraire M. REME Jean-Michel
Professeur Honoraire M. RISCHMANN Pascal
Professeur Honoraire M. RIVIERE Daniel
Professeur Honoraire M. ROCHE Henri
Professeur Honoraire M. ROCHICCIOLI Pierre
Professeur Honoraire M. ROLLAND Michel
Professeur Honoraire M. ROQUE-LATRILLE Christian
Professeur Honoraire M. RUMEAU Jean-Louis
Professeur Honoraire M. SALVADOR Michel
Professeur Honoraire M. SALVAYRE Robert
Professeur Honoraire M. SARRAMON Jean-Pierre
Professeur Honoraire M. SIMON Jacques
Professeur Honoraire M. SUC Jean-Michel
Professeur Honoraire M. THOUVENOT Jean-Paul
Professeur Honoraire M. TREMOULET Michel
Professeur Honoraire M. VALDIGUIE Pierre
Professeur Honoraire M. VAYSSE Philippe
Professeur Honoraire M. VIRENQUE Christian
Professeur Honoraire M. VOIGT Jean-Jacques

Professeurs Emérites

Professeur ADER Jean-Louis
Professeur ALBAREDE Jean-Louis
Professeur ARBUS Louis
Professeur ARLET Philippe
Professeur ARLET-SUAU Elisabeth
Professeur BOCCALON Henri
Professeur BOUTAULT Franck
Professeur BONEU Bernard
Professeur CARATERO Claude
Professeur CHAMONTIN Bernard
Professeur CHAP Hugues
Professeur CONTÉ Jean
Professeur COSTAGLIOLA Michel
Professeur DABERNAT Henri
Professeur FRAYSSE Bernard
Professeur DELISLE Marie-Bernadette
Professeur GUIRAUD-CHAUMEIL Bernard
Professeur JOFFRE Francis
Professeur LAGARRIGUE Jacques
Professeur LARENG Louis
Professeur LAURENT Guy
Professeur LAZORTHES Yves
Professeur MAGNAVAL Jean-François
Professeur MANELFE Claude
Professeur MASSIP Patrice
Professeur MAZIERES Bernard
Professeur MOSCOVICI Jacques
Professeur MURAT
Professeur ROQUES-LATRILLE Christian
Professeur SALVAYRE Robert
Professeur SARRAMON Jean-Pierre
Professeur SIMON Jacques

FACULTE DE MEDECINE TOULOUSE-PURPAN

37 allées Jules Guesde - 31062 TOULOUSE Cedex

Doyen : D. CARRIE

P.U. - P.H.

Classe Exceptionnelle et 1ère classe

M. ADOUE Daniel (C.E)	Médecine Interne, Gériatrie
M. AMAR Jacques	Thérapeutique
M. ATTAL Michel (C.E)	Hématologie
M. AVET-LOISEAU Hervé	Hématologie, transfusion
Mme BEYNE-RAUZY Odile	Médecine Interne
M. BIRMES Philippe	Psychiatrie
M. BLANCHER Antoine	Immunologie (option Biologique)
M. BOSSAVY Jean-Pierre (C.E)	Chirurgie Vasculaire
M. BRASSAT David	Neurologie
M. BROUCHET Laurent	Chirurgie thoracique et cardio-vascul
M. BROUSSET Pierre (C.E)	Anatomie pathologique
M. BUREAU Christophe	Hépatogastro-entérologie
M. CALVAS Patrick (C.E)	Génétique
M. CARRERE Nicolas	Chirurgie Générale
M. CARRIE Didier (C.E)	Cardiologie
M. CHAIX Yves	Pédiatrie
Mme CHARPENTIER Sandrine	Médecine d'urgence
M. CHAUVEAU Dominique	Néphrologie
M. CHOLLET François (C.E)	Neurologie
M. DAHAN Marcel (C.E)	Chirurgie Thoracique et Cardiaque
M. DE BOISSEZON Xavier	Médecine Physique et Réadapt Fonct.
M. DEGUINE Olivier (C.E)	Oto-rhino-laryngologie
M. DUCOMMUN Bernard	Cancérologie
M. FERRIERES Jean (C.E)	Epidémiologie, Santé Publique
M. FOURCADE Olivier	Anesthésiologie
M. FOURNIÉ Pierre	Ophthalmologie
M. GAME Xavier	Urologie
M. GEERAERTS Thomas	Anesthésiologie et réanimation
M. IZOPET Jacques (C.E)	Bactériologie-Virologie
Mme LAMANT Laurence (C.E)	Anatomie Pathologique
M. LANG Thierry (C.E)	Biostatistiques et Informatique Médicale
M. LANGIN Dominique (C.E)	Nutrition
M. LAUQUE Dominique (C.E)	Médecine Interne
M. LAUWERS Frédéric	Chirurgie maxillo-faciale
M. LIBLAU Roland (C.E)	Immunologie
M. MALAUAUD Bernard	Urologie
M. MANSAT Pierre	Chirurgie Orthopédique
M. MARCHOU Bruno	Maladies Infectieuses
M. MAZIERES Julien	Pneumologie
M. MOLINIER Laurent	Epidémiologie, Santé Publique
M. MONTASTRUC Jean-Louis (C.E)	Pharmacologie
Mme MOYAL Elisabeth	Cancérologie
Mme NOURHASHEMI Fatemeh (C.E)	Gériatrie
M. OSWALD Eric (C.E)	Bactériologie-Virologie
M. PARANT Olivier	Gynécologie Obstétrique
M. PARIENTE Jérémie	Neurologie
M. PARINAUD Jean (C.E)	Biol. Du Dévelop. et de la Reprod.
M. PAUL Carle	Dermatologie
M. PAYOUX Pierre	Biophysique
M. PAYRASTRE Bernard (C.E)	Hématologie
M. PERON Jean-Marie	Hépatogastro-entérologie
M. PERRET Bertrand (C.E)	Biochimie
M. RASCOL Olivier (C.E)	Pharmacologie
M. RECHER Christian(C.E)	Hématologie
M. SALES DE GAUZY Jérôme	Chirurgie Infantile
M. SALLES Jean-Pierre (C.E)	Pédiatrie
M. SANS Nicolas	Radiologie
Mme SELVES Janick	Anatomie et cytologie pathologiques
M. SERRE Guy (C.E)	Biologie Cellulaire
M. TELMON Norbert (C.E)	Médecine Légale
M. VINEL Jean-Pierre (C.E)	Hépatogastro-entérologie

P.U. Médecine générale

M. OUSTRIC Stéphane (C.E)

Professeur Associé de Médecine Générale

Mme IRI-DELAHAYE Motoko

P.U. - P.H.

2ème classe

Mme BONGARD Vanina	Epidémiologie
M. BONNEVILLE Nicolas	Chirurgie orthopédique et traumatologique
Mme CASPER Charlotte	Pédiatrie
M. COGNARD Christophe	Neuroradiologie
M. LAIREZ Olivier	Biophysique et médecine nucléaire
M. LAROCHE Michel	Rhumatologie
M. LEOBON Bertrand	Chirurgie Thoracique et Cardiaque
M. LOPEZ Raphael	Anatomie
M. MARTIN-BLONDEL Guillaume	Maladies infectieuses, maladies tropicales
M. MARX Mathieu	Oto-rhino-laryngologie
M. MAS Emmanuel	Pédiatrie
M. OLIVOT Jean-Marc	Neurologie
M. PAGES Jean-Christophe	Biologie cellulaire
M. PORTIER Guillaume	Chirurgie Digestive
M. RONCALLI Jérôme	Cardiologie
Mme RUYSSSEN-WITRAND Adeline	Rhumatologie
Mme SAVAGNER Frédérique	Biochimie et biologie moléculaire
M. SOL Jean-Christophe	Neurochirurgie
Mme TREMOLLIERES Florence	Biologie du développement
Mme VEZZOSI Delphine	Endocrinologie

P.U. Médecine générale

M. MESTHÉ Pierre

Professeur Associé Médecine générale

M. ABITTEBOUL Yves

M. POUTRAIN Jean-Christophe

Professeur Associé en Bactériologie-Hygiène

Mme MALAUAUD Sandra

FACULTE DE MEDECINE TOULOUSE-RANGUEIL

133, route de Narbonne - 31062 TOULOUSE Cedex

Doyen : E. SERRANO

P.U. - P.H.

Classe Exceptionnelle et 1ère classe

M. ACAR Philippe	Pédiatrie
M. ACCADBLED Franck	Chirurgie Infantile
M. ALRIC Laurent (C.E)	Médecine Interne
Mme ANDRIEU Sandrine	Epidémiologie
M. ARBUS Christophe	Psychiatrie
M. ARNAL Jean-François	Physiologie
Mme BERRY Isabelle (C.E)	Biophysique
M. BONNEVILLE Fabrice	Radiologie
M. BUJAN Louis (C. E)	Urologie-Andrologie
Mme BURA-RIVIERE Alessandra	Médecine Vasculaire
M. BUSCAIL Louis (C.E)	Hépto-Gastro-Entérologie
M. CANTAGREL Alain (C.E)	Rhumatologie
M. CARON Philippe (C.E)	Endocrinologie
M. CHAUFOUR Xavier	Chirurgie Vasculaire
M. CHAYNES Patrick	Anatomie
M. CHIRON Philippe (C.E)	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie
M. CONSTANTIN Arnaud	Rhumatologie
M. COURBON Frédéric	Biophysique
Mme COURTADE SAIDI Monique	Histologie Embryologie
M. DAMBRIN Camille	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire
M. DELABESSE Eric	Hématologie
M. DELOBEL Pierre	Maladies Infectieuses
M. DELORD Jean-Pierre	Cancérologie
M. DIDIER Alain (C.E)	Pneumologie
Mme DULY-BOUHANICK Béatrice (C.E)	Thérapeutique
M. ELBAZ Meyer	Cardiologie
M. GALINIER Michel (C.E)	Cardiologie
M. GLOCK Yves (C.E)	Chirurgie Cardio-Vasculaire
Mme GOMEZ-BROUCHET Anne-Muriel	Anatomie Pathologique
M. GOURDY Pierre	Endocrinologie
M. GRAND Alain (C.E)	Epidémiologie. Eco. de la Santé et Prévention
M. GROLLEAU RAOUX Jean-Louis (C.E)	Chirurgie plastique
Mme GUIMBAUD Rosine	Cancérologie
Mme HANAIRE Héléne (C.E)	Endocrinologie
M. HUYGHE Eric	Urologie
M. KAMAR Nassim (C.E)	Néphrologie
M. LARRUE Vincent	Neurologie
M. LEVADE Thierry (C.E)	Biochimie
M. MALECAZE François (C.E)	Ophtalmologie
M. MARQUE Philippe	Médecine Physique et Réadaptation
M. MAURY Jean-Philippe	Cardiologie
Mme MAZEREEUW Juliette	Dermatologie
M. MINVILLE Vincent	Anesthésiologie Réanimation
M. RAYNAUD Jean-Philippe (C.E)	Psychiatrie Infantile
M. RITZ Patrick (C.E)	Nutrition
M. ROLLAND Yves (C.E)	Gériatrie
M. ROUGE Daniel (C.E)	Médecine Légale
M. ROUSSEAU Hervé (C.E)	Radiologie
M. ROUX Franck-Emmanuel	Neurochirurgie
M. SAILLER Laurent	Médecine Interne
M. SCHMITT Laurent (C.E)	Psychiatrie
M. SENARD Jean-Michel (C.E)	Pharmacologie
M. SERRANO Elie (C.E)	Oto-rhino-laryngologie
M. SOULAT Jean-Marc	Médecine du Travail
M. SOULIE Michel (C.E)	Urologie
M. SUC Bertrand	Chirurgie Digestive
Mme TAUBER Marie-Thérèse (C.E)	Pédiatrie
Mme URO-COSTE Emmanuelle	Anatomie Pathologique
M. VAYSSIERE Christophe	Gynécologie Obstétrique
M. VELLAS Bruno (C.E)	Gériatrie

Professeur Associé de Médecine Générale

M. STILLMUNKES André

P.U. - P.H.

2ème classe

M. AUSSEIL Jérôme	Biochimie et biologie moléculaire
M. BERRY Antoine	Parasitologie
M. BOUNES Vincent	Médecine d'urgence
Mme BOURNET Barbara	Gastro-entérologie
M. CHAPUT Benoit	Chirurgie plastique et des brûlés
Mme DALENC Florence	Cancérologie
M. DECRAMER Stéphane	Pédiatrie
M. FAGUER Stanislas	Néphrologie
Mme FARUCH BILFELD Marie	Radiologie et imagerie médicale
M. FRANCHITTO Nicolas	Addictologie
Mme GARDETTE Virginie	Epidémiologie
M. GARRIDO-STÖWHAS Ignacio	Chirurgie Plastique
Mme LAPRIE Anne	Radiothérapie
Mme LAURENT Camille	Anatomie Pathologique
M. LE CAIGNEC Cédric	Génétique
M. LEANDRI Roger	Biologie du dével. et de la reproduction
M. MARCHEIX Bertrand	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
M. MEYER Nicolas	Dermatologie
M. MUSCARI Fabrice	Chirurgie Digestive
M. REINA Nicolas	Chirurgie orthopédique et traumatologique
M. SILVA SIFONTES Stein	Réanimation
M. SOLER Vincent	Ophtalmologie
Mme SOMMET Agnès	Pharmacologie
Mme SOTO-MARTIN Maria-Eugénia	Gériatrie et biologie du vieillissement
M. TACK Ivan	Physiologie
M. VERGEZ Sébastien	Oto-rhino-laryngologie
M. YSEBAERT Loic	Hématologie

P.U. Médecine générale

Mme ROUGE-BUGAT Marie-Eve

Professeur Associé de Médecine Générale

M. BOYER Pierre

FACULTE DE MEDECINE TOULOUSE-PURPAN
37, allées Jules Guesde – 31062 Toulouse Cedex

FACULTE DE MEDECINE TOULOUSE- RANGUEIL
133, route de Narbonne - 31062 TOULOUSE cedex

M.C.U. - P.H.

M.C.U. - P.H

M. ABBO Olivier	Chirurgie infantile
M. APOIL Pol Andre	Immunologie
Mme ARNAUD Catherine	Epidémiologie
Mme BERTOLI Sarah	Hématologie, transfusion
M. BIETH Eric	Génétique
Mme CASPAR BAUGUIL Sylvie	Nutrition
Mme CASSAGNE Myriam	Ophtalmologie
Mme CASSAING Sophie	Parasitologie
M. CAVAINAC Etienne	Chirurgie orthopédique et traumatologie
Mme CHANTALAT Elodie	Anatomie
M. CONGY Nicolas	Immunologie
Mme COURBON Christine	Pharmacologie
Mme DAMASE Christine	Pharmacologie
Mme de GLISEZENSKY Isabelle	Physiologie
M. DUBOIS Damien	Bactériologie Virologie Hygiène
Mme FILLAUX Judith	Parasitologie
M. GANTET Pierre	Biophysique
Mme GENNERO Isabelle	Biochimie
Mme GENOUX Annelise	Biochimie et biologie moléculaire
M. HAMDJ Safouane	Biochimie
Mme HITZEL Anne	Biophysique
M. IRIART Xavier	Parasitologie et mycologie
Mme JONCA Nathalie	Biologie cellulaire
M. KIRZIN Sylvain	Chirurgie générale
Mme LAPEYRE-MESTRE Maryse	Pharmacologie
M. LHERMUSIER Thibault	Cardiologie
M. LHOMME Sébastien	Bactériologie-virologie
Mme MONTASTIER Emilie	Nutrition
Mme MOREAU Marion	Physiologie
Mme NOGUEIRA M.L.	Biologie Cellulaire
Mme PERROT Aurore	Hématologie
M. PILLARD Fabien	Physiologie
Mme PUISSANT Bénédicte	Immunologie
Mme RAYMOND Stéphanie	Bactériologie Virologie Hygiène
Mme SABOURDY Frédérique	Biochimie
Mme SAUNE Karine	Bactériologie Virologie
M. TAFANI Jean-André	Biophysique
M. TREINER Emmanuel	Immunologie
Mme TRUDEL Stéphanie	Biochimie
Mme VAYSSE Charlotte	Cancérologie
M. VIDAL Fabien	Gynécologie obstétrique

M.C.U. Médecine générale

M. BRILLAC Thierry
Mme DUPOUY Julie

M.C.A. Médecine Générale

Mme FREYENS Anne
M. CHICOULAA Bruno
Mme PUECH Marielle

Mme ABRAVANEL Florence	Bactériologie Virologie Hygiène
Mme BASSET Céline	Cytologie et histologie
Mme CAMARE Caroline	Biochimie et biologie moléculaire
M. CAMBUS Jean-Pierre	Hématologie
Mme CANTERO Anne-Valérie	Biochimie
Mme CARFAGNA Luana	Pédiatrie
Mme CASSOL Emmanuelle	Biophysique
M. CHASSAING Nicolas	Génétique
M. CLAVEL Cyril	Biologie Cellulaire
Mme COLOMBAT Magali	Anatomie et cytologie pathologiques
Mme CORRE Jill	Hématologie
M. DE BONNECAZE Guillaume	Anatomie
M. DEDOUIT Fabrice	Médecine Légale
M. DEGBOE Yannick	Rhumatologie
M. DELPLA Pierre-André	Médecine Légale
M. DESPAS Fabien	Pharmacologie
M. EDOUARD Thomas	Pédiatrie
Mme ESQUIROL Yolande	Médecine du travail
Mme EVRARD Solène	Histologie, embryologie et cytologie
Mme FLOCH Pauline	Bactériologie-Virologie
Mme GALINIER Anne	Nutrition
Mme GALLINI Adeline	Epidémiologie
M. GASQ David	Physiologie
M. GATIMEL Nicolas	Médecine de la reproduction
Mme GRARE Marion	Bactériologie Virologie Hygiène
M. GUIBERT Nicolas	Pneumologie
Mme GUILBEAU-FRUGIER Céline	Anatomie Pathologique
M. GUILLEMINAULT Laurent	Pneumologie
Mme GUYONNET Sophie	Nutrition
M. HERIN Fabrice	Médecine et santé au travail
Mme INGUENEAU Cécile	Biochimie
M. LEPAGE Benoit	Biostatistiques et Informatique médicale
Mme MAUPAS SCHWALM Françoise	Biochimie
M. MOULIS Guillaume	Médecine interne
Mme NASR Nathalie	Neurologie
Mme QUELVEN Isabelle	Biophysique et médecine nucléaire
M. RIMAILHO Jacques	Anatomie et Chirurgie Générale
M. RONGIERES Michel	Anatomie - Chirurgie orthopédique
Mme VALLET Marion	Physiologie
M. VERGEZ François	Hématologie
M. YRONDI Antoine	Psychiatrie d'adultes

M.C.U. Médecine générale

M. BISMUTH Michel

M.C.A. Médecine Générale

M. BIREBENT Jordan
Mme BOURGEOIS Odile
Mme BOUSSIER Nathalie
Mme LATROUS Leila

Remerciements :

Au Professeur Thierry Levade

Professeur des Universités

Praticien Hospitalier

Chef de service de biochimie

Merci d'avoir accepté la présidence de cette thèse.

Merci également pour vos enseignements de qualités au cours de mes études médicales.

Au Professeur Peggy Gandia

Professeur des Universités

Praticien Hospitalier

Chef de service de toxicologie

Merci d'avoir accepté de faire partie de mon jury.

Merci également pour tout le travail effectué pour le bon fonctionnement du DES de biologie médical.

Au Docteur Cécile Ingueneau :

Maitre de conférences des universités

Praticien hospitalier

Service de biochimie générale et de biochimie de la nutrition

Merci d'avoir accepté de faire partie de mon jury.

Merci également pour toutes les formations apportées lors de mes trois semestres en biochimie.

Au Docteur Bruno Seigneuric :

Praticien hospitalier

Responsable de l'unité d'hémodialyse

Merci d'avoir accepté de faire partie de mon jury.

Merci également d'avoir été l'instigateur de ce travail de thèse qui aura été passionnant.

Au Docteur Anne Galinier :

Maitre de conférences des universités

Praticien hospitalier

Responsable du service de biochimie de la nutrition

Merci de m'avoir offert l'opportunité d'effectuer ce travail et merci pour toute l'aide apportée pour le mener à bien.

A mes proches

A ma grand-mère :

Merci d'avoir toujours été si fière de moi, on attendait ce moment depuis si longtemps, il est enfin arrivé. Je te dédie ce travail et j'espère que la présentation sera à la hauteur de ce que tu espérais.

A mes parents :

Merci de m'avoir fait naître d'abord, c'est quand même plutôt cool de votre part. Et merci de m'avoir encouragée et soutenue pendant toutes ces années. C'était long mais on y est arrivé !

A ma mère :

Merci d'avoir toujours été là pour moi. D'avoir pris soin de moi quand ça n'allait pas et d'avoir toujours cru en moi.

A mon père :

Merci de m'avoir toujours poussée à donner le meilleur et à avoir de l'ambition dans la vie. Merci aussi pour les vacances kitesurf, franchement c'est chouette et on recommence ça bientôt parce que j'ai un peu perdu.

A mes frères :

Merci de ne pas faire le même boulot que moi pour qu'on ne puisse pas se comparer (mais sinon je sais que j'aurais été la meilleure).

A Martial :

Merci de toujours me faire rire quand on se voit. Et aussi d'avoir eu la bonne idée d'aller vivre à Singapour, c'est une des raisons pour lesquels je pars vivre sous les tropiques. J'espère que tu viendras vite me rendre visite avec ou sans les enfants (ça sert à ça les grands parents).

A Kevin :

Merci d'avoir été un chouette coloc pendant le début de mes années de médecine, et de ne pas toujours avoir les mêmes opinions que moi pour qu'on puisse avoir des débats intéressants. Je t'attends à la Réunion pour de prochaines rando (avec crème solaire cette fois) et des plongés fantastiques.

A Claire :

Merci, merci d'avoir rendu Martial vivable ! J'apprécie énormément de ne plus me faire frapper à chaque fois que je passe à côté. Et c'est toujours appréciable d'avoir une sœur quand on a grandi avec deux idiots de frères. J'ai hâte que vous rentriez en France, et que vous veniez me rendre visite sous les tropiques (pour pas perdre tout le bronzage).

A mon neveu et ma nièce qui ne savent pas encore lire :

Merci d'exister pour me motiver à toujours faire plus pour l'écologie pour que vous puissiez grandir dans un monde agréable.

A mes animaux qui me soutiennent sans le savoir.

A Eléonore, oui je te détestai ! Puis j'ai goûté l'un de tes cookies ! Tu as intérêt à venir me voir à la Réunion et possiblement à déménager là-bas, idéalement dans la maison à côté de la mienne et on se fera l'intégrale de Shinzo en souvenir du bon vieux temps. Il y a des groupes de musiques là-bas aussi et tu pourras donner des concerts sur la plage.

A Doriane, qui revient à Toulouse quand je pars, franchement quelle idée. Merci de m'avoir soutenue toutes ces années, ta présence est un rayon de soleil dans ma vie.

A Claire, merci d'être là quand j'en ai besoin, même si on habite loin et qu'on se voit peu, tu es toujours là pour les moments importants et j'espère que ça continuera. N'hésite surtout pas à laisser tes enfants à Yann et à venir me rejoindre une semaine ou deux au soleil.

A Charlotte, on aura passé des mois difficiles toutes les deux et j'espère que tu trouveras la voie qui te rend heureuse. En tout cas si tu craques ma porte est toujours ouverte où que je sois.

A Eve, qui m'aura conduit sur la voie du végétal power, je sais que ton phénotype n'est pas adapté mais il faudra que tu viennes goûter mes futures recettes de plats tropicaux.

A Elsa et Max, merci de m'avoir accueilli si souvent chez vous pour déguster vos petits plats et pour profiter de discussions passionnantes, j'espère que vous

prévoyez vos prochaines vacances pour venir me voir dans un autre hémisphère.

A Anne Sophie, quelle drôle d'idée tu as eu d'aller t'exiler au Canada ! Mais depuis le temps que je le dis je vais enfin avoir suffisamment de vacances pour venir te voir alors prépare le canapé lit !

A Adélaïde qui a partagé une partie de mon aventure toulousaine, merci de m'avoir soutenue pendant ces quelques mois de printemps qui ont été parmi les plus dur de ma vie. Je te souhaite plein de bonheur dans ton nouveau job en espérant que tu tombes enfin sur des collègues dignes de ta gentillesse.

A Alicia et ton caractère bien trempée, merci de m'héberger régulièrement pour que je puisse garder un peu le contact. Et je suis tellement heureuse pour toi, ta vie à évoluer dans un super sens ces dernières années, j'espère de tout cœur que ça va continuer.

A Virginie, prof de math à la Réunion ça te tente pas ? Je sais que ça t'intéresse pas mais je tente quand même. Mais sinon je te souhaite quand même que ta santé arrête de te faire de mauvaises blagues. Je suis sûre que le soleil et un petit cyclone de temps en temps ça ferait des merveilles.

A Coralie, ta combativité et ton optimisme est un exemple pour tous. Promis je viendrais te voir quand je reviendrais en métropole.

A Solange, qui me fait toujours sourire, j'espère que la crise de cette année ne s'éternisera pas. Et on se retrouve à Chatillon quand tu veux.

A Elodie, nos petites séances de visionnage à distance m'ont beaucoup aidé en ces temps difficiles et dès que j'ai retrouvé toute ma stabilité émotionnelle on se refait ça.

A Florie, merci pour le soutien pendant la rédaction de cette thèse, et pour m'accompagner quand j'ai envie de regarder des émissions débiles. On se retrouve très vite au soleil, un cocktail à la main.

A Bastien et Vuthy, mes co-internes préférés. Merci pour les 4 premiers semestres d'internat, vous êtes la meilleure équipe avec laquelle j'ai travaillé.

A toute l'équipe de nutrition, merci de m'avoir formé et supporté pendant la réalisation de ce travail.

A ma santé mentale :

Merci d'avoir tenue le coup, c'était pas tous les jours faciles mais tu l'as fait. Maintenant j'espère que tu es prête pour la suite, je suis pas sûre que ce sera plus simple.

A Tristan, c'était bien jusqu'à mars.

Liste des abréviations

- AA : Acide ascorbique
- AFB : Acetate-free biofiltration (Biofiltration sans acétate)
- ABFK : ABF with Potassium Profiled Dialysate (ABFK avec dialysat adapté en potassium)
- AMP : Acide métaphosphorique
- Anses : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
- ATP : Adénosine tri-phosphate
- CHU : Centre hospitalier universitaire
- DHA : Déhydroascorbate
- EGOTa : activité de la glutamate-oxalo-acetate transaminase érythrocytaire
- EPO : Erythropoïétine
- ERN : Espèces réactives dérivées de l'azote
- ERO : Espèces réactives dérivées de l'oxygène
- ETK : Transcétolase érythrocytaire
- ETKa : Activité de la transcétolase érythrocytaire
- FAD : Flavine adénine dinucléotide
- FMN : Flavine mono-nucléotide
- GABA : Acide γ -aminobutyrique
- HAS : Haute Autorité de santé
- HD : Hémodialyse

- HDF : Hémodiafiltration
- HDL : High density lipoprotein (Lipoprotéine de haute densité)
- HPLC : High performance liquid chromatography (chromatographie liquide haute performance)
- LDL : Low density lipoprotein (Lipoprotéine de faible densité)
- MPO : Myéloperoxydase
- NAD : Nicotinamide adénine dinucléotide
- NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
- ODP : L'O-Phénylène Diamine Dihydrochloride
- OTPP : Oxythiamine pyrophosphate
- PA : Acide pyridoxique
- PL : Pyridoxal
- PLP : phosphate de Pyridoxal
- PM : Pyridoxamine
- PN : Pyridoxine
- SI : Standard interne
- SVCT : Sodium vitamine C transporteur
- T⁺ : Thiamine sous forme de cation organique
- TBP : Thiamine binding protein (Protéine liant la thiamine)
- TDP : Thiamine di-phosphate
- TMP : Thiamine mono-phosphate

-TPP : Thiamine pyrophosphate

-TR : Temps de rétention

-TRR : Temps de rétention relatif

-TTP : Thiamine tri-phosphate

Table des matières

I.	Introduction	3
II.	Généralités sur l'hémodialyse	5
III.	Vitamine B1	7
A.	Généralité.....	7
1.	Métabolisme	7
2.	Rôles physiologiques	11
3.	Signes de carence	14
4.	Chez les patients hémodialysés chroniques.....	16
B.	Matériels et méthode	18
1.	Population étudiée	18
2.	Technique de dosage	19
3.	Analyse statistique	24
C.	Résultats	25
D.	Discussion.....	27
IV.	Vitamine B6	28
A.	Généralités	28
1.	Métabolisme	28
2.	Rôles physiologiques	32
3.	Signes de carence	38
4.	Surdosage	40
5.	Particularité chez les patients hémodialysés.....	40
B.	Matériel et méthode	42
1.	Population	42
2.	Méthode de dosage	43
C.	Résultats	45
D.	Discussion.....	47
V.	Vitamine C	48
A.	Généralités	48
1.	Métabolisme	48
2.	Rôles physiologiques	54
3.	Signes de carences	63
4.	Enjeu de la supplémentation en vitamine C chez les patients hémodialysés.....	64

B.	Matériels et méthode	67
1.	Population	67
2.	Méthode de dosage	69
	Tableau 14 : Méthode de préparation des échantillons pour le dosage de la vitamine C sérique en HPLC	70
3.	Analyse statistique	74
C.	Résultats	75
D.	Discussion	92
VI.	Conclusion	94
VII.	Bibliographie	95
VIII.	Annexes	103

I. Introduction

Les patients hémodialysés représentent une population particulière dans l'étude de leur statut vitaminique. D'une part, ils sont soumis à des restrictions alimentaires très strictes. Ils doivent surveiller leurs apports hydriques, l'eau ingérée ne sera pas éliminée correctement par le rein et cela contribue à l'augmentation de la volémie et donc de la pression artérielle, de même que les apports sodés. Les patients doivent également limiter leurs apports en phosphore qui risquerait de modifier l'équilibre phospho-calcique et de favoriser la calcification des vaisseaux sanguins. Et enfin ils doivent limiter les apports en potassium pour éviter les troubles du rythme cardiaque. Il se trouve que les aliments riches en potassium sont également riches en vitamines, principalement la vitamine C.

D'autre part, ils subissent une épuration sanguine plusieurs fois par semaine qui filtre les vitamines hydrosolubles. Il y a donc une potentialisation de ces deux caractéristiques qui rend les patients hémodialysés plus sujets aux carences en vitamines.

De plus, l'insuffisance rénale qui conduit à l'accumulation de nombreux métabolites complique la prise en charge métabolique et clinique. Comme nous le verrons plus loin l'accumulation de métabolites de la vitamine B1 peut jouer un rôle dans la diminution de l'activité de certaines enzymes, l'excès de vitamine B6 peut être toxique et conduire à des manifestations cliniques aussi grave que celles d'une carence, et l'acide oxalique, métabolite de la vitamine C, peut précipiter avec le calcium et s'accumuler dans les tissus. L'introduction d'une supplémentation n'est donc pas anodine.

Une autre question se pose, quand faut-il doser les vitamines chez ces patients ?

La HAS recommande de doser les vitamines en cas de tableau clinique compatible avec une carence, mais ce sont des patients qui sont polyopathologiques et qui présentent de nombreux symptômes difficilement rapportés à une carence spécifique dont la cinétique d'installation peut être insidieuse.

Les néphrologues du CHU de Toulouse responsables de l'unité de dialyse, nous ont demandé d'étudier le statut vitaminique chez les patients hémodialysés chroniques afin de confirmer ou non la présence de carences, de préciser la nécessité d'un dosage régulier chez ces patients et d'évaluer le besoin d'une supplémentation systématique.

Nous allons donc étudier successivement ces aspects pour les vitamines B1, B6 et C.

II. Généralités sur l'hémodialyse

L'hémodialyse est un système d'épuration extra-rénal permettant de suppléer les reins lorsque ceux-ci ne peuvent plus assurer leur fonction de filtration.

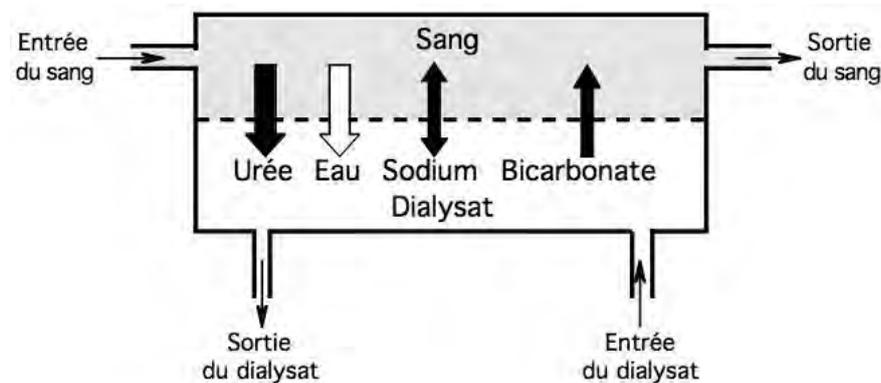


Figure 1 : Principe de fonctionnement de la dialyse

Le sang passe dans l'appareil de dialyse et se trouve en contact avec une membrane semi-perméable. Cette membrane sépare le sang du dialysat. Le dialysat est un liquide de composition contrôlée qui circule dans le sens inverse du sang. Ce système permet de maintenir un gradient favorable à l'élimination des métabolites sanguins du patients.

L'épuration sanguine est possible grâce à deux phénomènes physiques :

- La diffusion : c'est le passage d'un soluté d'un compartiment où il est très concentré vers un compartiment où il est moins concentré. C'est un procédé passif. Il suffit de contrôler la constitution du dialysat en fonction des molécules que l'on veut enlever du sang.
- La convection : c'est l'utilisation d'une différence de pression entre deux compartiments. Les deux compartiments séparés par une membrane semi-perméable subissent un transfert d'eau qui se déplace du compartiment avec la pression la plus haute vers le compartiment avec la pression la plus

basse en emportant les molécules contenues dans le premier compartiment. Pour cela la pompe qui gère le flux de sang va créer une surpression dans le circuit sanguin afin de favoriser l'élimination des molécules, et la pompe qui gère le flux du dialysat va créer une aspiration. Ce phénomène permet l'élimination de grands volumes hydriques et l'élimination des solutés est corrélée au débit appliqué au système.

Les systèmes d'hémodialyses (HD) fonctionnent grâce au système de diffusion alors que dans les systèmes d'hémodiafiltrations (HDF) à haut débit, le mécanisme de convection est prépondérant. Le volume hydrique éliminé est tel qu'il faut le corriger pour ne pas trop diminuer la volémie du patient ce qui pourrait le faire thromboser. Il faut donc administrer une solution de réinjection pour corriger la volémie.

Il y a aussi de nombreux paramètres qui peuvent être modulables lors d'une séance de dialyse afin de s'adapter au mieux au besoin du patient :

- La membrane
- Le bain de dialyse
- Le volume de substitution
- La durée de la séance de dialyse

Nous verrons également que certains patients sont dialysés par une technique AFBK (AFB with Potassium Profiled Dialysate). L'AFB (acetate-free biofiltration) est une technique qui n'utilise pas d'acétate et l'AFBK permet d'avoir une variation de la concentration de potassium dans le bain de dialyse, cela permet de diminuer les risques d'arythmie.

III. Vitamine B1

A. Généralité

1. Métabolisme

a) Structure

La thiamine, ou vitamine B1, comporte deux hétérocycles, un **cycle pyrimidique** bi-substitué par un radical méthyl et une fonction amine primaire et un **cycle thiazolique** soufré et azoté bi-substitué par un radical méthyl et un groupe β -hydroxyl-éthyl (Figure 2). Ces cycles sont reliés par un pont méthylène qui est la partie fragile de la molécule qui explique sa thermolabilité.

C'est le groupe β -hydroxyl-éthyl sur le carbone 5 du noyau thiazole qui permet la formation des ester mono, di et triphosphoriques.

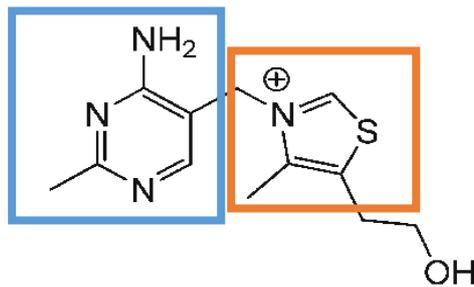


Figure 2 : Structure moléculaire de la thiamine

b) Sources

La vitamine B1 est apportée par l'alimentation, on la trouve dans les végétaux sous forme libre (Thiamine) et dans les produits animaux sous forme phosphorylée (Thiamine mono-phosphate ou TMP et Thiamine di-phosphate ou TDP) liée aux protéines.

Aliment	Teneur moyenne en vitamine B1 (mg/100g)
Levure alimentaire	11.6
Levure de boulanger, déshydratée	11
Gelée royale	4.3
Terrine ou mousse de légumes	2.82
Son de riz	2.75
Biscuit sec à teneur garantie en vitamines	2.6
Spiruline (<i>Spirulina</i> sp.), séchée ou deshydratée	2.38
Fond de veau pour sauces et cuisson, déshydraté	2.19
Tournesol, graine	1.98
Biscuit sec à teneur garantie en vitamines et minéraux	1.7

Tableau 1 : Liste des 10 aliments les plus riches en vitamine B1, source Anses

c) Besoins physiologiques

L'Anses recommande un apport journalier de 1.5mg/j pour les hommes et 1.2mg/j chez les femmes. Compte tenu de la faible toxicité à forte dose, il n'y a aucune limite de sécurité établie.

d) Absorption

On trouve toutes les formes de la thiamine dans l'alimentation mais la forme principale est la thiamine di-phosphate aussi appelé thiamine pyrophosphate (TPP). Dans la lumière intestinale les formes phosphorylées sont rapidement hydrolysées et on retrouve principalement la thiamine sous sa forme libre de cation organique (T^+). Chez le rat suivant un régime habituel les concentrations en thiamine intraluminales sont faibles, inférieures à $2\mu\text{mol.l}^{-1}$ (1).

Pour des concentrations de thiamine intraluminale jusqu'à $2\mu\text{mol.l}^{-1}$, obtenue lors d'ingestion de l'ordre du mg de thiamine, l'absorption par les entérocytes dépend d'un transporteur saturable(2) mettant en jeu un transporteur de proton ainsi que la phosphorylation intracellulaire de la thiamine permettant de maintenir un gradient de concentration.

L'absorption est maximale au niveau duodéno-jéjunal.

Pour de plus fortes concentrations, principalement lors de suppléments, le transport actif est saturé mais on observe une absorption passive non saturable(3).

La sortie de la cellule se fait majoritairement par l'intermédiaire d'une Na^+ , K^+ ATPase(4) mais il existe également une diffusion passive de T^+ et de thiamine mono phosphate (TMP) à travers la membrane du pôle basale de la cellule.

e) *Distribution*

La thiamine est une vitamine hydrosoluble, elle circule principalement sous forme libre.

Dans la voie porte, elle circule majoritairement sous forme non phosphorylée.

Le plasma renferme 10% de la vitamine B1 de l'organisme, principalement sous forme de TPP. Une partie (20 à 30%) circule liée aux protéines(5), la plus importante étant la thiamine binding protein (TBP).

La thiamine circule également dans les érythrocytes, principalement sous forme de Thiamine pyrophosphate (TPP). L'entrée de la thiamine dans les érythrocytes se fait par un mécanisme de diffusion facilitée proche de celui des entérocytes, il fait entrer T^+ dans la cellule en échange d'un proton(6).

Le passage de la thiamine à travers de la barrière hémato-encéphalique fait également intervenir un transport actif et saturable et un transport passif non

saturable. Le transport actif fait intervenir les phosphatases liées à la membrane cellulaire. Ce transporteur permet de faire passer principalement de la thiamine libre.

De plus on note que la concentration de thiamine diffère entre les différentes zones du cerveau, le cervelet est la structure cérébrale la plus riche en thiamine. Il existe une régulation fine des concentrations de thiamine dans le cerveau(7).

Dans les autres tissus, le transport de la thiamine est très similaire à celui de l'intestin, un transport actif électro-neutre ne dépendant pas du sodium.

Dans le rein on observe également un transporteur actif pour T^+ au niveau des tubules qui permettent une réabsorption de la thiamine filtrée(8).

Dans le placenta le transporteur permet le passage principalement dans le sens mère fœtus(9) .

Le tissu le plus riche en thiamine est le muscle squelettique. Les autres tissus les plus riches sont le cœur, le foie, les reins et le cerveau(10). Au niveau du système nerveux, on note que la moelle épinière et l'encéphale ont des teneurs en thiamine deux fois plus élevées que dans les nerfs périphériques.

f) Elimination

La thiamine est éliminée par le rein sous forme libre ou après dégradation. Plus de 30 métabolites ont été retrouvés dans l'urine comme l'acide amino-4-méthyl-2-pyrimidine-carboxylique ou l'acide(méthyl-4-thiazolyl-5) acétique.

Il existe également une faible élimination par voie biliaire.

Lorsque tous les tissus sont saturés en thiamine, tout apport supplémentaire sera éliminé par voie urinaire. Une thiaminurie augmentée est donc un indicateur d'un taux de thiamine satisfaisant dans l'organisme.

La demi-vie de la thiamine est de 9-18 jours.

Dans les selles on peut retrouver de la thiamine car les bactéries intestinales en synthétisent.

2. Rôles physiologiques

La thiamine agit par deux processus distincts, en tant que coenzyme sous forme de thiamine pyrophosphate (TPP) et en tant que neuromodulateur sous forme de thiamine triphosphate (TTP).

a) Régulation enzymatique

Le TPP est un groupement prosthétique pour de nombreuses enzymes se trouvant dans différents compartiments de la cellule.

(1) Dans le cytosol

Le TPP est le coenzyme de transcétolases impliquées dans la voie des pentoses phosphates(11). Plus précisément la partie non oxydative de la voie (Figure 3).

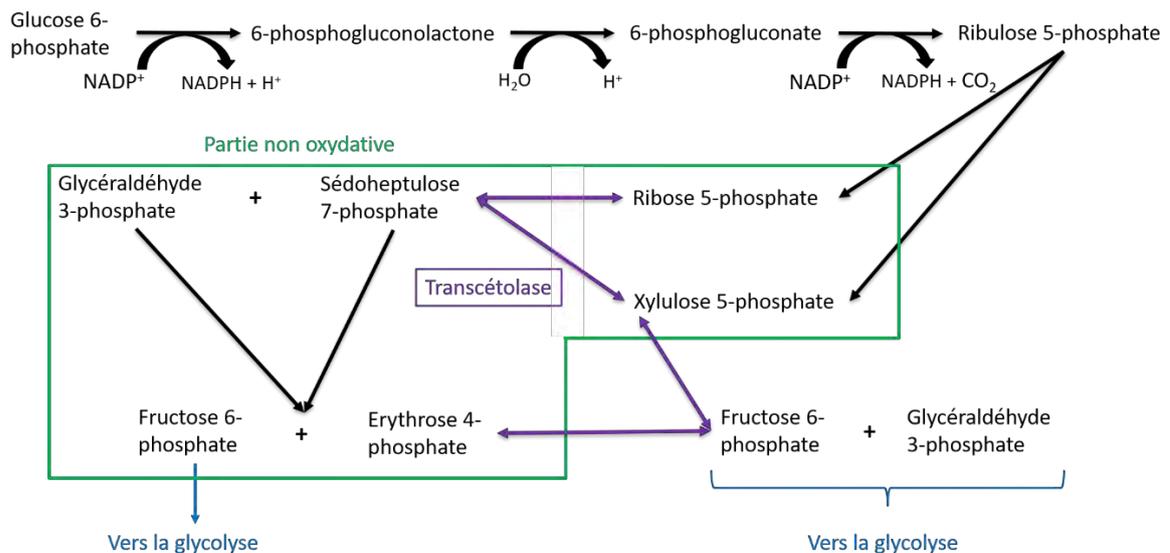


Figure 3 : Voie simplifiée des pentoses phosphates

La partie oxydative de cette voie produit du $\text{NADPH} + \text{H}^+$ qui est utilisé pour la biosynthèse d'acides gras et de stérols et pour la réduction du glutathion qui permet de lutter contre le stress oxydatif.

La voie des pentoses phosphates aboutit également à la formation de ribose 5-phosphate impliqué dans la synthèse des coenzymes pyridiniques (NAD^+ et NADP^+), des coenzymes flaviniques (FAD et FMN), de Coenzyme A et des nucléotides.

La transcétolase est une enzyme réversible qui permet la formation de fructose 6-phosphate et de glycéraldéhyde 3-phosphate qui sont utilisés pour la glycolyse. Elle est impliquée également dans la formation du ribose 5-phosphate.

Chez les personnes présentant une mutation de la transcétolase, le xylulose-5-phosphate, le ribulose-5-phosphate et le ribose-5-phosphate ne sont synthétisés que via la branche oxydative de la voie des pentoses phosphates. L'activité de la branche non oxydative se trouve réduite et il y a une diminution de production des intermédiaires de la glycolyse ce qui conduit à une diminution de la production d'ATP. Ces patients présentent un défaut de croissance, un retard mental et des malformations cardiaques congénitales(12).

(2) Dans la mitochondrie

Le TPP est impliqué auprès de plusieurs enzymes.

(a) Pyruvate déshydrogénase

C'est la sous unité E1 de l'enzyme qui utilise le TPP. Cette enzyme permet la décarboxylation du pyruvate et abouti à la formation d'acétyl-coenzyme A (acétyl-CoA), de CO_2 et de $\text{NADH} + \text{H}^+$

L'acétyl-CoA est le point de départ de la production énergétique en aérobiose mais il est également impliqué dans la biosynthèse des acides gras, des triglycérides et du cholestérol.

Quant au $\text{NADH}+\text{H}^+$ il intervient au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale. Il agit comme donneur d'hydrogène (proton et électron) au complexe 1 de la chaîne respiratoire. Le couplage de phosphorylation de l'ADP et oxydation du $\text{NADPH}+\text{H}^+$ permet la synthèse de l'ATP, principal coenzyme donneur de phosphate pour de nombreuses kinases

(b) α -cétoglutarate déshydrogénase

L' α -cétoglutarate déshydrogénase est l'enzyme E1 du complexe α -cétoglutarate déshydrogénase, ce complexe est responsable de la réaction qui transforme l' α -cétoglutarate en succinyl-CoA dans le cycle de Krebs. Cette réaction produit également du CO_2 et du $\text{NADH}+\text{H}^+$.

(c) Déshydrogénase des acides aminés ramifiés

Ce complexe enzymatique est impliqué dans le catabolisme des acides aminés à chaîne latérale ramifiée tel que la valine, la leucine et l'isoleucine. La première étape du catabolisme est une désamination qui va donner des acides α -cétoniques.

C'est la réaction de décarboxylation oxydative de ces acides qui est TPP dépendante et qui va donner des acyl-coenzyme A. Ces acyl-CoA vont ensuite donner de l'acétyl-CoA et rejoindre le cycle de krebs.

(3) Dans le peroxysome

Dans le peroxysome le TDP est le cofacteur de la 2-hydroxyphytanoyl-CoA lyase qui est impliqué dans la dégradation des acides gras oméga 3 et le raccourcissement des acides gras à longues chaînes(13) (14).

b) Neuromodulation

Le TPP serait un modulateur des canaux chlore au niveau du cerveau(15) (16). Il pourrait également avoir un rôle direct dans la conduction de l'influx nerveux(17).

3. Signes de carence

a) Valeurs de références au CHU de Toulouse

La prescription d'un dosage de vitamine B1 conduit à rendre un résultat de TPP mesuré dans le sang total.

- <71 nmol/l : déficit avéré en coenzyme
- 71-91 nmol/l : déficit potentiel en coenzyme à considérer en fonction des signes cliniques
- 91-153 nmol/l : statut normal en coenzyme
- >153 nmol/l : statut optimisé en coenzyme

Ces valeurs décrites dans la littérature(18) (19) ont été confortées à partir d'extraction de résultats de dosages réalisés au CHU en janvier 2011 et de dosages sur des adultes volontaires sains au CHU en mai 2012

b) Forme marginale de carence

Lors d'une carence on observe une diminution de l'ATP et une accumulation de l'acide lactique dans les cellules, dû à la diminution de l'activité de la pyruvate déshydrogénase et de l' α -cétoglutarate déshydrogénase, qui conduit à l'apoptose des cellules, principalement des cellules nerveuses.

Les premiers signes de carences sont peu spécifiques et s'installent de manière insidieuse. Les patients ont les jambes lourdes avec des œdèmes en fin de journée et des paresthésies. Si le manque d'apport persiste les symptômes vont évoluer vers le Béri-béri.

c) Béri-béri

L'avitaminose B1 donne le tableau clinique du Béri-béri qui associe des atteintes neurologiques et cardiaques mais on observe parfois des formes dissociées.

(1) Forme cardiaque ou humide

Dans la forme humide le patient développe des œdèmes importants qui prennent le godet.

Le patient se plaint de palpitations et de douleurs thoraciques, parfois de dyspnée et d'un pouls rapide et souvent irrégulier. Les veines du cou sont distendues et laissent voir les pulsations. L'échographie cardiaque met en évidence une hypertrophie ventriculaire droite(20). Le cœur augmente de volume. La recherche d'albumine dans les urines, dont le volume est diminué, est négative.

Même si son état ne paraît pas alarmant, un patient atteint de bérubéri humide peut évoluer très rapidement vers une insuffisance circulatoire fatale se traduisant par une peau froide, une cyanose, une augmentation des œdèmes et une dyspnée grave.

(2) Forme neurologique

Dans la forme neurologique on peut observer une neuropathie périphérique et/ou une encéphalopathie de Gayet Wernicke associant des troubles oculomoteurs, une atteinte cérébelleuse avec troubles de l'équilibre et désorientation temporo-spatiale.

L'évolution de l'encéphalopathie de Gayet Wernicke est le syndrome de Korsakoff qui se présente par une amnésie antérograde et rétrograde.

4. Chez les patients hémodialysés chroniques

Dans plusieurs études, ce n'est pas le TPP qui est mesuré mais l'activité de la transcétolase érythrocytaire (ETKa) qui dépend du TPP(21), dans une étude de 1993 on retrouve une activité insuffisante ou marginale chez 46% des patients alors que leurs concentrations de thiamine sur sang total étaient dans les normes(22). Les auteurs suggèrent que la diminution de l'activité transcétolase pourrait être due à une inhibition du système enzymatique par l'urée plutôt qu'à une carence de vitamine B1. Une étude de 2016 montre que la baisse de l'activité de l'ETK pourrait être due à l'augmentation de l'oxythiamine pyrophosphate (OTPP) et qu'une supplémentation en thiamine de 30-45 mg/jours permettrait de rétablir l'ETKa, mais la dose minimale nécessaire à ce rétablissement n'a pas été étudié(23).

Une étude de 2000 a montré qu'une supplémentation de 100mg de thiamine hydrochloride après chaque séance de dialyse permettait d'obtenir des activités normales d'ETK pour 97% des patients. Les activités étaient plus élevés chez les patients recevant la supplémentation trois fois par semaine.(24)

Une étude de 2006 a montré qu'une forte supplémentation en thiamine (250 mg/j) et pyridoxine (200mg/j), n'avait pas d'impact sur le stress oxydatif chez les patients hémodialysés(25).

Une étude de 2016 n'a pas trouvé de déficit en thiamine dans le sang total de 100 patients hémodialysés ne prenant pas de supplémentation(26).

En revanche une étude de 2018 a retrouvé 12% de patients avec une concentration de thiamine indiquant une carence biologique(27).

Une autre étude de 2011 montre un risque augmenté de carence chez les patients en dialyse plus de 15 heures/semaines(28).

Le rapport de la HAS mentionne que dans la majorité des situations cliniques à risque de carence dont l'hémodialyse chronique fait partie, le bénéfice d'une supplémentation en vitamine B1 fait l'objet d'un consensus pour prévenir ou traiter le tableau clinique carenciel. Un groupe de travail nommé par l'HAS vient d'être constitué pour déterminer l'intérêt du dosage de la vitamine B1(29).

B. Matériels et méthode

1. Population étudiée

Pour l'étude de la vitamine B1 une seule campagne a été réalisée en décembre 2018 avec 141 patients hémodialysés. Ces patients ont été comparés aux autres patients du CHU qui ont eu un dosage de vitamine B1 au cours du mois de décembre 2018 soit 685 patients. Pour l'étude statistique, les résultats annulés ou non conforme n'ont pas été conservés.

	Hémodialysés	Patients non hémodialysés
Nombre de patients	141	685
Moyenne d'âge (ans) [min-max]	63 [18-92]	56 [6-98]
Ratio H/F	1,71	0,68
Nombre de valeur étudiée	137	671

Tableau 2 : Résumé des caractéristiques de la population

Nous avons réparti les patients selon 6 tranches d'âges pour vérifier un possible impact de l'âge sur la concentration en TPP. Le tableau 3 nous montre la répartition des patients selon leur âge.

- De 0 à 15 ans : tranche 1
- De 16 à 30 ans : tranche 2
- De 31 à 50 ans : tranche 3
- De 51 à 70 ans : tranche 4
- De 71 à 85 ans : tranche 5
- Plus de 85 ans : tranche 6

Tranche d'âge	Nombre de patients HD	Nombre de patients NHD
1	0	9
2	6	90
3	24	175
4	58	208
5	42	131
6	7	58

Tableau 3 : Répartition des patients selon leur âge

2. Technique de dosage

Au CHU de Toulouse, le TPP est dosé sur sang total par HPLC sur une chaîne auto sampler Thermo Fisher AS 300 avec détection fluorimétrique par un détecteur Jasco FP 1520.

a) *Principes généraux de la chromatographie*

La chromatographie liquide haute performance est une technique séparative basée sur la différence de polarité des différents composants d'un échantillon.

L'échantillon à analyser subit un traitement préalable qui diffère pour chaque dosage et qui sera donc détaillé pour le dosage de chaque vitamine. Le but étant de fixer sur les molécules d'intérêt un groupement qui permettra sa révélation à la sortie de la colonne. Cette étape peut également servir à unifier les formes d'une même molécule. Par exemple une molécule qui se trouverait à l'état réduit et oxydé dans un même échantillon, en les faisant toutes passer à un seul état, cela permet de n'obtenir qu'un seul temps de rétention. On peut également ajouter des groupements pour rendre les molécules plus ou moins polaires.

Après cette phase de traitement, l'échantillon est injecté avec la phase mobile dans la colonne de chromatographie, aussi appelée phase stationnaire. La colonne peut être polaire ou apolaire et la phase mobile possède la caractéristique inverse de la colonne. La phase mobile entraîne les composés de l'échantillon le long de la colonne qui va les retenir en fonction de leurs polarités respectives. Les solutés vont donc sortir de la colonne les uns après les autres.

A la sortie de la colonne, on trouve un détecteur couplé à un enregistreur qui vont permettre d'obtenir un chromatogramme (Figure 4).

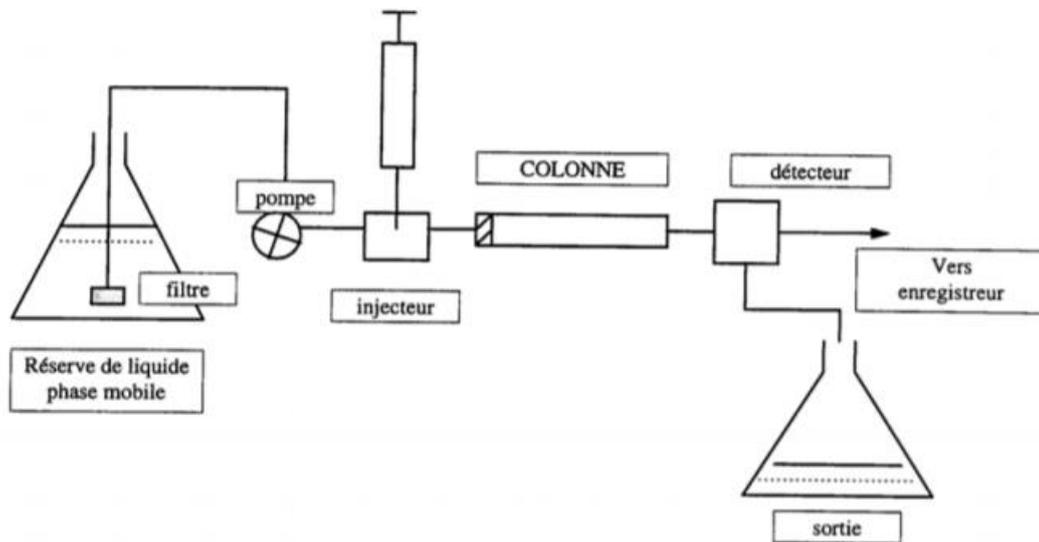


Figure 4 : Principe de fonctionnement de l'HPLC

La pompe est munie d'un système de gradient ce qui lui permet de fonctionner selon deux modes en fonction des besoins.

- Le mode isocratique : sans variation de l'éluant au court de l'analyse
- Le mode gradient : la concentration des composants de l'éluant varie au court de l'analyse.

Cette méthode est qualitative, c'est-à-dire que pour des conditions identiques en phase stationnaire et phase mobile, chaque soluté élué a un temps de rétention reproductible qui va permettre de le caractériser.

C'est également une méthode quantitative car elle permet de calculer la concentration de chaque soluté.

- Dans le cas d'une chromatographie avec un étalon interne :
 - Au début de la série, un calibrant de concentration connue est passé deux fois.
 - On fait ensuite la moyenne des concentrations de références (RF)

$$RF = (\text{concentration du calibrant} \times \text{surface du standard interne}) / \text{surface du calibrant}$$
 - Et on peut calculer la concentration du pic d'intérêt (Pi) :

$$[Pi] = (RF \times \text{surface du Pi}) / \text{surface du standard interne}$$
- Dans le cas d'une chromatographie sans étalon interne :
 - On établit une gamme d'étalonnage à partir de concentrations connue de la molécule à doser, on obtient une droite ou Aire du pic = f(concentration de la molécule).
 - La droite obtenue permet ensuite de retrouver la concentration de la molécule d'intérêt en fonction de l'aire de son pic.

b) Préparation des échantillons pour le dosage de TPP

On utilise une colonne de silice avec des ligands d'octadecyl silane qui rendent la phase stationnaire hydrophobe. La phase mobile est composée d'hydrogénophosphate de dipotassium (K_2HPO_4), de tétrabutylammonium nitrate ($C_{16}H_{36}N_2O_3$) tamponnée à pH 6.25 avec de l'acide phosphorique (H_3PO_4).

Le dosage est réalisé sur sang total à partir d'un prélèvement hépariné, dans le cadre de l'étude le prélèvement est réalisé avant la séance de dialyse. La technique permet de doser la thiamine pyrophosphate (TPP) après l'avoir oxydée en milieu alcalin par du ferricyanure de potassium. Les autres formes de thiamine et TMP sont également oxydées lors de la préparation et elles se voient sur le chromatogramme mais elles ne sont pas quantifiées.

On utilise le salicylamide comme étalon interne. L'étalon interne est une substance que l'on ne peut pas trouver dans l'organisme, qui ne co-élue pas avec le composé que l'on cherche à doser et dont la structure est suffisamment proche pour réagir de la même manière que le composé d'intérêt à l'extraction, séparation et détection. Son rôle est de s'assurer du bon déroulement de l'extraction, si sa surface diminue on peut suspecter une perte de substance lors du passage dans la colonne. La concentration du composé est calculée en rapport avec la surface de l'étalon interne

L'acide phosphorique (H_3PO_4) est le réactif de révélation qui permet de fixer le fluorochrome sur les molécules d'intérêt.

Nature	Volume	Action
Acide perchlorique / NaOH	300 μ l	Dans des tubes Eppendorf brun
Echantillon	250 μ L	Vortexer immédiatement durant 1 min
		Centrifuger 6 min à 12000 tr/ min
Surnageant	250 μ L	Transférer dans des tubes à hémolyse en verre
SEIM (salicylamide)	25 μ L	Vortexer 10 secondes
$K_3Fe(CN)_6$ / NaOH	50 μ L	Vortexer brièvement
		Déclencher le chronomètre pendant 30s précisément Puis vortexer brièvement
H_3PO_4 à 14%	50 μ L	Vortexer immédiatement durant 5s
Transfert du mélange		Dans godets d'injection ambrée

Tableau 4 : Préparation des échantillons pour le dosage du TPP, TMP et de la thiamine en HPLC

c) Analyse des chromatogrammes

On obtient ensuite un chromatogramme qui nous montre le pic du standard interne et le pic de TPP (Figure 5).

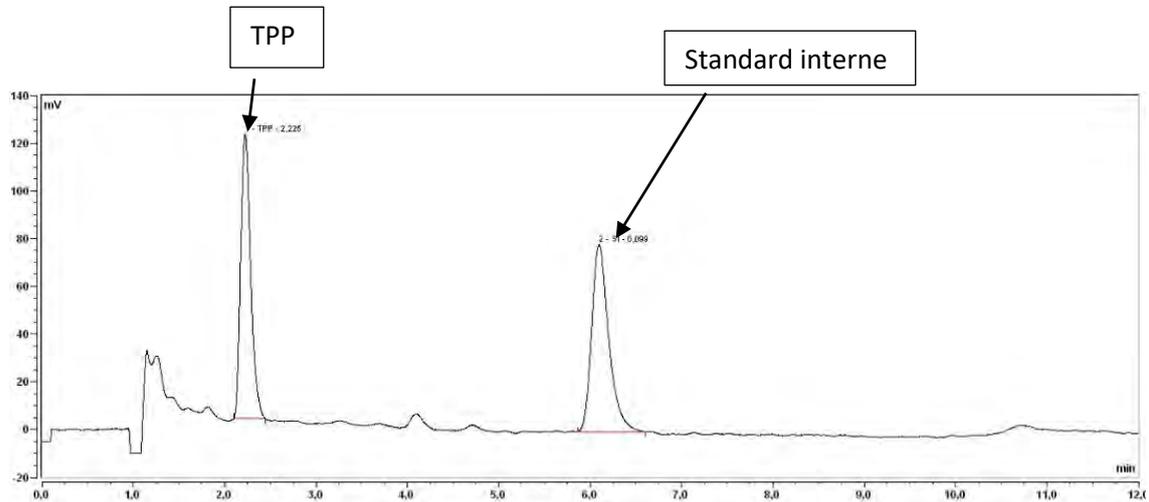


Figure 5 : Chromatogramme d'un point de calibration du TPP

On peut également retrouver un pic de thiamine chlorure, après le pic du standard interne, qui correspond à la forme de supplémentation de la thiamine (Figure 6).

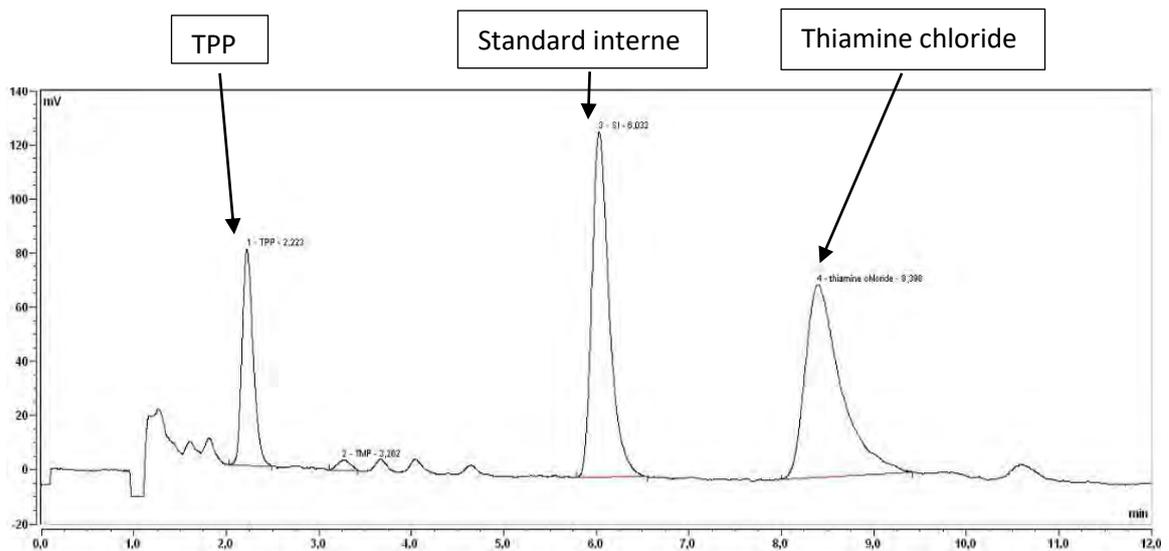


Figure 6 : Chromatogramme d'un pool surchargé en thiamine chlorure

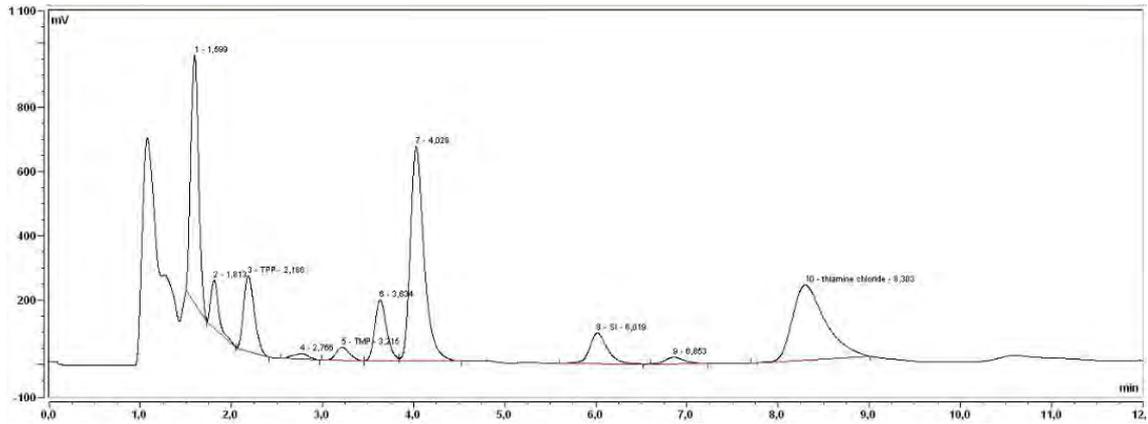


Figure 7 : Exemple de chromatogramme de patient hémodialysé

Chez les patients hémodialysés, on observe de plus nombreux pics mais qui restent bien séparés (Figure 7).

3. Analyse statistique

Les résultats sont présentés en moyenne \pm l'écart type (ET). Les comparaisons de distributions de données sont réalisées par un test de Student en série non appariée ou apparié suivant le modèle, une significativité est retenue pour un $p < 0,05$.

Une comparaison de variance (ANOVA) est utilisée pour analyser l'impact de plusieurs facteurs sur un paramètre.

C. Résultats

Cette campagne nous a montré que les patients hémodialysés présentaient peu de carences en TPP (Tableau 5).

TPP Bornes (nmol/l)	Résultats du TPP HD		Résultat du TPP NHD	
	Nombre de patients	Pourcentage	Pourcentage	Nombre de patients
<71	8	5,67	6,28	43
71-90,99	4	2,84	11,24	77
91-153	71	50,35	56,79	389
>153	54	38,30	23,65	162
Impossible	4	2,84	0,58	4
Annulé	0	0	0,29	2
Non Conforme	0	0	1,17	8
Total	141	100	100	685

Tableau 5 : Comparaison de la distribution des résultats de dosage de TPP (nmol/l) entre la population hémodialysée (HD) et les patients non hémodialysé (NHD)

On retrouve une différence significative entre les résultats des patients hémodialysés et les autres patients du CHU de Toulouse, les patients hémodialysés ayant en moyenne une plus grande concentration en TPP (Tableau 6).

TPP (moyenne \pm ET en nmol/l)					
	HD	Nombre de valeurs	NHD	Nombre de valeurs	p value
12/2018	159,14 \pm 78,05	137	131.23 \pm 57.16	671	0,000

Tableau 6 : Moyennes \pm ET des concentrations en TPP (nmol/l) (T-Test de Student)

On observe également une différence significative entre les femmes hémodialysées et les femmes non hémodialysées alors que la différence est non

significative entre les hommes hémodialysés et les hommes non hémodialysés (Tableau 7).

Moyenne TPP (nmol/l)					
	HD	Nombre de valeurs	NHD	Nombre de valeurs	p
H	157,79 ± 80,89	87	140,65 ± 68,76	270	0,078
F	161,50 ± 73,57	50	124,88 ± 45,82	401	0,001

Tableau 7 : Moyennes ± ET des concentrations de TPP (nmol/l) chez les hommes et les femmes (T-Test de Student)

L'étude en fonction de la tranche d'âge n'a pas retrouvé de différence significative, que ce soit chez les patients hémodialysés ou non hémodialysés (Figure 8).

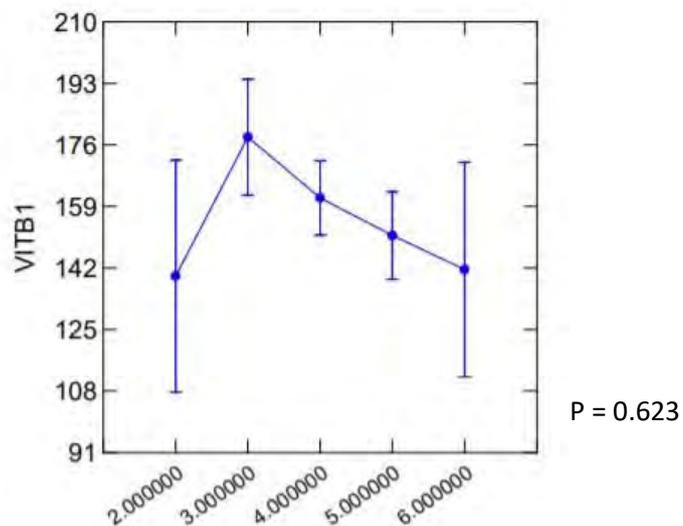


Figure 8 : Représentation des moyennes ± ET des concentrations en TPP (nmol/l) par tranche d'âge chez les patients hémodialysés (ANOVA)

Même si statistiquement il n'y a pas de différence, on observe tout de même une tendance vers une diminution des concentrations de TPP avec l'âge sans pour autant sortir des valeurs normales. Il est difficile d'interpréter la tranche numéro deux chez les patients hémodialysés car elle est sous représentée.

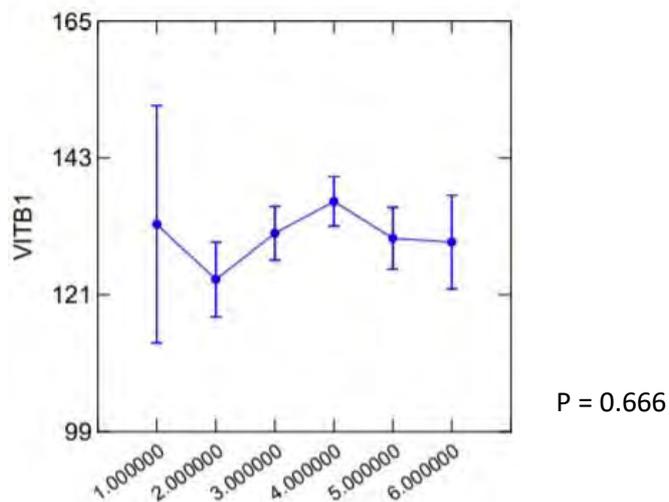


Figure 9 : Représentation des moyennes \pm ET de concentration en TPP (nmol/l) par tranche d'âge chez les patients non hémodialysés (ANOVA)

Chez les patients non hémodialysés, il n'y a pas de différence en fonction de l'âge (Figure 9).

D. Discussion

Les patients hémodialysés chroniques du CHU présentent peu de carences en TPP. Il n'y a donc pas d'argument biologique pour mettre en place un dosage systématique et régulier de cette vitamine dans le suivi de cette population au CHU de Toulouse. Comme le suggère Hung et al, 2001(30), le dosage de la vitamine B1 ne devrait être réalisé que devant un tableau clinique suspect, l'apparition d'œdèmes ou de troubles neurologiques,

Nous n'avons pas la possibilité de mesurer l'ETKa au CHU de Toulouse et de vérifier si les résultats des différentes études citées précédemment(21) (22) (23) sont reproductibles dans notre population.

IV. Vitamine B6

A. Généralités

1. Métabolisme

a) Structure

Le terme vitamine B6 se réfère à un groupement de molécules dérivant de la 3-hydroxy-2-méthylpyridine. Les différentes molécules se distinguent par le groupement situé sur le carbone 4 qui peut être un alcool, la pyridoxine (PN), une amine, la pyridoxamine (PM), ou un aldéhyde, le pyridoxal (PL) (Figure 10).

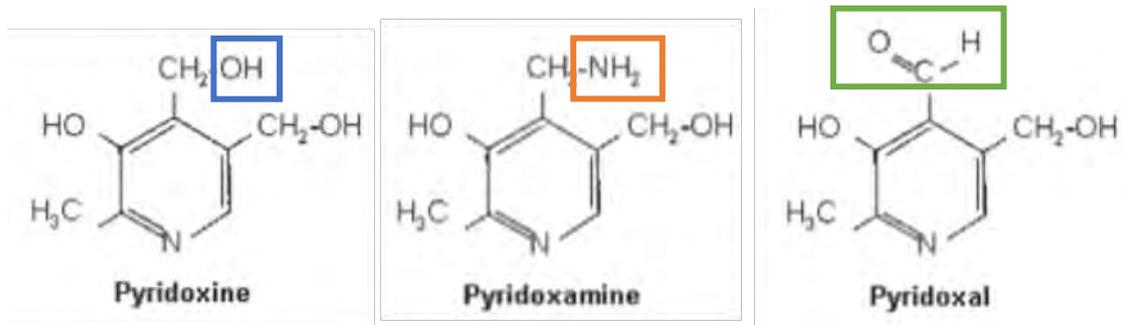


Figure 10 : Structures chimiques des différentes formes de vitamine B6

b) Sources

On trouve de la vitamine B6 dans les végétaux, les poissons et la viande.

Aliment	Teneur moyenne en vitamine B6 (mg/100g)
Gelée Royale	6.2
Ascophylle noueux ou goémon noir (<i>Ascophyllum nodosum</i>), séché ou déshydraté	5.61
Son de riz	4.07
Biscuit sec à teneur garantie en vitamines et minéraux	3.7
Biscuit sec à teneur garantie en vitamines	3.35
Sauge, séchée	2.69
Menthe, séchée	2.58
Poivre de Cayenne ou piment de Cayenne	2.45
Biscuit sec aux fruits, hyposodé	2.4
Paprika	2.14

Tableau 7 : Liste des 10 aliments les plus riches en vitamine B6, source Anses

c) Besoins physiologiques

L'Anses recommande un apport de 1,8 mg/j pour les hommes et de 1,5 mg/j pour les femmes.

d) Absorption

Dans l'alimentation on trouve la vitamine B6 sous ses trois formes et elles peuvent être phosphorylées ou non, elles sont majoritairement liées aux protéines et aux glucides.

L'absorption des formes libres se fait essentiellement de manière passive et non saturable(31).

Dans l'intestin les vitamines sont libérées des protéines et les formes phosphorylées sont hydrolysées par une phosphatase intestinale. En effet, la membrane luminale intestinale, comme toutes les membranes cytoplasmiques, est très peu perméable aux formes phosphorylées(32).

L'absorption se fait principalement au niveau du duodénum(33), en effet Middleton a montré grâce à des segments d'intestin grêle de rat que l'absorption distale était beaucoup moins élevée que dans les parties proximales, il suppose qu'il existe un transport actif saturable.

La forme liée aux glucides est faiblement absorbée mais elle peut subir une hydrolyse par une glucosidase intestinale.

Dans les entérocytes les trois formes de la vitamine B6 subissent des phosphorylations et déphosphorylation avant de rejoindre la circulation sanguine jusqu'au foie(32).

e) Distribution

C'est dans le foie que les différentes formes PN, PM et PL sont transformées en phosphate de pyridoxal (PLP) qui est la forme active de la vitamine B6. Pour la PN et PM il existe une étape intermédiaire de phosphorylation avant d'être transformé en PLP. C'est la pyridoxine phosphate oxydase qui transforme la

pyridoxine phosphate (PNP) et la pyridoxamine phosphate (PMP) en PLP(34)
(Figure 11).

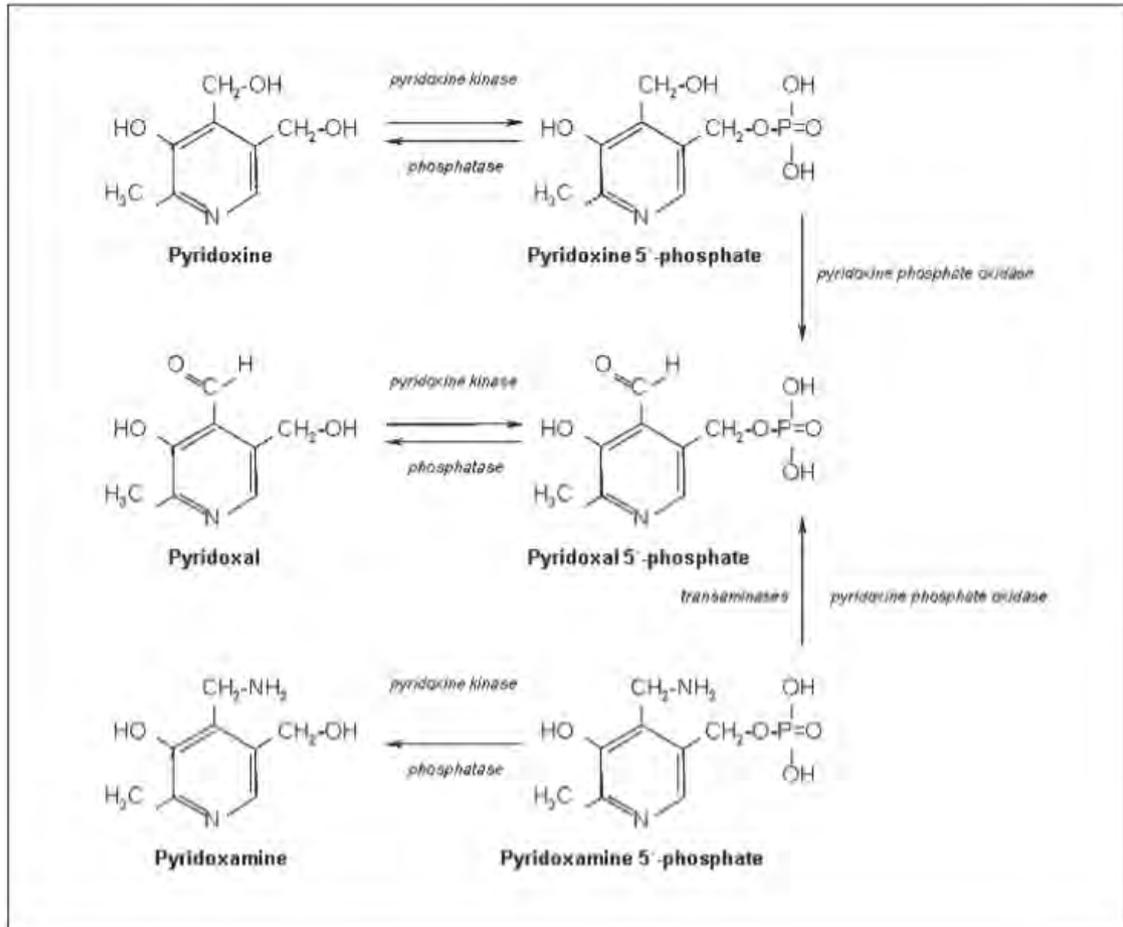


Figure 11 : Métabolisme des interconversions entre la pyridoxine, le pyridoxal, la pyridoxamine et leur esters de phosphate respectif (Spinneker et al, 2007(35))

Le PLP circule ensuite dans le sang lié à l'albumine dans le plasma et lié à l'hémoglobine dans les érythrocytes(36).

Le PLP, qui a deux charges négatives sur la chaîne latérale, se fixe à la sous unité bêta de l'hémoglobine alors que les autres dérivés du pyridoxal n'ayant qu'une charge négative sur la chaîne latérale comme le pyridoxal-5-phosphate monométhyle ester, se fixent sur la sous unité alpha(37).

Pour pénétrer dans les cellules le PLP doit être hydrolysé en PL car les membranes cellulaires sont perméables au PL mais ne laisse pas passer le PLP(38). Ce sont des phosphatases liées aux membranes des cellules qui réalisent cette hydrolyse. C'est également le cas pour le passage de la barrière hémato encéphalique, seul le PL peut traverser.

Le PLP se trouve principalement dans les reins, le cerveau, le foie et les muscles(39). Dans le muscle le PLP est lié à la glycogène phosphorylase(40).

f) Elimination

Après déphosphorylation, le PLP est transformée en acide 4-pyridoxique (4-PA) par une aldéhyde oxydase FAD-dépendante dans le foie puis éliminé dans l'urine(41). Dans des conditions nutritionnelles normales, le 4-PA représente environ 60 % de la dose de vitamine B6 quotidiennement ingérée.

2. Rôles physiologiques

Le PLP est le groupement prosthétique de nombreuses enzymes(42) principalement impliquées dans le métabolisme des acides aminés, dans la synthèse des catécholamines et la synthèse de neurotransmetteurs mais également dans le métabolisme des glucides et des lipides. Il est essentiel pour la croissance, le développement de l'organisme et le maintien de l'homéostasie.

a) Métabolisme des acides aminés

Les différents types de réactions catalysées par les enzymes PLP-dépendantes concernent les quatre liaisons du carbone α des acides aminés (Figure 12).

Le PLP se lie aux enzymes en formant une liaison entre sa fonction aldéhyde et la fonction amine d'un résidu lysine de l'apoenzyme.

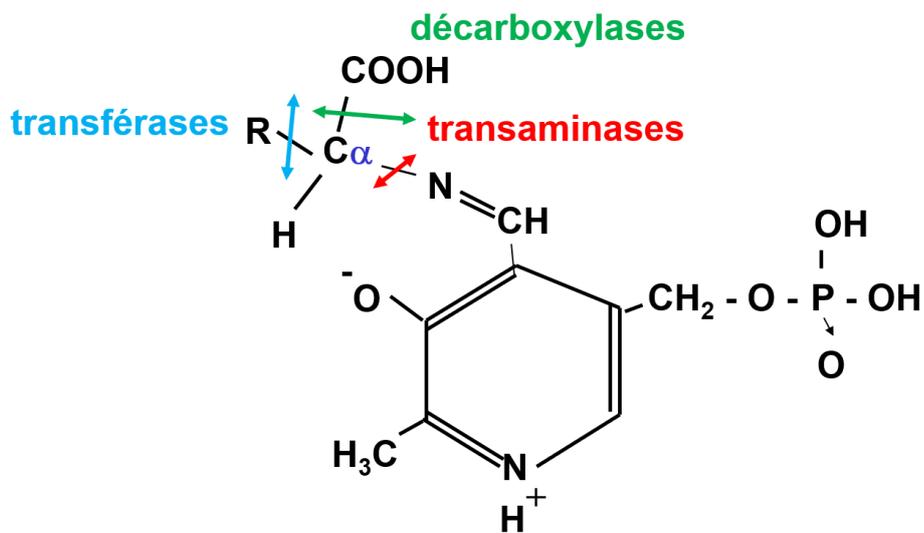


Figure 12 : Lieu d'action des différentes enzymes PLP-dépendantes

- (1) Rupture de la liaison $\text{C}\alpha - \text{H}$
(a) Transaminase

A l'exception de la Lysine, tous les acides aminés peuvent subir des transaminations réversibles, ces réactions sont essentielles au métabolisme des acides aminés et à la néoglucogénèse. Les deux transaminases les plus actives sont les transaminase glutamique-oxaloacétique (TGO) ou aspartate aminotransférase

(ASAT) (Figure 13) et transaminase glutamique-pyruvidique (TGP) ou alanine aminotransférase (ALAT) (Figure 14).

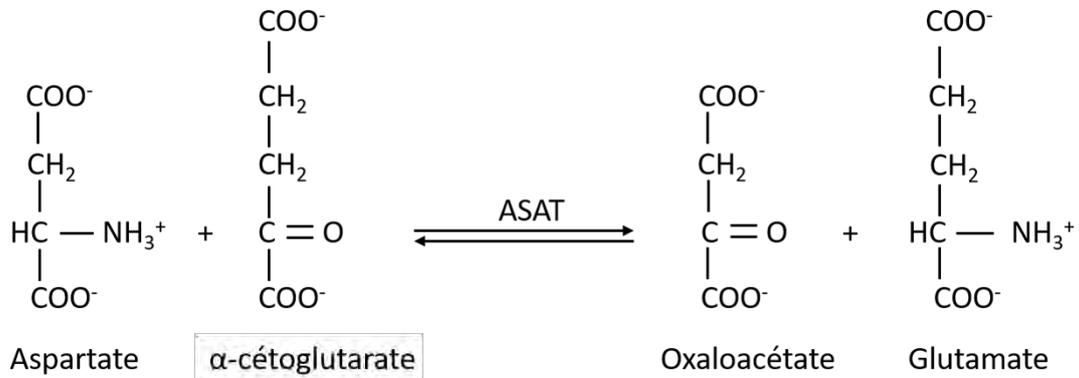


Figure 13 : Schéma réactionnel de l'ASAT

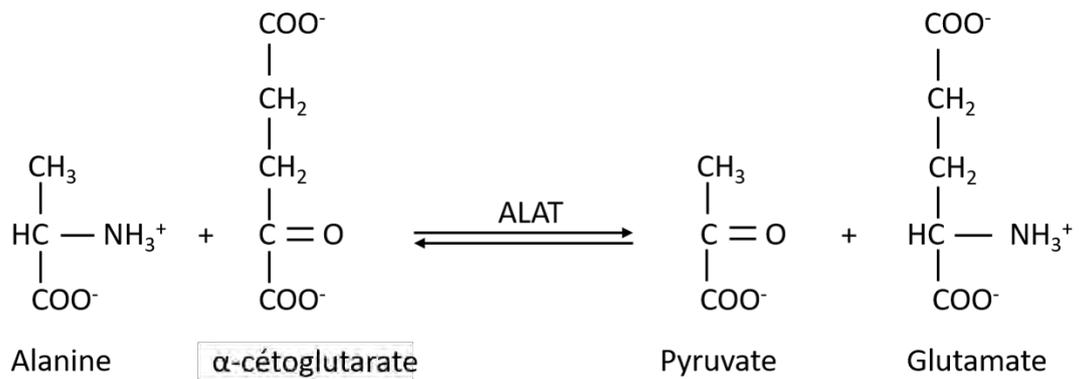


Figure 14 : Schéma réactionnel de l'ALAT

Le pyruvate et l'oxaloacétate sont réintroduits dans le cycle de Krebs tandis que le glutamate régénère l'acide α -cétoglutarique en libérant une molécule d'ammoniaque.

(b) Déshydratases et Désaminases

Elles catalysent la déshydratation des acides aminés puis leur désamination. Ce sont les Sérine et Thréonine-déshydratases qui transforment respectivement la sérine en pyruvate et la thréonine en acide α -cétobutyrique.

Pour être plus précis, c'est la déshydratation qui est une rupture de la liaison C α -H alors que la réaction de désamination est une rupture C α -R.

(c) Trans-sulfurases

Elles agissent par transfert de groupement thiol.

Deux de ces enzymes hépatiques interviennent dans les métabolismes de l'homocystéine, la cystathionine β -synthase et la cystathionase. Elles transforment l'homocystéine en cystathionine et la cystathionine en cystéine (Figure 15).

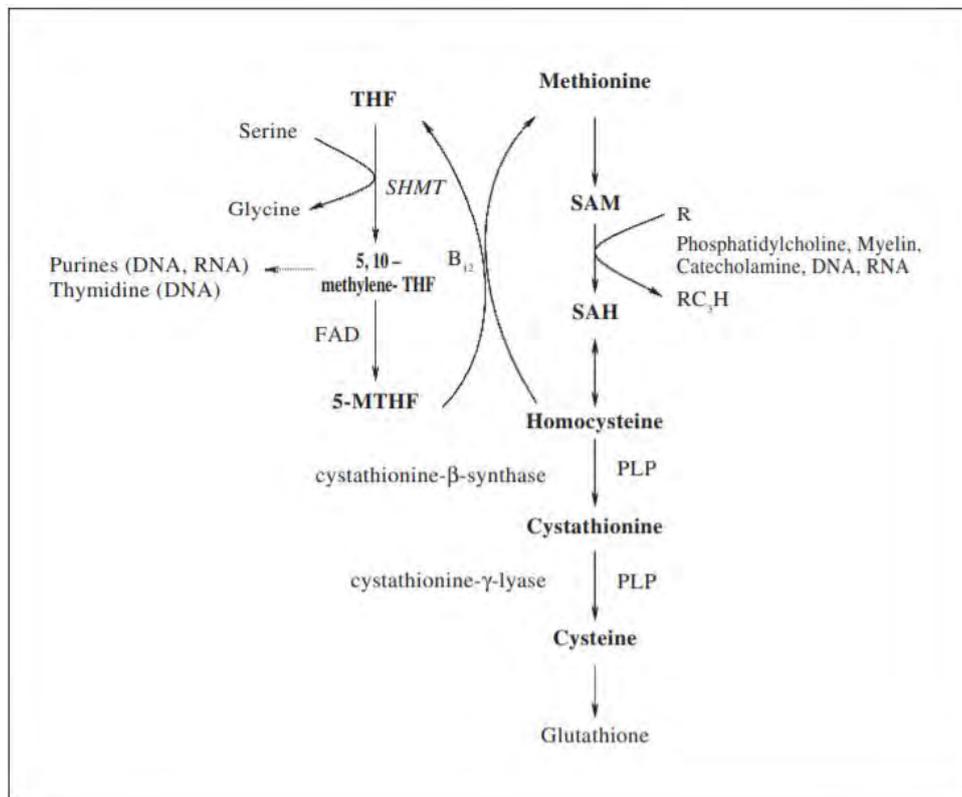


Figure 15 : Métabolisme de l'homocystéine (Spinneker et al, 2007 (35))

L'hyperhomocystéinémie étant un facteur de risque vasculaire indépendant des autres risques décrits, ces enzymes ont un rôle très important bien qu'il soit

observé une corrélation entre risque cardio-vasculaire et taux bas de vitamine B6 mais sans corrélation avec le taux d'homocystéine(43).

(2) Rupture de la liaison C α – COOH : Les décarboxylases

Les décarboxylases jouent un rôle important dans la synthèse de certains neuromédiateurs et composés hormonaux dérivés des acides aminés. L'histidine est décarboxylé en histamine, la dyhydrophénylalanine en dopamine, la tyrosine en tyramine qui a un rôle dans la contraction musculaire, le 5-hydroxytryptophane en sérotonine et l'acide glutamine en GABA.

b) Autres rôles co-enzymatiques

(1) Cynuréninase et 3-hydroxycinurénine transaminase

Ces deux enzymes sont impliquées dans le métabolisme du tryptophane et aboutissent à la formation du NAD. En cas de carence en vitamine B6 on observe une augmentation dans les urines d'acide xanthurénique et une augmentation de 3-hydroxycinurénine dans le cerveau qui est partiellement responsable des troubles neurologiques que l'on observe.

(2) La glycogène phosphorylase

La vitamine B6 intervient dans le métabolisme du glycogène. La glycogène phosphorylase a pour rôle de fournir à la glycolyse des unités glucosyles phosphorylées issus des formes de réserves. Dans le muscle, son activité est liée aux besoins en énergie pour la contraction musculaire et, dans le foie, elle permet de répondre à une baisse de glycémie.

c) Action sur le tissu érythrocytaire

Le PLP est le co-enzyme d'une synthétase, la delta aminolevulinate synthétase, qui condense la glycine et le succinylCo-A et forme l'acide delta-aminolevulinique. Cette étape mitochondriale est limitante dans la synthèse des porphyrines et donc de l'hème.

d) Action sur le tissu osseux

La lysyl oxydase catalyse la désamination oxydative des résidus lysine et hydroxylysine incorporés dans la tropoélastine et le tropocollagène. Une carence en vitamine B6 peut donc conduire à une altération de la matrice osseuse.

e) Métabolisme des lipides

Les études sur l'effet de la vitamine B6 sur les lipides sont contradictoires avec une grande variabilité des résultats décrits d'une espèce à l'autre.

Chez l'homme, la carence en vitamine B6 n'a pas d'effet sur la cholestérolémie(44). En revanche une supplémentation en vitamine B6 prévient l'hypercholestérolémie chez les patients sous disulfirame, un traitement aversif dans l'alcoolisme(45). La supplémentation en vitamine B6 n'a pas d'effet sur le profil des lipoprotéines plasmatiques chez les patients hémodialysés(46).

f) Rôle dans la régulation de la pression artérielle

La vitamine B6 joue un rôle dans la régulation de la pression artérielle. Dans certains modèles de rats hypertendus, il a été montré qu'une supplémentation en vitamine B6 pouvait restaurer une tension normale(47). Le PLP agirait en modulant la réponse des canaux calcium(48).

Chez l'homme, une supplémentation de 5mg/kg/j, permet de diminuer les pressions systolique et diastolique chez les patients atteints d'hypertension essentielle mais sans effet sur le rythme cardiaque.(49)

g) Activité antioxydante

Plusieurs travaux ont montré le rôle de la vitamine B6 dans la protection contre le stress oxydant. *In vitro*, la pyridoxine et la pyridoxamine peuvent inhiber les radicaux super oxyde et prévenir la peroxydation des lipides(50). La pyridoxamine inhibe également la modification des protéines par les espèces radicalaires dérivées de l'oxygène(51).

3. Signes de carence

Dans les pays industrialisés la carence franche en vitamine B6 est exceptionnelle mais on observe des formes frustrées dues à des apports suboptimaux. La carence touche plusieurs appareils.

a) Valeurs de références au CHU de Toulouse

Ces valeurs concernent le PLP plasmatique.

- <10 nmol/l : Déficit majeur
- 10-20 nmol/l : Déficit important
- 20-30 nmol/l : Déficit
- 30-150 : Normal

Ces normes ont été établies à partir de la littérature(52)(53).

b) Neurologique

La carence en vitamine B6 est responsable de polyneuropathie périphérique(54), elle peut aussi provoquer une dépression(55). Dans les cas de carences importante on peut observer des convulsions. Ces convulsions ont été décrite le plus souvent chez les enfants mais peuvent également se voir chez des patients adultes dans un contexte d'alcoolisme(56).

Il existe également une maladie génétique appelée épilepsie pyridoxino-dépendante qui provoque des convulsions qui ne répondent pas aux traitements antiépileptiques mais à l'administration de vitamine B6(57).

c) Dermatologique

La carence en vitamine B6 peut provoquer des dermatites de type pellagre(58) due à un défaut de production de la proline à partir de l'ornithine ce qui conduit à la suppression de la synthèse de collagène au niveau de la peau(59).

On peut également observer des glossites et stomatites.

d) Hématologique

Ces manifestations sont rares mais l'on peut voir une anémie hypochrome avec hypersidérémie(60) et des anomalies de l'immunité cellulaire et humorale(61).

e) Cancers

Il existe une corrélation entre la concentration de PLP et l'apparition de certains cancers comme les cancers colorectaux, du pancréas, gastrique, de la prostate, du sein, du poumon et certains cancers oraux pharyngés(35).

f) Augmentation du risque cardio-vasculaire

L'augmentation du risque cardio-vasculaire en cas d'hyperhomocystéinémie est due à l'augmentation du risque athérogène.

L'augmentation de la concentration d'homocystéine dans la carence en B6 est moins importante que dans la carence en vitamine B9 ou B12.

g) Métabolique

On peut observer une hyperoxalémie par défaut de la transamination de l'acide glyoxylique qui est alors oxydé.

4. Surdosage

La vitamine B6 est hydrosoluble, il n'y a donc pas de stockage mais on observe cependant des signes cliniques en cas de supplémentation prolongée. Ces signes cliniques peuvent ressembler à ceux d'une carence. Ce sont des manifestations neurologiques sensorielles(62) (63) et motrices ainsi que des perturbations mnésiques.

La Direction générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des fraudes a émis un bulletin en 2019 fixant la teneur maximale recommandé par portion journalière pour les compléments alimentaire à 12.5 mg de vitamine B6(64).

5. Particularité chez les patients hémodialysés.

La vitamine B6 est éliminée à plus de 50% par les appareils de dialyse à haut débit(65). Une concentration adéquate de B6 est importante afin d'éviter une hyperhomocystéinémie(66), ce qui est un facteur de risque d'athérosclérose. Une

étude de 2000 a montré une amélioration des symptômes de neuropathies périphériques après supplémentation en vitamine B6 chez des patients qui avaient des concentrations en vitamine B6 dans les limites de la normale, les auteurs suggèrent l'existence d'un mécanisme de résistance à la vitamine B6(67).

On observe également une meilleure correction de l'hémoglobine chez les patients anémiés qui reçoivent un traitement en fer lorsqu'ils sont supplémentés en vitamine B6 (180mg/jour de vitamine B6 per os) (68).

La plus petite dose de supplémentation en vitamine B6 recommandé est de 10 mg/j afin de normaliser le taux de PLP mais les études citées précédemment utilisent des doses allant jusqu'à 100mg/j.

Une autre méta-analyse a montré que 24 à 56% des patients hémodialysés étaient carencés en vitamine B6 et que 28 à 48% de la vitamine B6 était épuré par la dialyse en fonction de l'appareil de dialyse utilisé. Les auteurs suggèrent que les recommandations de supplémentation de 10 à 50 mg sont basées sur de vieilles études et que l'évolution des méthodes de dialyses risquent de conduire à un nombre plus élevé de carences(69).

En revanche, une étude menée sur une population pédiatrique de patients hémodialysés supplémentés en pyridoxine (Dialyvit[®], 2mg de pyridoxyne/cp, Forceval[®], 2mg de pyridoxyne/cp, Forceval Junior[®], 1mg de pyridoxine/cp, et Phlexy-Vits sachets[®], 0.22 mg de pyridoxyne /g) ou non, a montré qu'aucun enfant n'était carencé mais que plus de la moitié avaient une concentration de PLP dans

le sang total trop élevée, les auteurs proposent de ne pas supplémenter de manière systématique mais seulement si les apports alimentaires sont insuffisants et après confirmation par un dosage sanguin du PLP(70).

Une étude de 1993 a montré, dans une population de patients hémodialysés ne recevant pas de supplémentation, que 87% des patients étaient carencés en PLP et 5% avaient des concentrations marginales. Ils ont également mesuré l'activité de la glutamate-oxalo-acetate transaminase érythrocytaire (EGOTa) et retrouvent 77% de patients carencés et 12% ayant des activités marginales(22). La même équipe a montré en 2000 l'effet d'une supplémentation sur un an par 50mg de pyridoxine après chaque séance de dialyse. Ils ont mesuré l'EGOTa, 76% des patients avaient une activité normale et 24% une activité marginale(24).

B. Matériel et méthode

1. Population

Pour l'étude de la vitamine B6 une seule campagne a été réalisée en décembre 2018 avec 140 patients hémodialysés chroniques. Ces patients ont été comparés aux autres patients du CHU qui ont eu un dosage de vitamine B6 au cours du mois de décembre 2018 (Tableau 8).

	Hémodialysés	Témoins
Nombre de patients	140	698
Age (ans)	63 [18-92]	56 [6-98]
Ratio H/F	1,69	0,72

Tableau 8 : Caractéristique de la population d'étude de la vitamine B6

2. Méthode de dosage

a) Préparation des échantillons pour le dosage du PLP

Au CHU de Toulouse, le dosage de la vitamine B6 est réalisé sur une chaîne HPLC Ultimate 3000 Thermo Fisher à détection fluorométrique avec un détecteur FLF 3100 Thermo Fisher et une colonne de silice avec des ligands d'octadecyl silane. Le dosage se fait sur plasma hépariné ou sérum, dans le cadre de l'étude, le prélèvement se fait avant la séance de dialyse.

La technique permet de détecter le Pyridoxal phosphate (PLP), le Pyridoxal (PL) et l'acide Pyridoxique (PA). Seul le PLP est quantifié et rendu au clinicien, l'évaluation semi-quantitative des deux autres molécules permet une interprétation plus précise du profil.

Contrairement au dosage des vitamines B1 et C, cette technique nécessite une étape de dérivation. De plus pour cette technique, il n'existe pas d'étalon interne.

Nature	Volume	Action
Echantillon	250µl	Dans des tubes Eppendorf
Acide trichloracétique à 30%	30µl	Vortexer immédiatement durant 1min
		Laisser reposer 10 minutes à température ambiante Vortexer 15 secondes Centrifuger 10 min à 10600 tr/min
Surnageant	150µl	Transférer dans des tubes Eppendorfs
Semicarbazide / Glycine	30µl	Rajouter le réactif de dérivation Vortexer durant 15 secondes
		Dérivatiser 30 minutes à 4°C
NaOH à 1.25 mol/l	20µl	Vortexer 15 secondes
Transfert du mélange		Dans des godets d'injection ambrée avec réducteur.

Tableau 9 : Préparation des échantillons pour le dosage du PLP en HPLC

b) Analyse des chromatogrammes

Le chromatogramme obtenu présente les 3 pics d'intérêts PLP puis PA puis PL (Figure 16).

Les colonnes actuellement disponibles et conditionnées par le fournisseur pour cette technique nécessitent d'être qualifiées à chaque nouveau lot. Le risque majeur étant un épaulement sur le pic de PLP ne permettant pas de le quantifier et l'absence de PL détectable.

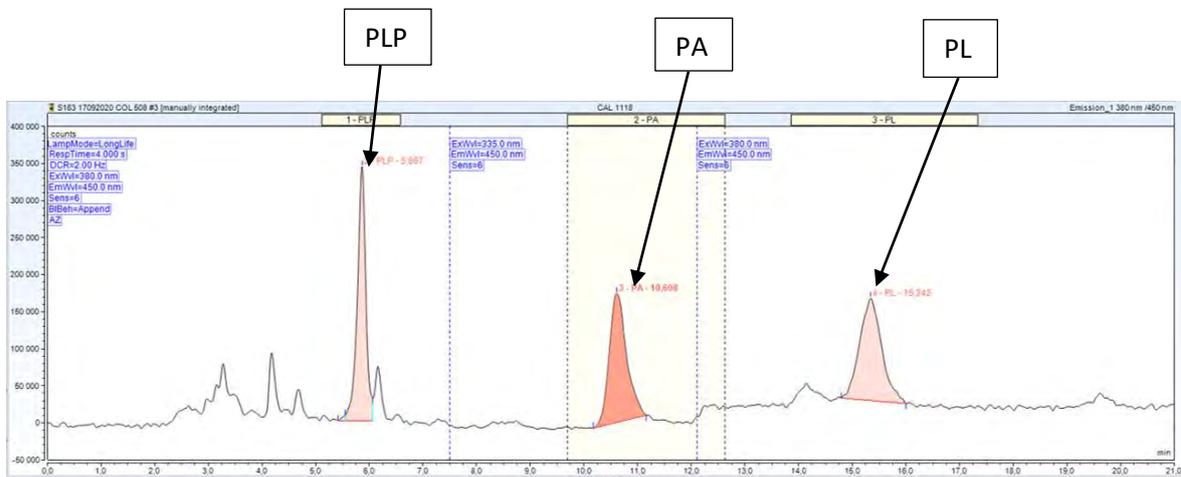


Figure 16 : Chromatogramme d'un point de calibration pour la vitamine B6

C. Résultats

Les résultats de cette campagne ne sont pas exploitables car nous avons été confrontés à de nombreux problèmes techniques (Tableau 10).

PLP	Résultats hémodialysés		Résultats non hémodialysés	
	Nombre de patients	Pourcentage	Pourcentage	Nombre de patients
<10	0	0,00	9,74	68
10-20	1	0,71	21,35	149
20-30	2	1,43	21,06	147
30-150	15	10,71	40,97	286
>150	8	5,71	5,16	36
Annulé	114	81,43	0,86	6
Non conforme	0	0,00	0,86	6
Total	140	100,00	100,00	698

Tableau 10 : Comparaison de la distribution des résultats de dosage de PLP (nmol/l) entre les patients hémodialysés et les patients non hémodialysés

Le plasma des patients hémodialysés étant chargé de nombreuses substances qui ne sont plus éliminées par les reins, les interférences rendent les chromatogrammes illisibles, plus de 81% des chromatogramme n'ont pas pu être exploités.

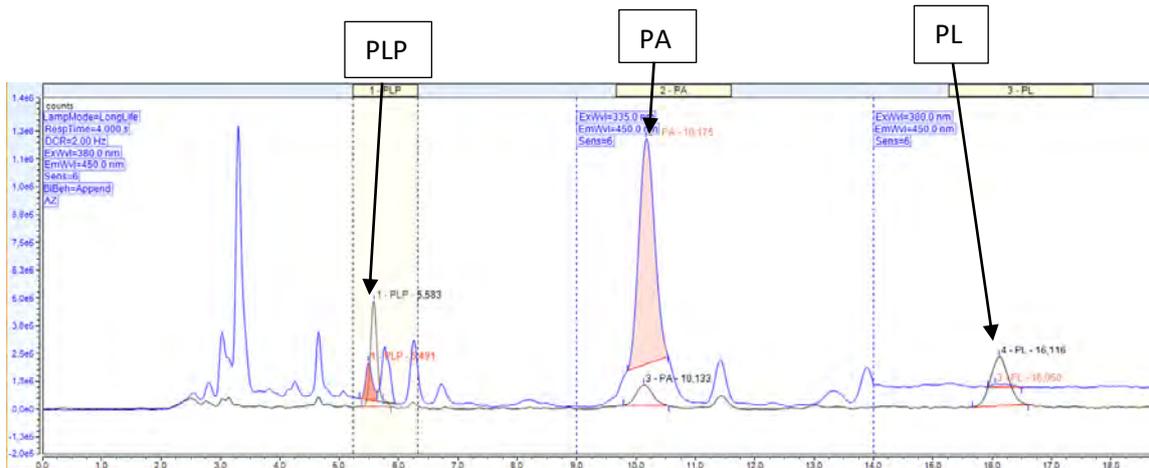


Figure 17 : chromatogramme d'un patient hémodialysé (en bleu le chromatogramme du patient, en noir le chromatogramme d'un point de calibration)

Sur la figure 17 on peut voir deux chromatogrammes superposés, celui d'un patient hémodialysé en bleu et celui d'un point de calibration en gris.

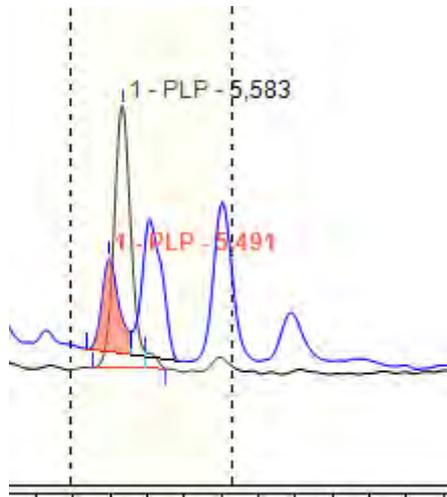


Figure 18 : Zoom sur le pic de PLP d'un patient hémodialysé

Sur la figure 18 on peut voir qu'il y a un décalage entre les temps de rétention du pic identifié comme PLP par le logiciel pour le patient et celui du point de calibration. On observe également un épaulement sur l'un des pics du patient. On ne peut pas identifier le pic correspondant au PLP.

Il serait intéressant de reconduire cette étude après l'installation de la spectrométrie de masse pour le dosage de la vitamine B6.

D. Discussion

On ne peut pas conclure sur le statut en vitamine B6 chez les patients hémodialysés chroniques du CHU de Toulouse. En revanche la bibliographie tend à montrer un fort risque de carence dans les populations hémodialysées chroniques, d'autant plus que la dialyse est réalisée sur des appareils à haut débit. La bibliographie serait en faveur d'une supplémentation systématique de ces patients, cependant le risque d'accumulation de PLP est à prendre en compte si on ne peut pas en surveiller la concentration plasmatique.

V. Vitamine C
 A. Généralités

1. Métabolisme

a) Structure

L'acide ascorbique (AA) est une molécule de 176.13 Da dont la structure est le 2-oxo-L-thréo-hexono-4-lactone-2,3-enediol. Il comporte une **fonction lactone**, deux carbones asymétriques **C4** et **C5**, deux **fonctions alcool** sur les carbones 5 et 6, et une **fonction ène-diol** sur les carbones 2 et 3 (Figure 19). Le groupement ène-diol est responsable du caractère acide de la molécule et de ses propriétés réductrices.

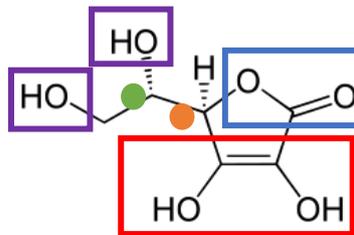


Figure 19 : Structure de l'acide ascorbique

L'acide ascorbique est ionisé en anion ascorbate qui possède un énolate conjugué avec le C=O lactonique. Au pH physiologique, l'anion ascorbate prédomine.

On trouve également la vitamine C sous sa forme réduite ou oxydée, la forme oxydée est le déshydroascorbate (DHA) (Figure 20).

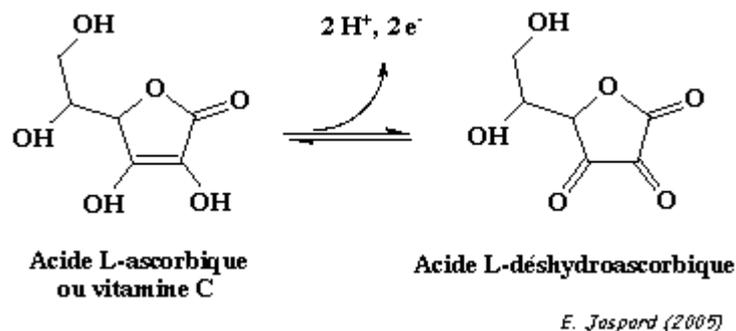


Figure 20 : Oxydation de l'acide ascorbique

L'acide ascorbique n'est une vitamine que pour un faible nombre d'espèces, principalement les primates, les cochons d'Inde et les chauves-souris frugivores du fait de mutations génétiques indépendante qui ont inactivé la gulonolactone oxydase. Les autres espèces de mammifères peuvent en effet synthétiser de l'acide ascorbique à partir du glucose.

b) Sources

La vitamine C est apportée exclusivement par l'alimentation. On la trouve principalement dans les fruits et légumes.

Aliment	Teneur moyenne en vitamine C (mg/100g)
Cerise acérola, pulpe, crue, prélevée à la Martinique	2850
Pomme cajou, pulpe, crue, prélevée à la Martinique	556
Goyave, pulpe, crue, prélevée à la Martinique	492
Guacamole, préemballé	359
Goyave, pulpe, crue	228
Cassis, cru	181
Persil, frais	177
Thym, frais	160
Piment, cru	155
Raifort, cru	152

Tableau 11 : Liste des 10 aliments les plus riches en vitamine C pour 100g, source Anses

c) Besoin physiologique

Les besoins physiologiques sont de 110 mg / jours pour les hommes et les femmes d'après l'Anses.

d) Absorption

Il existe deux mécanismes d'absorption de la vitamine C. Un transport actif et saturable faisant intervenir le transporteurs SVCT 1 (Sodium Vitamine C transporteur)(71) (72), il se trouve au niveau de l'intestin grêle. L'autre mécanisme est une diffusion facilitée du DHA via les transporteurs du glucose GLUT 1, 3(73) et 4(74).

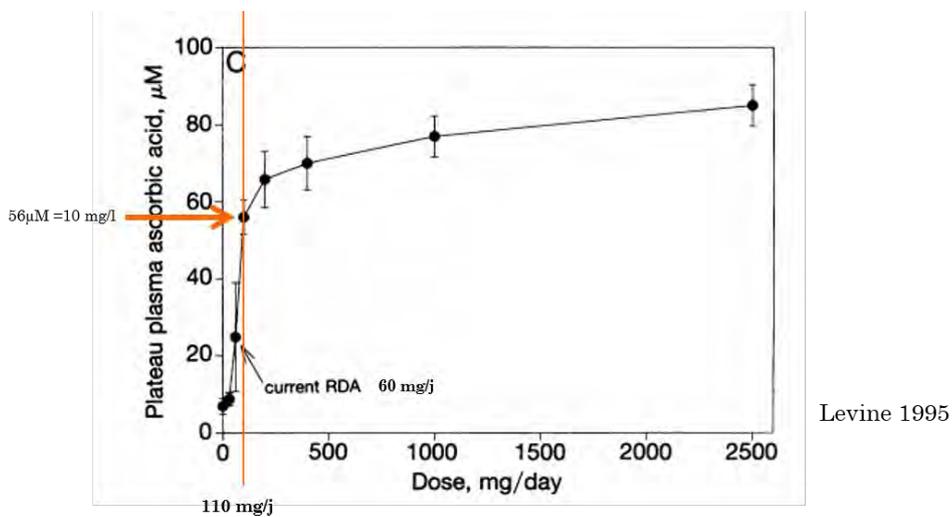


Figure 21 : Représentation graphique de l'absorption intestinale de l'acide ascorbique

Ce graphique (Figure 21) montre que la saturation du transporteur SVCT1 est atteinte pour une prise de 110 mg/j ce qui correspond à une concentration plasmatique de 10 mg/l, la concentration optimale. Au-delà de 110 mg/j, on peut voir que l'absorption se fait de manière passive et moins efficace que l'absorption active(75).

e) Distribution

Il existe deux isomères de l'acide ascorbique, l'acide L-ascorbique qui est utilisé par l'organisme et l'acide D-ascorbique qui n'est pas métabolisable chez l'homme.

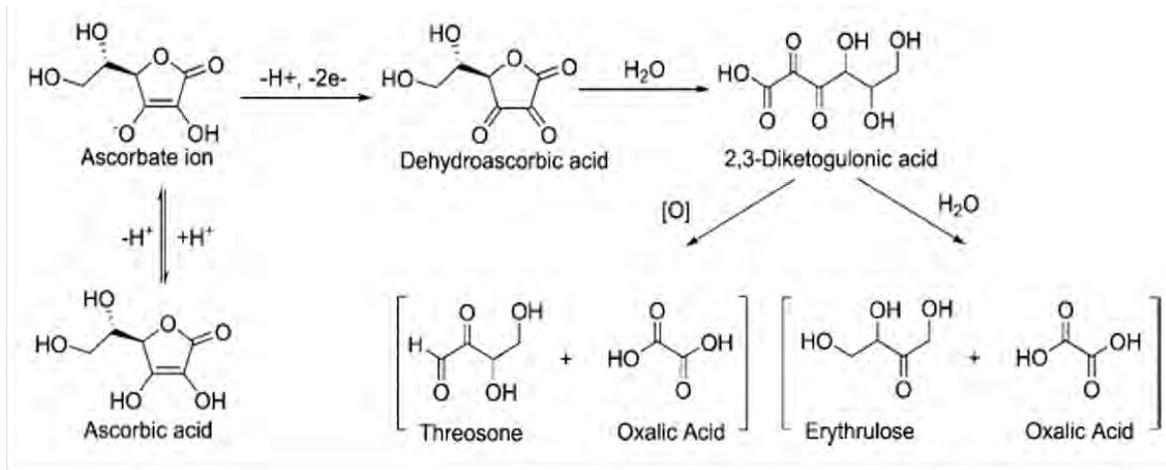
L'acide ascorbique est hydrosoluble, il circule sous forme libre dans le sang et il représente 95% de la vitamine C circulante. Le reste de la vitamine C circule sous forme de DHA.

L'acide ascorbique est transporté de manière active et saturable dans les cellules via le transporteur SVCT2 alors que le DHA est transporté par diffusion facilitée via les transporteurs GLUT1, GLUT3, et GLUT4(73) (76). Le DHA est ensuite réduit en acide ascorbique dans la cellule. Mais ce transport facilité peut être inhibé par les oses(77) en particulier le glucose donc la concentration plasmatique est beaucoup plus importante que le DHA.

Certaines cellules ont la capacité d'accumuler l'ascorbate en fonction de leurs besoins comme les glandes surrénales, l'hypophyse, le foie, les reins, les muscles et la rate.

f) *Elimination*

La vitamine C est éliminée par voie rénale et par voie fécale. Pour 100 mg par jour 25% de la vitamine C est éliminée sous forme inchangée et 55% sous forme d'acide oxalique(78) (79).



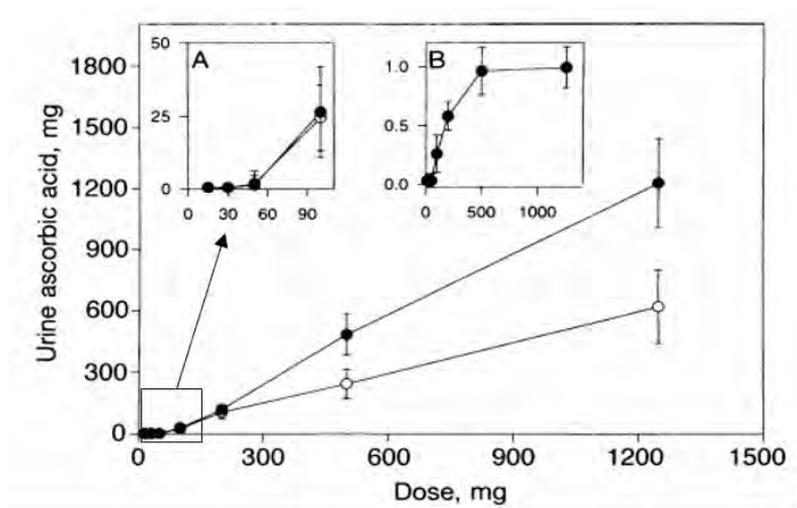
Knight et al, 2016

Figure 22 : Produits de dégradation majoritaires de l'acide ascorbique

Sa demi-vie est de 10 à 20 jours.

(1) Elimination rénale

Une étude par Levine et al en 1996 a montré que pour des doses d'acide ascorbique inférieures à 50mg, ingérées par voie orale ou administrée par voie IV, on ne retrouvait pas d'acide ascorbique dans les urines. Mais au-delà de 500mg administré par voie IV, on retrouve l'intégralité de la dose dans les urines(75) (Figure 23).



Evolution du débit urinaire d'ascorbate en fonction de la dose de vitamine C administrée par voie intraveineuse (●) ou par voie orale (○).

A. Débit urinaire d'ascorbate lorsque les doses administrées sont inférieures à 100mg

B. Proportion de la dose de vitamine C administrée par voie IV retrouvée dans les urines

(Par Levine et al, 1996)

Figure 23 : Elimination urinaire de l'acide ascorbique

Cela nous montre qu'il existe un transport saturable qui permet la réabsorption de l'acide ascorbique filtré par le rein. Au niveau de l'épithélium du tubule rénal proximal on retrouve un transporteur SVCT1 similaire à celui de l'épithélium intestinal(71).

(2) Elimination fécale

L'acide ascorbique non absorbé est éliminé dans les selles et peut être responsable de diarrhées osmotiques au-delà d'une dose de 2g en une seule prise(80).

2. Rôles physiologiques

L'acide ascorbique est impliqué dans de nombreux processus métaboliques principalement basés sur l'équilibre ascorbate/radical -anion monodéhydroascorbate. L'ascorbate est facilement oxydé en produisant le radical-anion monodéhydroascorbate de faible réactivité. Cela permet par exemple de réduire les ions ferriques et cuivriques en ions ferreux et cuivreux.

La vitamine C est impliquée dans 2 processus principaux, cofacteurs dans les réactions d'hydroxylations catalysées par des oxygénases et antioxydant en phase aqueuse.

a) Réactions d'hydroxylation

(1) Synthèse du collagène

Le collagène est une protéine multimérique. La structure primaire est une suite d'acides aminés riche en glycine et en proline. Tous les 3 acides aminés, on retrouve une glycine. Les résidus proline vont subir une modification post-traductionnelle pour obtenir de l'hydroxyproline. Cette modification est catalysée par la proline-hydroxylase en présence d'acide ascorbique (Figure 24).

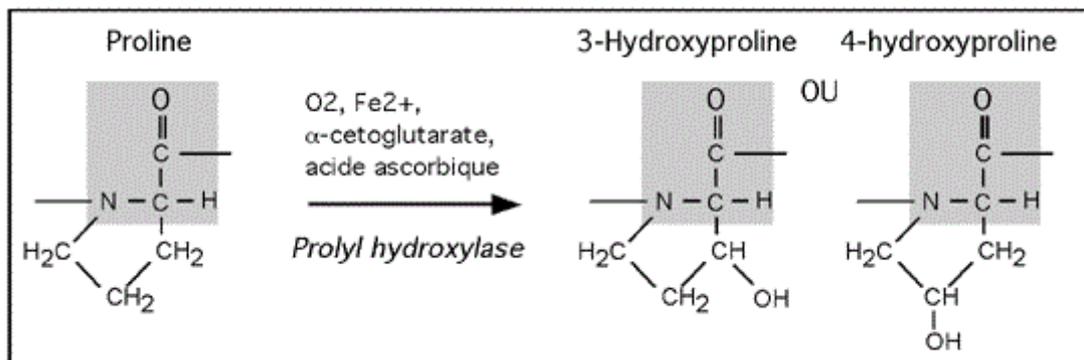


Figure 24 : Hydroxylation de la Proline

Les sous-unités de collagène se replient en hélice α et l'assemblage de 3 hélices α en une super hélice tournant dans le sens contraire des sous unités forme le tropocollagène. Le tropocollagène est stabilisé grâce aux pont hydrogènes formés entre les résidus hydroxyproline.

Les molécules de tropocollagène s'assemblent entre elles grâce à des liaisons covalentes entre les résidus Lysine sous l'action de la lysyl-oxydase dépendante du cuivre à l'état cuivreux (Figure 25).

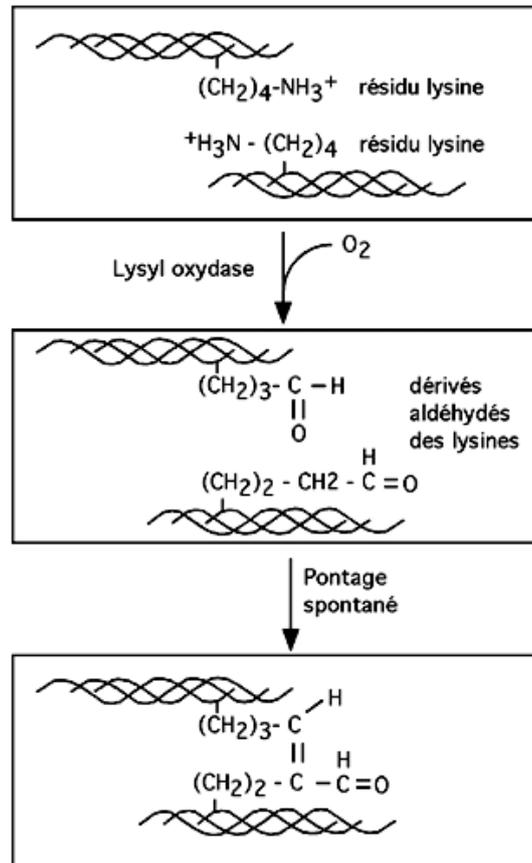


Figure 25 : Formation des liaisons covalentes entre les molécules de tropocollagène

La proline-hydroxylase fonctionne grâce à un atome de fer ferreux (Fe^{2+}) au niveau de son centre catalytique alors que la lysyl-oxydase possède un atome de cuivre cuivreux (Cu^{2+}). L'acide ascorbique permet de régénérer la forme réduite de ces atomes.

(2) Synthèse des catécholamines

L'ascorbate est un cofacteur de la dopamine- β -hydroxylase (ou dopamine monooxygénase) qui catalyse la réaction de transformation de la dopamine en noradrénaline (Figure 26).

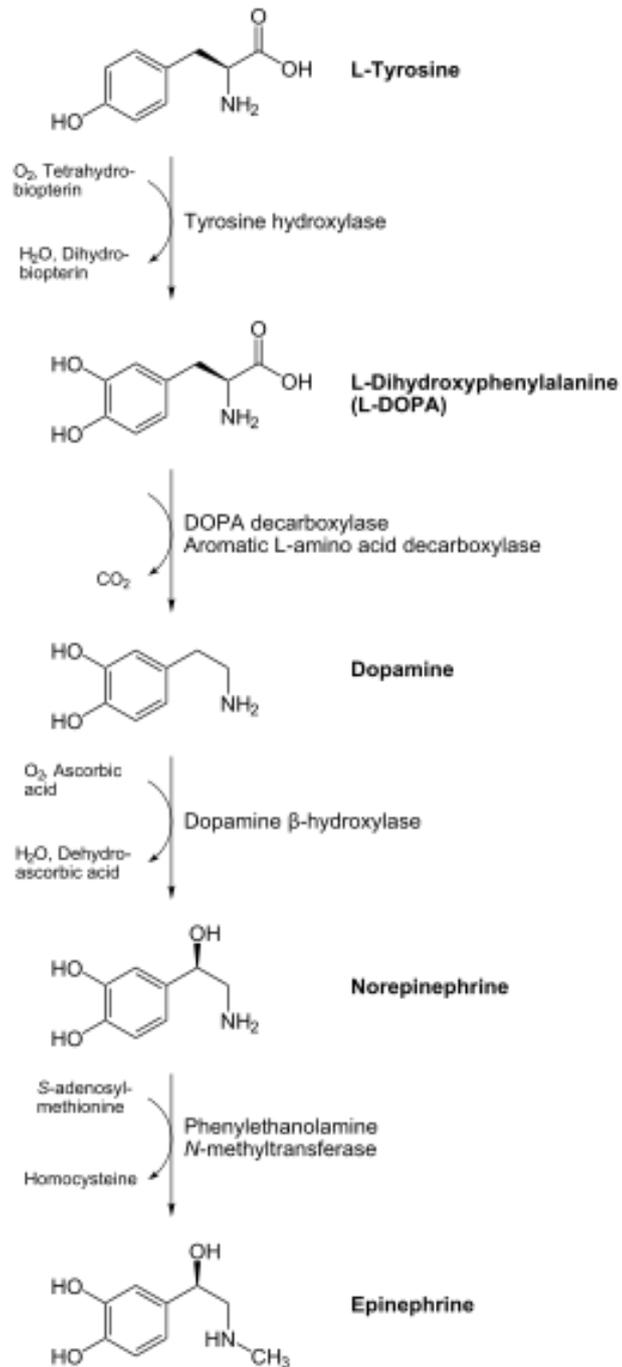


Figure 26 : Synthèse de l'adrénaline

L'ascorbate n'est pas indispensable au fonctionnement des enzymes mais il augmente leur vitesse de réaction.

(4) Catabolisme de la phénylalanine et de la tyrosine

La phénylalanine et la tyrosine ont une voie de catabolisme commune. La première réaction mise en jeu est l'hydroxylation de la phénylalanine en tyrosine.

La tyrosine peut ensuite rejoindre le métabolisme des catécholamines ou bien être dégradé en fumarate et acétoacétate (Figure 28). Le fumarate va rejoindre le cycle de Krebs et l'acétoacétate qui est un corps cétonique pourra être utilisé pour la cétolyse.

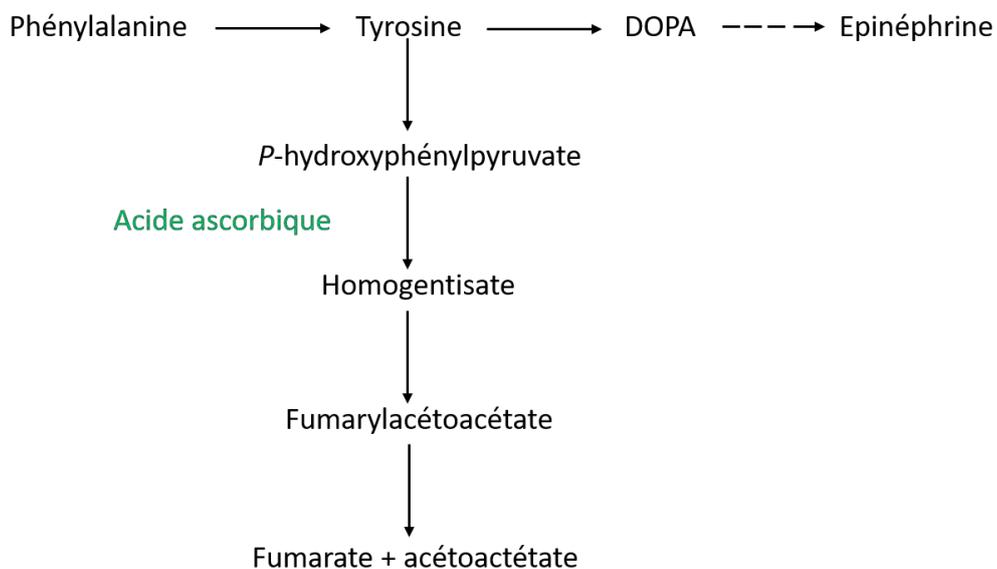


Figure 28 : Schéma du catabolisme de la tyrosine

C'est la deuxième étape de dégradation de la tyrosine qui dépend de l'acide ascorbique. Cette étape est catalysée par le système enzymatique *p*-hydroxyphénylpyruvate hydroxylase et transforme le *p*-hydroxyphenyl pyruvate en homogentisate(82).

(5) Activation des hormones peptidiques

De nombreuses hormones peptidiques nécessitent une étape d' α -amidation pour être fonctionnelles. L' α -amidation est une modification post-traductionnelle des protéines, elle a lieu suite à un clivage du précurseur protéique qui fait apparaître une glycine en position C-terminale. Cette réaction remplace le groupement carboxylique par un groupement amide ce qui diminue la charge électrique et augmente la polarité des protéines, le but étant d'augmenter la durée de vie des protéines en les protégeant de la protéolyse.

La réaction se déroule en deux étapes catalysées par 2 domaines d'une seule enzyme, la peptidylglycine α -amidating monooxygenase (PAM). La première étape est catalysée par le domaine peptidylglycine α -hydroxylating monooxygenase (PHM) qui utilise le cuivre cuivreux et l'ascorbate et la seconde étape est catalysée par la peptidyl- α -hydroxyglycine α -amidating lyase (PAL) (Figure 29).

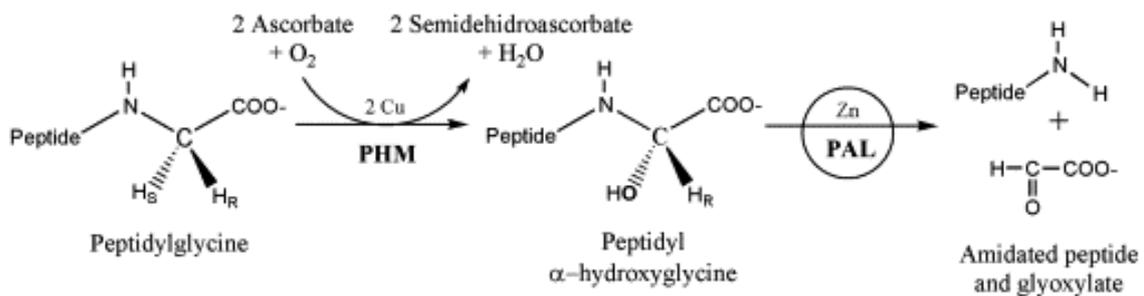


Figure 29 : Fonctionnement de la PAM (Chufán. E et al, 2009(83))

(6) Hydroxylases dépendantes du cytochrome P450

Le rôle de l'acide ascorbique dans le fonctionnement des cytochromes P450 n'est pas complètement élucidé mais des observations réalisées sur des cobayes carencés en vitamine C ont montrés une diminution de l'activité des hydroxylases stéroïdiennes, du taux des cytochromes P450 et de l'élimination des substances xénobiotiques qui leurs ont été injectées(84) (85).

b) Métabolisme du fer

La vitamine C joue un rôle important dans l'absorption duodénale du fer. Dans l'alimentation, le fer se présente sous deux formes, hémique ferreux facilement absorbé par l'organisme et non hémique ferrique dont l'absorption dépend de la constitution du bol alimentaire et de la présence en vitamine C. La vitamine C intervient en transformant le fer ferrique en fer ferreux(86), en effet le fer ferrique est insoluble à pH alcalin comme dans le duodénum alors que le fer ferreux est soluble. Cette transformation est opérée par une réductase membranaire au niveau du duodénum qui utilise l'acide ascorbique comme co-facteur.

La vitamine C joue également un rôle pour l'incorporation et la mobilisation du fer dans la ferritine(21).

c) Métabolisme de l'histamine

Il existe une corrélation inverse entre la quantité d'acide ascorbique et la quantité d'histamine dans le sang. En cas de carence en vitamine C, l'histamine augmente(87).

Une étude de 1990 a montré que la prise unique orale de 2g de vitamine C réduisait la réactivité bronchique chez des patients souffrant de rhinite allergique à qui on a fait inhaler de l'histamine(88).

d) *Action antioxydante*

L'acide ascorbique a la propriété de neutraliser certaines espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO) comme le radical hydroxyl ou des espèces réactives dérivées de l'azote (ERN) comme le peroxydant.

Son action antioxydante est également due à la capacité de l'acide ascorbique à régénérer l' α -tocophérol qui est une forme de vitamine E avec un fort pouvoir anti-oxydant(89) (90).

Cette propriété permet de protéger l'œil contre les attaques radicalaires générées par les photons. Dans les polynucléaires neutrophiles l'acide ascorbique permet de neutraliser les ERO produit lors de la réponse immunitaire. Dans le plasma il limite la peroxydation lipidique des LDL(91).

e) *Réponse immunitaire*

La réponse immunitaire dépend de la production régulée de radicaux libres oxygénés en plus ou moins grande quantité.

Le métabolisme des macrophages et des polynucléaires activés consomment une grande quantité d' O_2 , cela conduit à une production d'anion superoxyde O_2^- par la NADPH-oxydase. L'anion superoxyde est ensuite pris en charge par la superoxyde dismutase pour former de l'eau oxygénée H_2O_2 qui est un antiseptique.

De plus les polynucléaires qui possèdent l'enzyme myéloperoxydase (MPO), peuvent transformer l'eau oxygénée en hypochlorite qui pourra ensuite réagir avec des amines et des amides pour donner des chloramines et des chloramides qui ont également un effet antiseptique.

Enfin, l'eau oxygénée peut aussi réagir avec l'anion super oxyde pour former le radical hydroxyl hautement réactif.

Le rôle de l'acide ascorbique est de neutraliser l'excès de radicaux libres afin d'éviter qu'ils n'altèrent les membranes des cellules immunitaires et ne propagent une cascade délétère pour les constituants du plasma et des autres tissus.

On observe également un effet sur le chimiotactisme des cellules immunitaires qui ont une mobilité augmentée(92).

3. Signes de carences

a) *Seuils biologiques (au laboratoire du CHU de Toulouse)*

Les seuils biologiques de vitamine C sériques sont :

- Seuil scorbutique : <2,5 mg/l
- Risque d'hypovitaminose : 2,5-6,2 mg/l
- Statut normal : 6,2-10 mg/l
- Statut optimisé : >10 mg/l

Ces valeurs ont été établies à partir de la littérature(93) (94) (95)

b) *Signes cliniques*

(1) Etat marginal de carence

Les premiers signes de carence en vitamine C ne sont pas très significatifs, on retrouve de l'asthénie, de l'anorexie et une faiblesse musculaire. Si la carence se prolonge, on atteint le stade scorbutique.

(2) Scorbut

Le scorbut se manifeste par des atteintes cutané-muqueuses, avec des saignements gingivaux, des hématomes spontanés, un déchaussement des dents, une alopécie, un purpura cutané-muqueux. Toutes ces atteintes sont liées à un

défaut de synthèse du collagène. Ces signes cliniques, visibles, sont potentiellement accompagnés de signes cliniques d'organes également liés à la fragilité de la matrice extracellulaire en particulier du cartilage, on observe des arthralgies des grosses articulations avec œdèmes.

On note aussi des gingivites et des parodontites qui s'expliquent par l'altération de la muqueuse et le déchaussement des dents associées à une altération de la réponse immunitaire.

En 1939, une expérience a été menée par un homme adulte en bonne santé qui s'est astreint volontairement à un régime dépourvu de vitamine C(96). La concentration en acide ascorbique plasmatique a atteint zéro après 41 jours, en revanche la concentration leucocytaire en acide ascorbique n'a atteint zéro qu'après 82 jours. Les premiers signes cliniques n'ont commencé à apparaître que trois mois après le début de l'expérience soit peu de temps après la déplétion des leucocytes.

4. Enjeu de la supplémentation en vitamine C chez les patients hémodialysés

La vitamine C est un enjeu complexe chez les patients hémodialysés car ses effets bénéfiques peuvent être complètement supplantés par ses effets adverses pour cette population. Une méta-analyse a recensé les effets positifs et négatifs de la supplémentation en acide ascorbique retrouvés dans différentes études(21).

On observe une diminution des doses nécessaires d'EPO pour corriger l'anémie chez les patients hémodialysés chroniques supplémenté en vitamine C (97).

Chez les patients hémodialysés supplémentés en vitamine C couplée à une supplémentation en vitamine E, on observe une amélioration de la microcirculation cutanée par diminution du stress oxydatif(98). La vitamine C peut également réduire la concentration de cholestérol total ainsi que les LDL, on observe aussi une diminution des ratio LDL/HDL et cholestérol total/HDL(99).

En revanche une autre étude a montré que l'apport de vitamine C augmente la peroxydation des lipides principalement chez les patients ayant une ferritine élevée(100).

L'autre effet négatif qui peut survenir lors d'une supplémentation en vitamine C chez les patients hémodialysés chroniques est une accumulation d'acide oxalique.

L'acide oxalique se comporte comme la créatinine chez les patients hémodialysés, c'est-à-dire qu'il n'est pas éliminé par le rein et s'accumule(101). Des concentrations élevées d'acide oxalique dans l'organisme favorisent le dépôt d'oxalate de calcium dans les tissus, particulièrement les vaisseaux sanguins et les os et représentent donc une augmentation du risque cardio-vasculaire.

L'acide oxalique précipite pour des concentrations plasmatiques supérieures à 30 μ M. Une étude de 2016 a montré que pour des concentrations d'acide ascorbique inférieures à 100 μ M (soit environ 18 mg/L) il y avait une faible corrélation entre la concentration d'acide ascorbique et la concentration d'oxalate plasmatique qui restent inférieures à 30 μ M en pré-dialyse grâce à l'utilisation de dialyseurs haut débit(102).

En revanche, une autre étude a montré qu'après un an de supplémentation de 500 mg de vitamine C après chaque séance de dialyse, on retrouvait une concentration plasmatique moyenne de 61 μ M d'acide oxalique. Cette concentration était corrélée à celle d'acide ascorbique et plus élevée chez les patients dialysés trois fois par semaine.(24)

Il existe aussi une corrélation entre le temps de dialyse par semaine et la concentration en vitamine C, les patients en dialyse plus de 15 heures/semaines présentent plus de carences(28).

Une autre étude interventionnelle de 2005 a suivi des patients hémodialysés pendant 30 mois. Les concentrations d'acide ascorbique et d'oxalate ont été mesurées avant supplémentation et tout au long du suivi. Les patients ont ensuite été supplémentés pendant 3 mois par une dose de 250 mg d'acide ascorbique IV une fois par semaine puis pendant 15 mois par une dose de 500 mg IV une fois par semaine et enfin les patients ont été suivis pendant 12 mois après la fin de la supplémentation. La supplémentation de 250 mg était insuffisante pour corriger la concentration d'acide ascorbique mais la dose de 500mg a normalisé 94% des patients avec une concentration moyenne de 6.6 ± 2.8 mg/L. Après un an sans supplémentation, les dosages ont retrouvé leurs valeurs de base soit une moyenne de $1,6 \pm 0.8$ mg/L. De manière concomitante, la concentration d'oxalate a augmenté en fonction des doses d'acide ascorbique. Avant supplémentation il y avait un patient sur 18 au-dessus du seuil de saturation de l'acide oxalique, 4 patients pendant la supplémentation de 250mg et 7 patients pendant la supplémentation à 500mg. Et comme pour l'acide ascorbique, on retrouve après douze mois sans supplémentation des résultats similaire à ceux du début de l'étude(103).

B. Matériels et méthode

1. Population

Au cours de 3 campagnes réalisées en décembre 2018, juin 2019 et décembre 2019, l'ensemble des patients hémodialysés du CHU de Toulouse ont été prélevés pour doser leur vitamine C sérique.

La première campagne comptait 142 patients, la seconde 144 patients et la dernière 140 patients. 98 patients ont participé aux trois campagnes. 121 patients ont participé à la 1^{ère} et la 2nd campagnes et 113 patients ont participé à la 2nd et la 3^{ème} campagne. 2 patients ont participé à la 1^{ère} et à la 3^{ème} campagne mais pas à la seconde.

Pour l'analyse statistique, les résultats annulés ou non conformes n'ont pas été conservés (Tableau 12).

	Campagne 1		Campagne 2		Campagne 3	
	HD	NHD	HD	NHD	HD	NHD
Nombre de patients	142	636	144	736	140	857
Age (ans)	63 [18-92]	54 [1-99]	63 [19-92]	53 [1-97]	61 [19-93]	55 [0-97]
Ratio H/F	1,68	0,57	1,72	0,65	1,8	0,57
Nombre de valeurs	129	626	139	726	122	844

Tableau 12 : Caractéristiques des populations au cours des trois campagnes (HD : patients hémodialysés, NHD : patients non hémodialysés)

Les patients ont été répartis par catégories d'âge de la même manière que pour l'étude de la vitamine B1 (Tableau 13) :

- De 0 à 15 ans : tranche 1
- De 16 à 30 ans : tranche 2
- De 31 à 50 ans : tranche 3
- De 51 à 70 ans : tranche 4
- De 71 à 85 ans : tranche 5
- Plus de 85 ans : tranche 6

Déc-18		
Tranche d'âge	Nombre de patients HD	Nombre de patients NHD
1	0	19
2	5	100
3	23	160
4	56	177
5	40	104
6	6	66

Juin-19		
Tranche d'âge	Nombre de patients HD	Nombre de patients NHD
1	0	19
2	4	99
3	28	218
4	62	226
5	41	119
6	4	45

Déc-19		
Tranche d'âge	Nombre de patients HD	Nombre de patients NHD
1	0	26
2	5	131
3	32	193
4	51	253
5	32	156
6	2	85

Tableau 13 : Répartition des patients selon leur âge

2. Méthode de dosage

Au CHU de Toulouse, le dosage de la vitamine C est réalisé en chromatographie liquide haute performance (HPLC).

a) Préparation des échantillons pour le dosage de la vitamine C

Le dosage peut être réalisé sur deux chaînes HPLC, une chaîne composée d'une pompe ICS, un injecteur THERMO et un détecteur JASCO, et une chaîne composée d'une pompe JASCO, un injecteur DIONEX et un détecteur SHIMADZU.

Pour les deux chaînes, on utilise une colonne de silice avec des ligands d'octadecyl silane.

L'analyse est réalisée sur du sérum, dans le cadre de l'étude, le prélèvement est réalisé avant la séance de dialyse. Il est important que le tube prélevé sous vide de type Vacutainer® ne soit pas ouvert avant la déprotéinisation, l'oxygène réagissant avec l'acide ascorbique.

Pour déprotéiniser l'échantillon, il faut ajouter 50µl de sérum à 500µl d'acide métaphosphorique (AMP) puis centrifuger.

L'échantillon doit ensuite être extrait et un fluorochrome est ajouté, ainsi qu'un étalon interne, le salicylamide (solution SEIF).

Dans le sérum l'acide L-ascorbique se trouve sous forme réduite (90%) et oxydée (10%). Le réactif de révélation ne se fixe que sur la forme oxydée, on utilise donc du ferricyanure de potassium pour oxyder la forme réduite.

Afin de révéler les composés à la sortie de la colonne, on fixe un fluorochrome sur les composés oxydés par l'intermédiaire de l'O-Phénylène Diamine Dihydrochloride (ODP).

Nature	Volume	Action
Echantillon extrait	100 µl	Dans des tubes Eppendorf brun
Mélange SEIF/ K ₃ Fe(CN) ₆ (Vol / Vol)	100 µl	Vortexer Immédiatement durant 15 s
Tampon Acétate de sodium pH 6.9	250 µl	Vortexer Immédiatement durant 15 s
ODP	1000 µl	Vortexer Immédiatement durant 15 s
		<ul style="list-style-type: none"> ⇒ Mettre dans un bain marie à 37°C pendant 10 min ⇒ Refroidir dans le réfrigérateur pendant 5 min après incubation ⇒ Vortex 15 secondes
Transfert du mélange		Dans godets d'injection ambrée

Tableau 14 : Méthode de préparation des échantillons pour le dosage de la vitamine C sérique en HPLC

b) Analyse des chromatogrammes

Le chromatogramme obtenu doit montrer un pic pour l'acide L-ascorbique, éventuellement un pic pour l'acide D-ascorbique et un pic pour le standard interne (Figures 29 et 30).

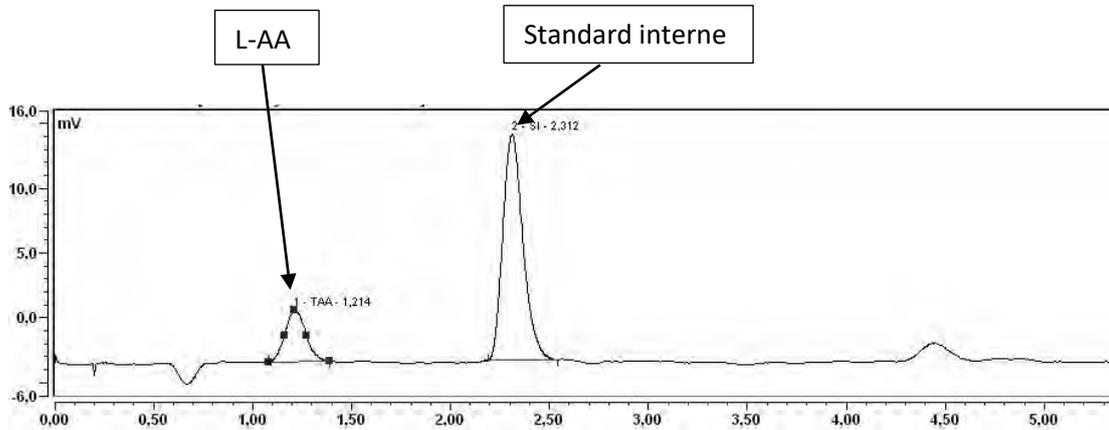


Figure 29 : Chromatogramme normal pour l'acide L-ascorbique

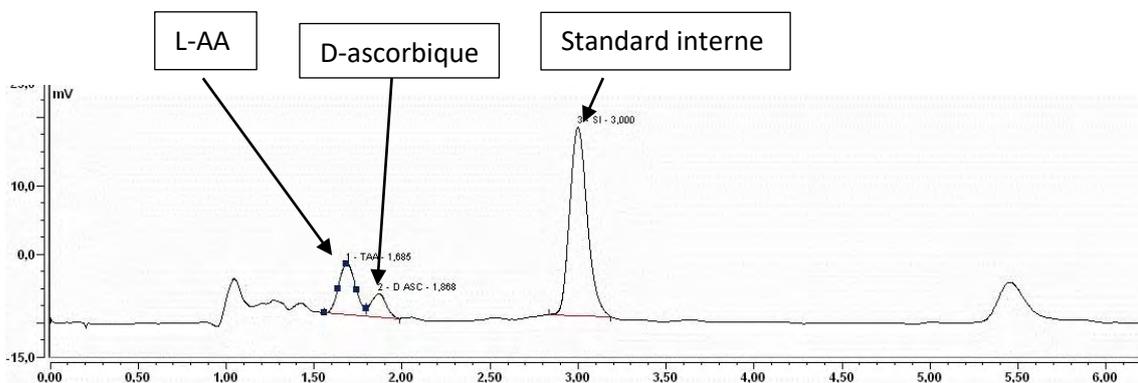


Figure 30 : Chromatogramme normal avec un pic de D-ascorbique

Mais on peut également rencontrer des co-élutions avec des substances présentes dans le sérum qui ont un temps de rétention proche de l'acide L-ascorbique. Pour s'assurer qu'un pic représente de l'acide L-ascorbique, il faut reprendre le tube primaire dans lequel l'acide ascorbique a été oxydé par l'oxygène dès l'ouverture du tube, la surface du pic doit être fortement diminuée.

Lorsque plusieurs pics ont des temps de rétention proches et qu'il y a un doute pour identifier le pic d'intérêt, on peut utiliser la méthode des ajouts.

Cette méthode consiste à partir du même prélèvement et à réaliser trois préparations. La première sera dosée dans les conditions habituelles, la seconde sera dosée après ajout de L-ascorbate avant d'être traité par AMP et la troisième sera d'abord traitée par AMP avant que l'on ajoute 5µL de D-ascorbate à 22mg/L.

De cette manière on peut préciser le temps de rétention de chaque composé d'intérêt et intégrer le bon pic sur l'échantillon intact.

Exemple d'un sérum de patient hémodialysé chronique présentant un pic de L-ascorbate d'interprétation délicate :

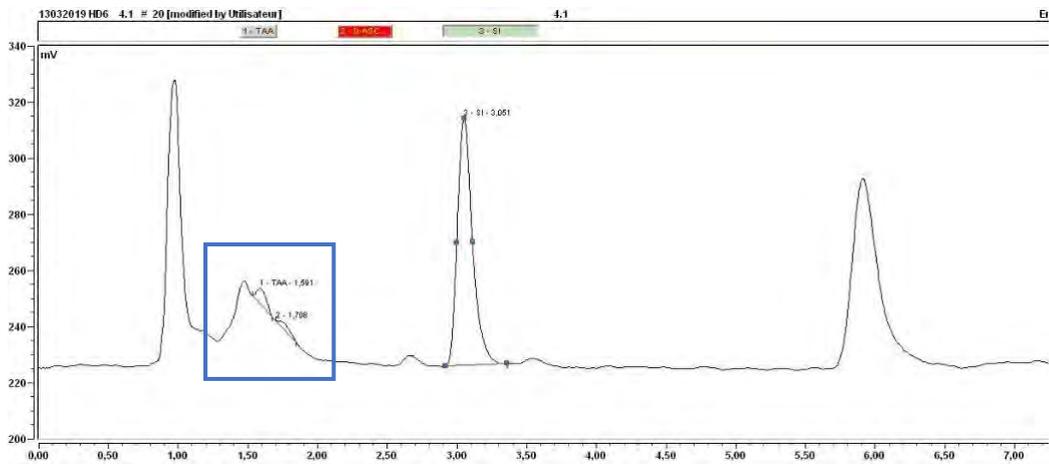


Figure 31 : chromatogramme de l'échantillon intacte

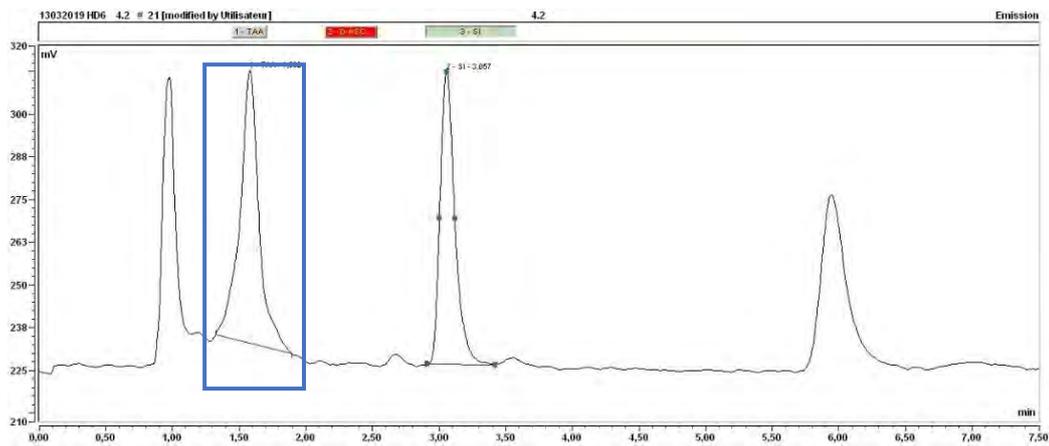


Figure 32 : Chromatogramme de l'échantillon avec ajout de L-ascorbate

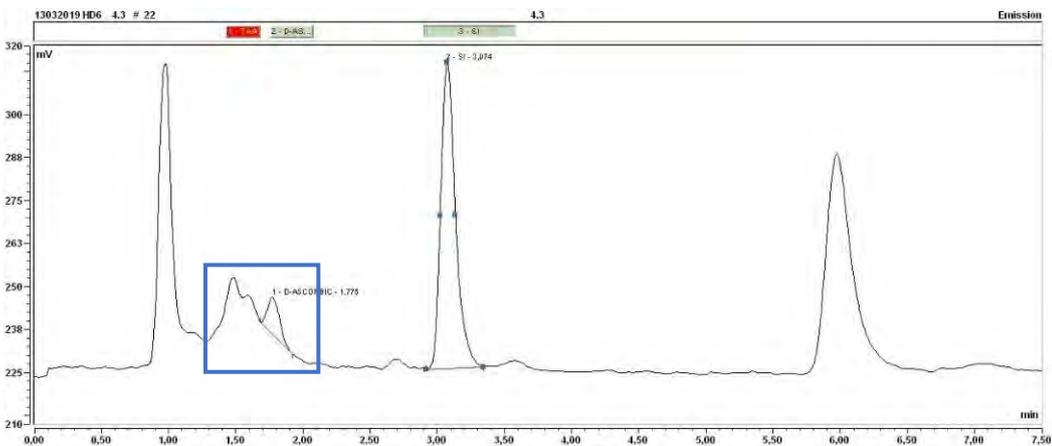


Figure 33 : Chromatogramme de l'échantillon avec ajout de D-ascorbate

Dans la pratique quotidienne, pour identifier le pic d'intérêt, il suffit de superposer un chromatogramme normal, de calibration ou de contrôle pour identifier le bon pic (Figure 34).

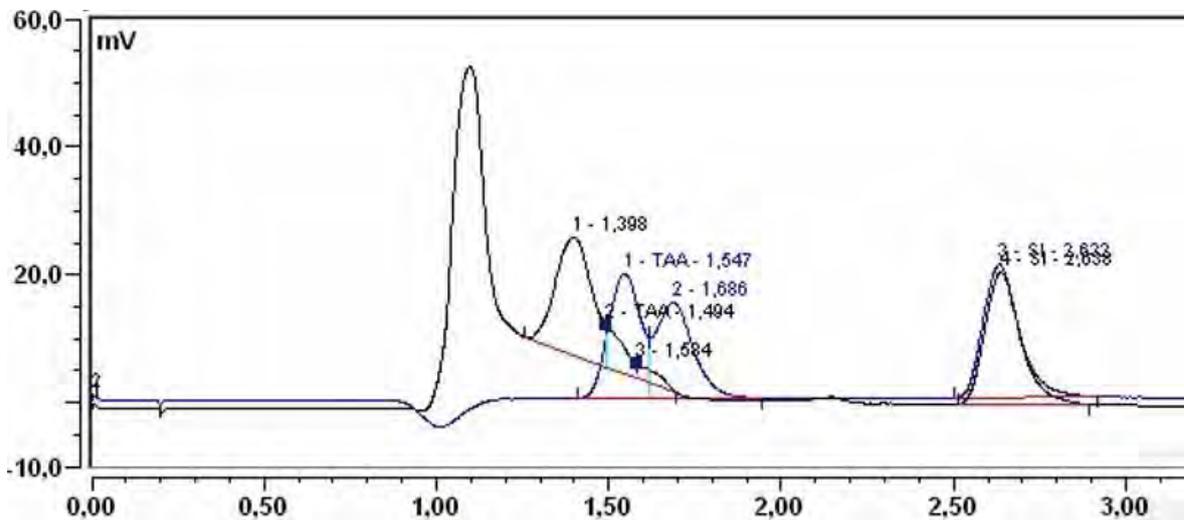


Figure 34 : Exemple de chromatogramme difficile d'interprétation où la superposition d'un chromatogramme d'un point de calibration permet d'identifier le pic d'AA

Les temps de rétention ne varient pas au cours d'un même run. La méthode des ajouts nous a permis de confirmer cela.

3. Analyse statistique

Les résultats sont présentés en moyenne +/- l'écart type (ET). Les comparaisons de distributions de données sont réalisées par un test de Student en série non appariée ou appariée suivant le modèle, une significativité est retenue pour un $p < 0,05$.

Une comparaison de variance (ANOVA) est utilisée pour analyser l'impact de plusieurs facteurs sur un paramètre.

C. Résultats

Au cours des trois campagnes de dosage de l'acide ascorbique, nous n'avons pas retrouvé de différence statistiquement significative avec les populations témoins correspondante. Excepté pour la population témoin de décembre 2018, on retrouve des valeurs moyennes d'acide ascorbique inférieures à un seuil normal de 6.2 mg/l (Tableau 15)

Moyenne \pm ET vitamine C (mg/l)					
	HD	Nombre de valeurs	NHD	Nombre de valeurs	p value
Déc-18	5,70 \pm 7.96	129	6,30 \pm 4,52	626	0,413
Juin-19	4,62 \pm 6,94	139	5,74 \pm 4,91	726	0,070
Déc-19	5,69 \pm 5,87	122	5,52 \pm 4,31	844	0,755

Tableau 15 : Moyennes \pm ET des concentrations en vitamine C sérique (mg/l) au cours des trois campagnes (HD : patients hémodialysés, NHD : patients non hémodialysés) (T-Test de Student)

Il faut prendre en compte le biais de sélection de la population témoin, si les patients se sont vu prescrire un dosage de vitamine C, ils avaient probablement des signes cliniques ou une pathologie pouvant faire craindre un déficit en acide ascorbique.

On retrouve, toute population confondue, une différence significative entre les concentrations d'acide ascorbique des hommes et des femmes, les hommes ayant toujours une concentration en acide ascorbique inférieure à celle des femmes.

(Tableau 16)

Moyenne \pm ET vitamine C (mg/l)					
	Hommes	Nombre de valeurs	Femmes	Nombre de valeurs	p value
Déc - 18	5,24 \pm 4,66	305	6,84 \pm 5,55	450	0,000
Juin - 19	4,66 \pm 4,05	373	6,24 \pm 6	492	0,000
Déc - 19	4,71 \pm 4,60	384	6,09 \pm 4,41	582	0,000

Tableau 16 : Moyennes \pm ET des concentrations en vitamine C sérique (mg/l) chez les hommes et les femmes (T-Test de Student)

Cette différence se retrouve dans la population de patients non hémodialysés du CHU mais ne se retrouve pas chez les patients hémodialysés chroniques (Tableaux 17 et 18).

	Moyenne \pm ET vitamine C (mg/l)				
	H NHD	Nombre de valeurs	F NHD	Nombre de valeurs	P value
Déc - 18	5,30 \pm 3,80	225	6,86 \pm 4,8	401	0,000
Juin - 19	4,95 \pm 3,77	283	6,25 \pm 5,47	443	0,000
Déc - 19	4,47 \pm 3,89	306	6,11 \pm 4,42	538	0,000

Tableau 17 : Moyennes \pm ET des concentrations en vitamine C sérique (mg/l) chez les patients non hémodialysés en fonction du sexe (H NHD : hommes non hémodialysés, F NHD : femmes non hémodialysés) (T-Test de Student)

	Moyenne \pm ET vitamine C (mg/l)				
	H HD	Nombre de valeurs	F HD	Nombre de valeurs	P value
Déc-18	5,08 \pm 6,54	80	6,73 \pm 9,84	49	0,300
Juin-19	3,75 \pm 4,75	90	6,21 \pm 9,63	49	0,098
Déc-19	5,64 \pm 6,65	78	5,79 \pm 4,22	44	0,878

Tableau 18 : Moyennes \pm ET des concentrations en vitamine C sérique (mg/l) chez les patients hémodialysés en fonction du sexe (H HD : hommes hémodialysés, F HD : femmes hémodialysés) (T-Test de Student)

L'analyse des résultats en fonction de l'âge montre des différences non significatives chez les patients hémodialysés mais une différence significative chez les patients non hémodialysés. Chez ces derniers, on observe une diminution de la vitamine C sérique en fonction de l'âge (Figures 35, 36 et 37).

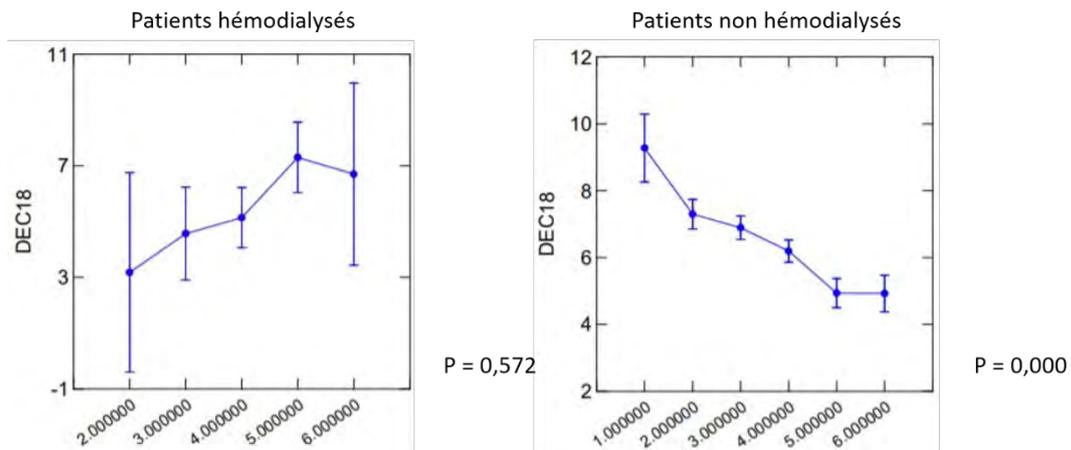


Figure 35 : Représentation des concentrations moyennes \pm ET en vitamine C sérique (mg/l) en fonction de l'âge en décembre 2018 (ANOVA)

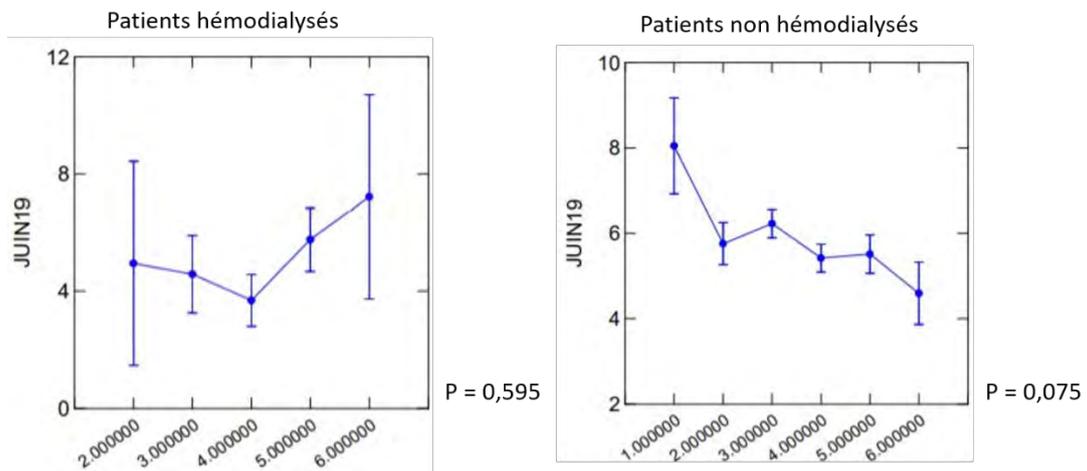


Figure 36 : Représentation des concentrations moyennes \pm ET en vitamine C sérique (mg/l) en fonction de l'âge en juin 2019 (ANOVA)

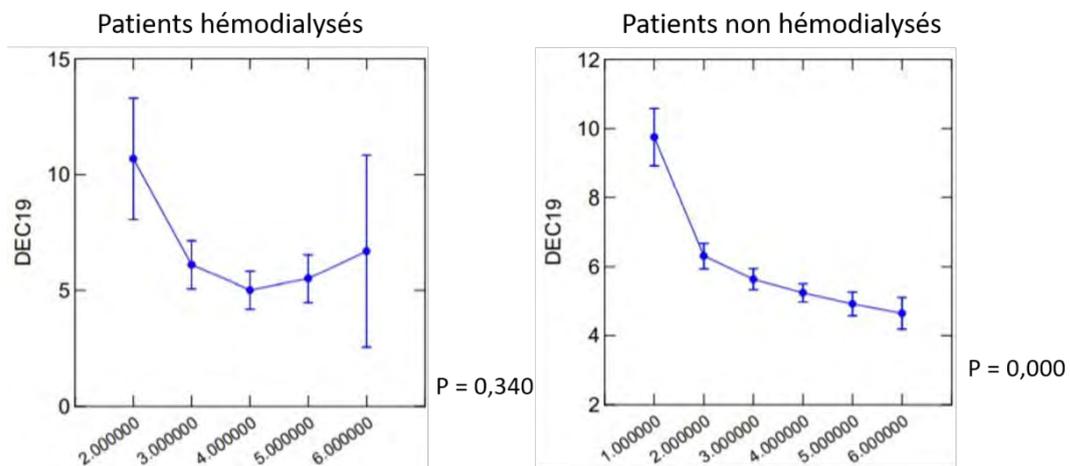


Figure 37 : Représentation des concentrations moyennes \pm ET en vitamine C sérique (mg/l) en fonction de l'âge en décembre 2019 (ANOVA)

Ce qui ressort également c'est le nombre de résultats qui n'ont pas pu être rendus, 7.75% chez les patients hémodialysés lors de la première campagne contre 0.78% pour les patients des autres services en décembre 2018, 2.08 % contre 0.81 % lors de la deuxième campagne et 12.14 % contre 1.17% lors de la troisième campagne (Tableaux 19 et 20).

Résultats Vitamine C 2018 HD			Résultats Vitamine C juin 2019 HD		Résultats Vitamine C décembre 2019 HD	
Bornes (mg/l)	Nombre de patients	Pourcentage	Nombre de patients	Pourcentage	Nombre de patients	Pourcentage
<2,5	38	26,76	61	42,36	37	26,43
2,5-6,19	58	40,85	55	38,19	48	34,29
6,2-10	19	13,38	11	7,64	21	15,00
>10	14	9,86	12	8,33	16	11,43
Impossible	11	7,75	3	2,08	10	7,14
Annulé	0	0,00	0	0,00	7	5,00
Non Conforme	2	1,41	2	1,39	1	0,71
Total	142	100,00	144	100,00	140	100,00

Tableau 19 : Comparaison de la distribution des résultats de la vitamine C sérique (mg/l) des trois campagnes chez les patients hémodialysés

Déc-18				
Bornes (mg/l)	Résultats vitamine C HD		Résultat vitamine C NHD	
	Nombre de patients	Pourcentage	Pourcentage	Nombre de patients
<2,5	38	26,76	25,00	159
2,5-6,19	58	40,85	28,30	180
6,2-10	19	13,38	25,31	161
>10	14	9,86	19,81	126
Impossible	11	7,75	0,31	2
Annulé	0	0,00	0,47	3
Non Conforme	2	1,41	0,79	5
Total	142	100,00	100,00	636

Juin-19				
Bornes (mg/l)	Résultats vitamine C HD		Résultat vitamine C NHD	
	Nombre de patients	Pourcentage	Pourcentage	Nombre de patients
<2,5	61	42,36	29,62	218
2,5-6,19	55	38,19	29,89	220
6,2-10	11	7,64	23,37	172
>10	12	8,33	15,76	116
Impossible	3	2,08	0,54	4
Annulé	0	0,00	0,27	2
Non Conforme	2	1,39	0,54	4
Total	144	100,00	100,00	736

Déc-19				
Bornes (mg/l)	Résultats vitamine C HD		Résultat Vit C NHD	
	Nombre de patients	Pourcentage	Pourcentage	Nombre de patients
<2,5	37	26,43	30,22	259
2,5-6,19	48	34,29	31,51	270
6,2-10	21	15,00	21,00	180
>10	16	11,43	15,75	135
Impossible	10	7,14	0,47	4
Annulé	7	5,00	0,70	6
Non Conforme	1	0,71	0,35	3
Total	140	100,00	100,00	857

Tableau 20 : Comparaison de la distribution des résultats de la vitamine C sérique (mg/l) entre les patients hémodialysés et les patients non hémodialysés lors des trois campagnes de dosage de la vitamine C

En effet, chez les patients hémodialysés on retrouve souvent beaucoup d'interférences dues à l'accumulation de différentes substances dans le sérum conduisant à des co-élutions (Figure 38).

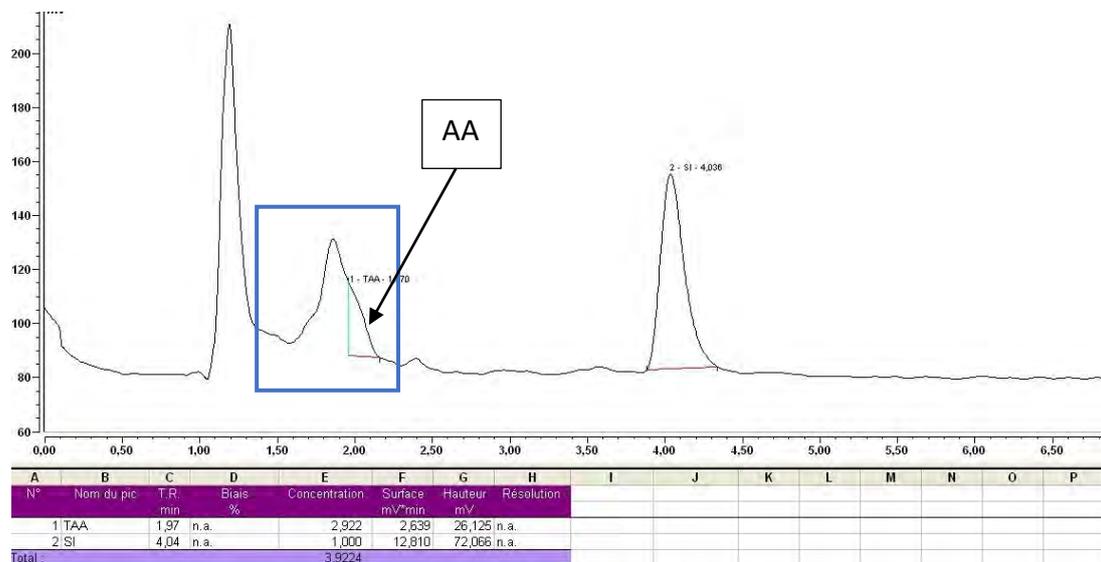


Figure 38 : Exemple de co-élution chez un patient hémodialysé

Lors de la deuxième campagne il n'y a eu que 3 patients pour lesquels aucun résultat n'a pu être rendu contre 11 lors de la première campagne et nous avons cherché à expliquer cette différence. Les deux campagnes ont été réalisées sur des systèmes analytiques différents, en particulier les fluorimètres et nous avons cherché à comprendre ce qui différait entre les deux appareils afin de diminuer encore plus le nombre de résultats non rendus. La seule différence entre ces deux appareils est l'amplification du signal qui était de 512 lors de la première campagne et de 128 lors de la seconde. Cette amplification du signal plus importante a également amplifiée les interférences ce qui a rendu les co-élutions plus complexe à séparer. Mais une amplification plus faible ne permettrait pas de

détecter les signaux parfois très bas chez les patients hémodialysés. La colonne ayant également été changée entre les deux campagnes et au cours de la seconde campagne, nous avons comparé les différents temps de rétention relatif (TRR) (=TR SI / TR AA), pour vérifier que les colonnes avaient le même pouvoir séparateur.

Nous avons comparé les temps de rétentions relatifs entre les deux colonnes utilisées au cours de la seconde campagne, la colonne 409 et la colonne 392. Une série de patients hémodialysés a été passée sur la colonne 409 et 3 séries sur la colonne 392. Nous avons comparé pour chaque colonne les séries de patients hémodialysés avec des séries de patients tout venant passées juste avant ou juste après la série de patient hémodialysés.

On retrouve une différence significative entre les patients hémodialysés et non hémodialysés pour chaque colonne (Figures 39 et 40).

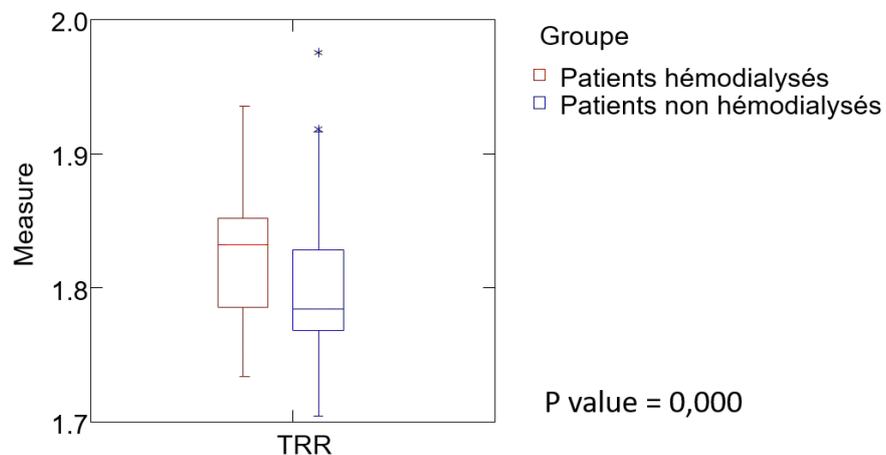


Figure 39 : Différence entre les temps de rétention chez les patients hémodialysés et non hémodialysés sur la colonne 372 (ANOVA)

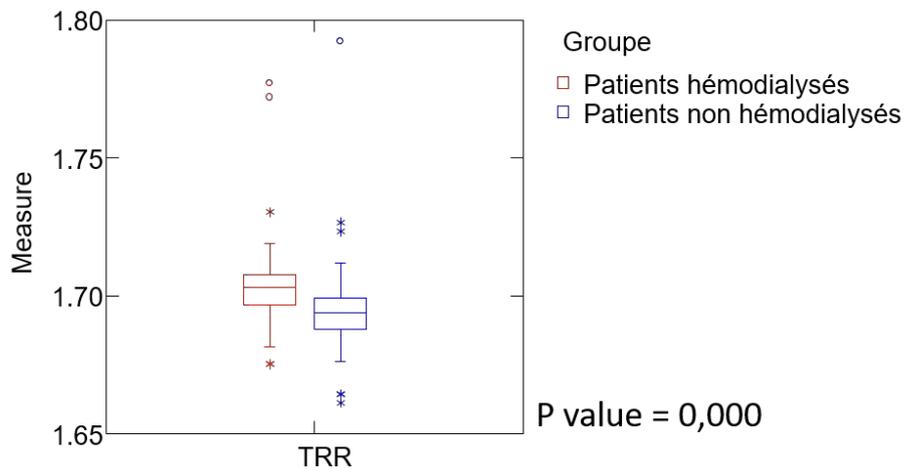


Figure 40 : Différence entre les temps de rétention chez les patients hémodialisés et non hémodialisés sur la colonne 409 (ANOVA)

Et on retrouve une différence significative entre les deux colonnes (Figure 41).

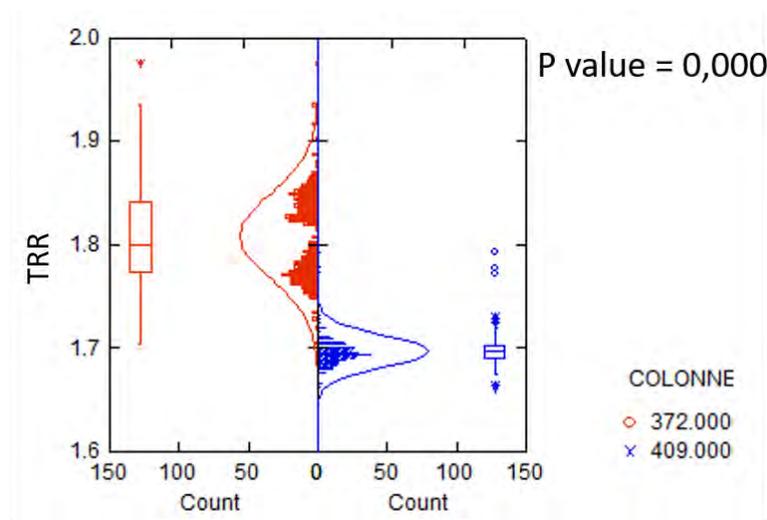


Figure 41 : Comparaison des temps de rétention entre les colonnes 372 et 409 toute population confondue (T-Test de Student)

En revanche on trouve une différence non significative entre les deux colonnes chez les patients hémodialysés, alors qu'il existe une différence significative chez les patients non hémodialysés (Figure 42).

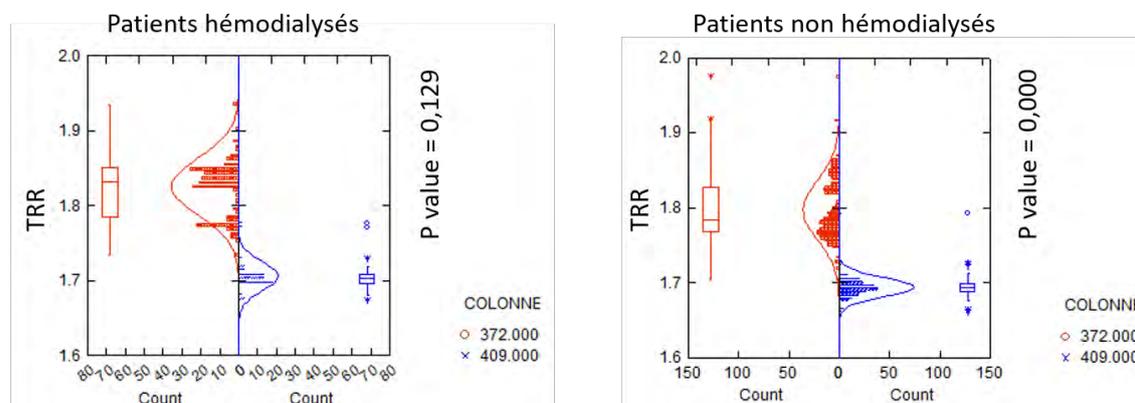


Figure 42 : Comparaison des temps de rétentions relatifs entre les colonnes 372 et 409 chez les patients hémodialysés et chez les patients non hémodialysés. (T-Test de Student)

Ces résultats suggèrent que l'on pourrait sélectionner une colonne ayant des TRR plus élevés lorsque l'on passe les séries de patients hémodialysés pour augmenter les chances d'obtenir des pics mieux séparés. En pratique, la variation des TRR entre les colonnes, bien que significative, est trop faible pour que l'on observe une différence sur le chromatogramme. Les trois chromatogrammes non rendus lors de la 2nd campagne proviennent d'échantillons passés sur la colonne 372 qui a le TRR le plus long.

La seule solution pour éliminer ces interférences serait d'augmenter le pouvoir séparateur de la chromatographie en utilisant une phase mobile en gradient ce qui permettrait de mieux séparer les molécules en début de run sans augmenter le temps du run. Mais effectuer ces modifications pour un nombre de bilans problématiques qui représentait moins de 1% des bilans sur l'année 2018 ne paraît pas adapté à l'activité du laboratoire. De plus le passage à la spectrométrie de masse pour le dosage de l'acide ascorbique est en projet et devrait être mis en

place prochainement ce qui devrait réduire le nombre de bilan non rendu pour des problèmes de co-élution.

Lors de la troisième campagne on observe de nouveau de nombreux résultats non-rendus. Les patients n'ont pas été traités par séries spécifiques mais dans des séries de patients tout venant. Ce qui explique la différence entre le nombre de résultats non rendus entre les différentes campagnes, c'est la tolérance appliquée par l'opérateur lors de la lecture des chromatogrammes. En effet, les deux premières campagnes ont été traitées par des internes, en séries spécifiques et avec le temps de retraiter certains échantillons. Lors de la seconde campagne, connaissant le problème, une plus grande tolérance a été accordée aux chromatogrammes compliqués en favorisant l'intérêt clinique plutôt que la précision biologique.

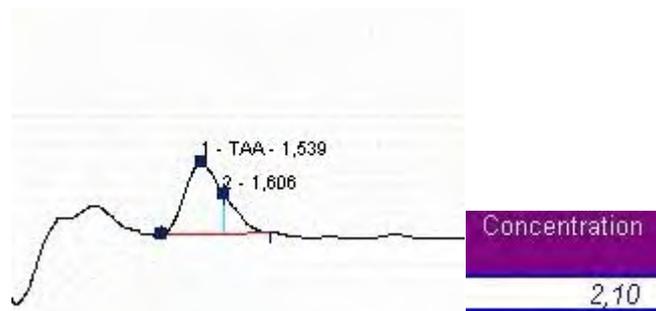


Figure 43 : Exemple de pics co-élus

Sur la figure 43 on peut voir deux pics co-élus pour lequel on ne peut pas rendre de résultat exact. En revanche, on voit que la concentration estimée du pic est de 2.10 mg/l donc très basse. Nous avons donc estimé que ce résultat, même inexacte apportait un bénéfice à la prise en charge.

Après avoir comparé les patients hémodialysés avec des patients non hémodialysés, nous avons cherché s'il existait des facteurs de risques de carence au sein de la population de patients hémodialysés. Nous avons donc étudié la

technique de dialyse utilisée, la durée depuis le début de l'hémodialyse, le temps cumulé passé en dialyse par semaine, l'étiologie de l'insuffisance rénale et l'impact de la supplémentation en vitamine C. Nous n'avons trouvé aucune différence significative.

Au cours des 3 campagnes, la technique de dialyse a évolué. Lors de la première campagne il y avait principalement des patients sous hémodialyse (HD) et lors des deux autres campagnes, les patients étaient principalement sous hémodiafiltration (HDF) et quelques patients sous AFBK. Pour rechercher une différence entre ces systèmes nous avons donc comparé les concentrations de vitamine C sérique des patients sous ces différents systèmes lors des trois campagnes confondues, sans mettre en évidence de différence (Figure 44 et tableau 21).

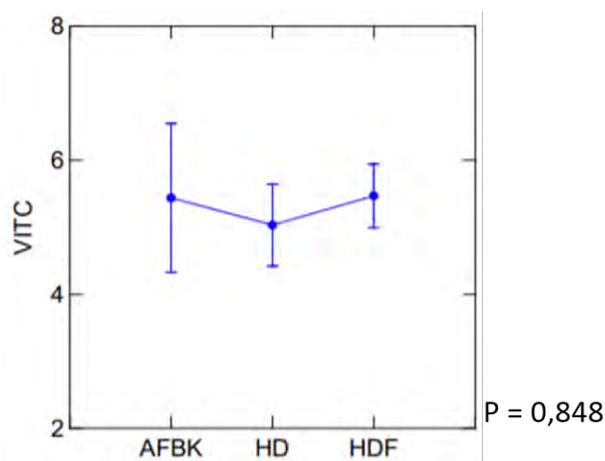


Figure 44 : Comparaison des moyennes \pm ET en vitamine C sérique (mg/l) en fonction des systèmes de dialyse (ANOVA)

	Moyenne	Médiane	Écart type	Minimum	Maximum	Nombre de valeurs
HD	5,03	3,49	5,73	0,47	50,73	132
HDF	5,47	6,64	7,9	0,47	68,95	217
AFBK	5,44	3,53	5,59	0,47	22,28	40

Tableau 21 : Données descriptives de la vitamine C sérique (mg/l) en fonction du système de dialyse (HD : hémodialyse, HDF : hémodiafiltration, AFBK : biofiltration sans acétate avec dialysat adapté en postassium)

Pour étudier l'impact de la durée depuis le début de la dialyse, nous avons séparés les patients en trois catégories.

- A : Hémodialyse depuis moins d'un an
- B : Hémodialyse depuis plus d'un an mais moins de 5 ans
- C : Hémodialyse depuis plus de 5 ans

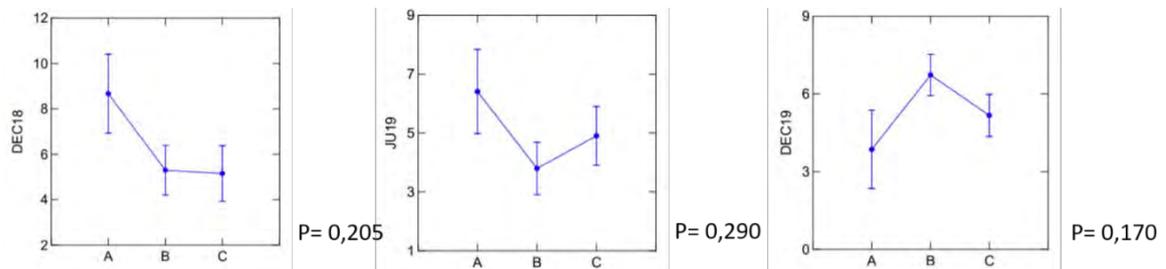


Figure 45 : Comparaison des moyennes \pm ET des concentrations en vitamine C sérique (mg/l) en fonction de la durée depuis le début de la dialyse (ANOVA)

Comme on peut le voir sur les graphiques (Figure 45), on ne retrouve pas de différence significative même si lors des deux premières campagnes, les patients hémodialysés depuis moins d'un an semblaient présenter moins de carences.

Ces résultats peuvent s'expliquer par des résultats de dosage de vitamine C très élevés (>50 mg/l) chez certains patients qui entraînent dans la catégorie A lors des premières campagnes et qui ont changé de catégorie par la suite (Tableau 22).

Déc-18						
	Moyenne	Médiane	Écart type	Minimum	Maximum	Nombre de valeur
A	8,67	5,04	14,10	0,76	68,95	22
B	5,30	3,22	4,82	0,61	21,79	55
C	5,15	3,72	7,48	0,47	50,73	44

Juin-19						
	Moyenne	Médiane	Écart type	Minimum	Maximum	Nombre de valeur
A	6,41	1,83	14,1	0,47	52,06	24
B	3,80	2,92	3,66	0,47	17,93	62
C	4,90	3,32	5,88	0,47	32,67	49

Déc-19						
	Moyenne	Médiane	Écart type	Minimum	Maximum	Nombre de valeur
A	3,85	2,66	2,82	0,47	9,00	15
B	6,73	4,24	6,99	0,47	40,74	54
C	5,17	3,81	5,13	0,47	28,24	52

Tableau 22 : Données descriptives de la vitamine C sérique (mg/l) selon la durée depuis le début de la dialyse pour les trois campagnes

Nous avons ensuite analysé l'impact du temps cumulé passé en dialyse par semaine mais sans trouver de différence significative (Figure 46 : le nombre d'heures en ordonnée n'est pas dans l'ordre croissant)

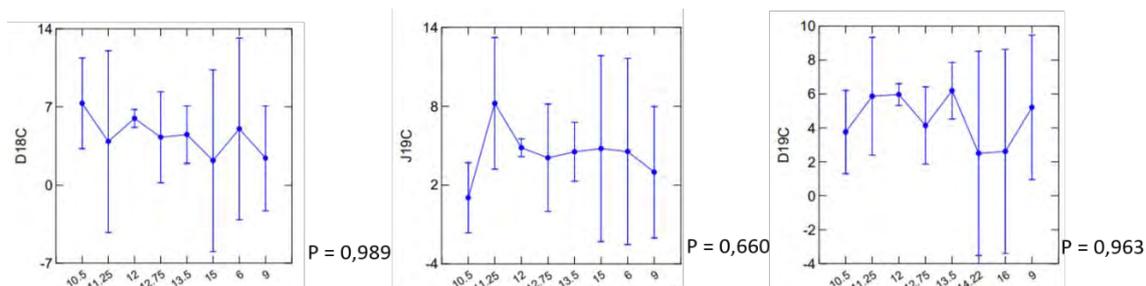


Figure 46 : Concentrations moyennes \pm ET en vitamine C sérique (mg/l) en fonction du temps cumulé (heures) passé en dialyse par semaine (ANOVA)

Ces résultats présentent un fort biais de distribution, près des deux tiers des patients étant dialysés 12 heures par semaine, les autres catégories sont peu représentées (Tableau 23).

Déc-18						
	Moyenne	Médiane	Ecart-type	Minimum	Maximum	Nombre de valeurs
6h	5,03	5,03		5,03	5,03	1
9h	2,40	2,78	0,78	1,50	2,91	3
10,5h	7,31	7,50	3,95	2,43	11,83	4
11,25h	3,89	3,89		3,89	3,89	1
12h	5,96	3,65	8,72	0,47	68,95	105
12,75h	4,28	3,73	2,81	1,89	7,75	4
13,5h	4,51	4,07	2,09	1,23	8,03	10
15h	2,18	2,18		2,18	2,18	1

Juin-19						
	Moyenne	Médiane	Ecart-type	Minimum	Maximum	Nombre de valeurs
6h	4,55	4,55		4,55	4,55	1
9h	2,98	2,98	0,68	2,50	3,46	2
10,5h	1,03	0,82	0,52	0,47	1,59	7
11,25h	8,22	8,22	6,37	3,71	12,72	2
12h	4,84	3,05	7,52	0,47	52,06	112
12,75h	4,07	3,51	2,38	2,03	6,68	3
13,5h	4,53	2,57	4,51	0,51	12,35	10
15h	4,77	4,77		4,77	4,77	1

Déc-19						
	Moyenne	Médiane	Ecart-type	Minimum	Maximum	Nombre de valeurs
9h	5,21	5,21	0,01	5,20	5,22	2
10,5h	3,76	3,68	1,27	1,90	5,76	6
11,25h	5,87	6,65	3,02	2,53	8,42	3
12h	5,97	3,91	6,51	0,47	40,74	88
12,75h	4,14	3,71	2,56	0,59	8,29	7
13,5h	6,19	5,14	5,36	1,40	22,28	13
14,22h	2,50	2,50		2,50	2,50	1
16h	2,61	2,61		2,61	2,61	1

Tableau 23 : Données descriptives de la vitamine C sérique (mg/l) selon le temps cumulé (heures) passé en dialyse par semaine pour les trois campagnes

Les patients hémodialysés sont groupés en fonction de l'étiologie de l'insuffisance rénale en 6 catégories :

- Catégorie 1 : origine diabétique
- Catégorie 2 : Nephro-angiosclérose
- Catégorie 3 : origine congénitale
- Catégorie 4 : Autres étiologies
- Catégorie 5 : origine toxique
- Catégorie 6 : origine infectieuse

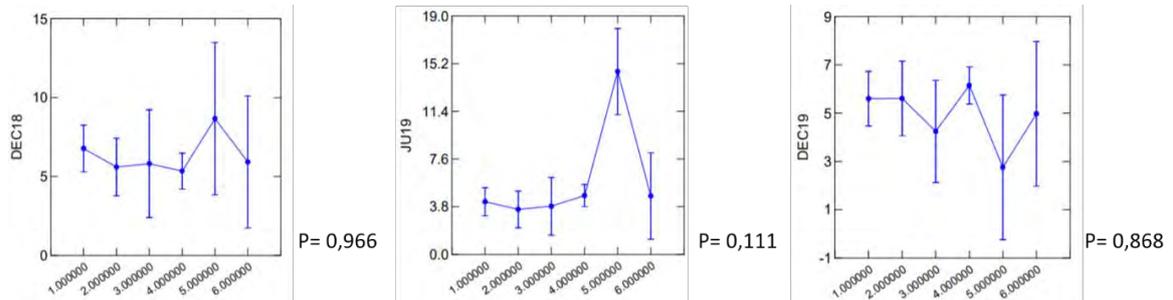


Figure 47 : Comparaison des moyennes \pm ET des concentrations en vitamine C sérique (mg/l) en fonction des catégories identifiées d'étiologie de l'insuffisance rénale

De nouveau on ne retrouve pas de différence significative et la différence apparente pour la catégorie 5 peut s'expliquer par le très faible nombre de patients et d'une valeur de vitamine C élevée lors des deux premières campagnes chez un patient et qui diminue fortement lors de la troisième campagne (Figure 47 et tableau 24).

Déc-18						
	Moyenne	Médiane	Ecart-type	Minimum	Maximum	Nombre de valeurs
1	6,78	3,81	12,00	0,76	68,95	32
2	5,60	4,38	4,06	1,29	16,25	21
3	5,81	3,06	7,97	0,47	21,79	6
4	5,34	3,24	7,04	0,61	50,73	54
5	8,66	5,12	8,14	2,90	17,97	3
6	5,92	3,23	5,78	2,67	14,56	4

Juin-19						
	Moyenne	Médiane	Ecart-type	Minimum	Maximum	Nombre de valeurs
1	4,20	2,20	7,41	0,47	45,30	38
2	3,59	2,88	4,32	0,47	22,02	22
3	3,84	1,17	5,27	0,47	13,29	9
4	4,69	3,49	5,29	0,47	32,67	60
5	14,57	2,88	25,06	0,47	52,06	4
6	4,66	4,16	1,72	3,21	7,09	4

Déc-19						
	Moyenne	Médiane	Ecart-type	Minimum	Maximum	Nombre de valeurs
1	5,60	3,50	5,65	0,49	24,75	28
2	5,61	4,15	4,43	0,47	17,87	15
3	4,24	2,50	3,75	0,67	11,04	8
4	6,15	4,14	6,85	0,47	40,74	61
5	2,75	2,76	0,72	2,03	3,47	4
6	4,97	4,60	3,19	1,51	9,18	4

Tableau 24 : Données descriptives de la vitamine C sérique (mg/l) selon les catégories identifiées d'étiologie de l'insuffisance rénale chronique pour les trois campagnes

Nous avons ensuite vérifié l'efficacité de la supplémentation en vitamine C. Certains patients étaient déjà supplémentés en vitamine C avant la première campagne. La plupart des patients supplémenté reçoivent 250 mg de vitamine C en intraveineux après chaque séance de dialyse. Quelques patients reçoivent de la vitamine C selon un schéma différent. Pour l'analyse statistique nous avons comparé les patients recevant une supplémentation avec ceux qui n'en reçoivent pas. Nous n'avons pas trouvé de différence significative. On peut tout de même noter qu'il n'y a qu'en décembre 2019 que la moyenne des concentrations en vitamine C pour les patients supplémentés était au-dessus du seuil de 6,2 mg/l considéré normal (Tableau 25).

	Supplémentation en vitamine C		Pas de supplémentation		p value
	Moyenne ± ET	Nombre de valeur	Moyenne ± ET	Nombre de valeur	
Déc-18	5,48 ± 4,16	69	5,96 ± 10,83	60	0,751
Juin-19	5,3 ± 4,6	54	4,2 ± 8,1	85	0,299
Déc-19	6,70 ± 5,14	42	5,15 ± 6,18	80	0,144

Tableau 25 : Moyennes ± ET des concentrations en vitamine C (mg/l) chez les patients hémodialysés en fonction d'une supplémentation en vitamine C

Nous avons également cherché si les membranes de dialyse et les bains de dialyse pouvaient avoir une influence sur la concentration sérique en vitamine C mais nous n'avons pas montré de différence significative (Annexes 1 et 2).

D. Discussion

Notre étude a montré que les patients hémodialysés chroniques étaient en moyenne carencés en vitamine C sérique. Nous n'avons pas mis en évidence de facteurs de risques de carence que ce soient des facteurs intrinsèques aux patients ou en rapport avec la dialyse. De plus nous avons pu voir que les patients supplémentés en vitamine C n'avaient pas des concentrations plasmatiques en vitamine C supérieures aux patients non supplémentés.

Certains patients présentent également des concentrations très élevées en vitamine C, pour cela il n'est pas possible de proposer un schéma de supplémentation systématique pour tous les patients. Le schéma de supplémentation le plus utilisé actuellement, soit 250 mg IV/séance de dialyse ne semble pas suffisant pour la majorité des patients. Devant la persistance de carences chez certains patients supplémentés, nous avons mesuré en juin 2020 les concentrations érythrocytaire et leucocytaire en vitamine C chez les patients hémodialysés chroniques. Certains patients ont des concentrations sériques et leucocytaires corrélées mais d'autres patients présentent des résultats discordants avec des concentrations sériques basses mais des concentrations leucocytaires élevées alors que d'autres patients présentent des concentrations sériques élevées et des concentrations leucocytaires basses. L'analyse de la concentration leucocytaire en vitamine C est une technique longue et compliquée à mettre en place sur le format de campagne mais pourrait être intéressante pour suivre les patients dont la concentration plasmatique en vitamine C ne remonte pas malgré une supplémentation. Cela permettrait de s'assurer que la concentration leucocytaire, qui est le reflet de la concentration des cellules de l'organisme, est suffisante pour assurer ses fonctions métaboliques.

Nous avons également remarqué que les patients diabétiques avaient des concentrations érythrocytaires en vitamine C inférieures aux autres patients. Cette

différence peut s'expliquer par une moins bonne incorporation du DHA par les transporteurs GLUT.

En ce qui concerne le schéma de supplémentation, il semble compliqué de trouver le bon compromis, d'après notre étude et les études citées plus haut, une supplémentation en vitamine C de 250mg IV/séance de dialyse ne permet pas de corriger la concentration sérique en vitamine C mais une supplémentation de 500 mg IV/séance de dialyse, bien qu'efficace pour obtenir une concentration sérique dans les normes, augmente également fortement la concentration plasmatique d'acide oxalique. Il n'existe pas à ce jour de solution optimale pour la supplémentation en vitamine C, la prise en charge doit être adaptée à chaque patient. Il serait peut-être intéressant pour les patients nécessitant des doses élevées de vitamine C d'effectuer des dosages plus fréquents afin d'arrêter la supplémentation dès la correction de la concentration plasmatique pour éviter l'accumulation de l'acide oxalique sur une période trop longue.

De son côté, le laboratoire pourra améliorer le rendu des résultats en accord avec le service d'hémodialyse afin de rendre des résultats inférieurs à des seuils prédéfinis lorsqu'un résultat exact ne peut pas être rendu.

VI. Conclusion

Pour conclure cette étude, nous pouvons affirmer que la population de patients hémodialysés au CHU de Toulouse ne présente pas de carence en thiamine pyrophosphate et qu'il n'est donc pas nécessaire d'effectuer des dosages en dehors d'un contexte clinique évocateur de carence. En revanche la prise en charge de la surveillance et de la supplémentation en vitamine C reste complexe et devra nécessiter des études complémentaires pour déterminer le meilleur schéma de supplémentation et éventuellement le meilleur intervalle de surveillance. En revanche, nous n'avons pas mis en évidence de facteurs de risques de carence en vitamine C autre que le fait de subir une épuration extra-rénale, il n'y a donc pas de surveillance particulière à mettre en place pour une catégorie de patient. Le suivi doit être personnalisé et adapté à chaque patient.

Nous ne pouvons rien conclure à propos de la vitamine B6 en raison des problèmes techniques rencontrés. L'étude sera à reconduire lorsque la technologie aura été remplacée.

VII. Bibliographie

1. Am H, Hm M, Fa W, S S. Thiamine transport across the rat intestine. I. Normal characteristics [Internet]. Vol. 68, *Gastroenterology*. *Gastroenterology*; 1975 [cité 15 août 2020]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1126598/>
2. Rindi G, Ventura U. Thiamine intestinal transport. *Physiol Rev*. oct 1972;52(4):821-7.
3. Hoyumpa AM, Strickland R, Sheehan JJ, Yarborough G, Nichols S. Dual system of intestinal thiamine transport in humans. *J Lab Clin Med*. mai 1982;99(5):701-8.
4. U L, G G, G R. Thiamine outflow from the enterocyte: a study using basolateral membrane vesicles from rat small intestine [Internet]. Vol. 468, *The Journal of physiology*. *J Physiol*; 1993 [cité 15 août 2020]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8254515/>
5. Re D, Gc I, J T, Wj R. Intestinal absorption of thiamin in man compared with folate and pyridoxal and its subsequent urinary excretion [Internet]. Vol. 30, *Journal of nutritional science and vitaminology*. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*; 1984 [cité 15 août 2020]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6527154/>
6. Casirola D, Patrini C, Ferrari G, Rindi G. Thiamin transport by human erythrocytes and ghosts. *J Membr Biol*. 1 oct 1990;118(1):11-8.
7. Bettendorff L, Peeters M, Jouan C, Wins P, Schoffeniels E. Determination of thiamin and its phosphate esters in cultured neurons and astrocytes using an ion-pair reversed-phase high-performance liquid chromatographic method. *Anal Biochem*. oct 1991;198(1):52-9.
8. Gastaldi G, Cova E, Verri A, Laforenza U, Faelli A, Rindi G. Transport of thiamin in rat renal brush border membrane vesicles. *Kidney Int*. mai 2000;57(5):2043-54.
9. Dancis J, Wilson D, Hoskins IA, Levitz M. Placental transfer of thiamine in the human subject: in vitro perfusion studies and maternal-cord plasma concentrations. *Am J Obstet Gynecol*. déc 1988;159(6):1435-9.
10. Leclerc J. [Thiamine, riboflavin and vitamin B6 contents of organs in the aged rat. I. Effect of vitamin supplementation administered in drinking water]. *Ann Nutr Aliment*. 1977;31(1):19-25.
11. Gubler CJ. Thiamine. In: *Handbook of Vitamins Nutritional, Biochemical and Clinical Aspects*. L.J. Machlin. New York: Marcel Dekker; 1984. p. 245–297.
12. Boyle L, Wamelink MMC, Salomons GS, Roos B, Pop A, Dauber A, et al. Mutations in TKT Are the Cause of a Syndrome Including Short Stature, Developmental Delay, and Congenital Heart Defects. *Am J Hum Genet*. 02 2016;98(6):1235-42.
13. Fraccascia P, Casteels M, De Schryver E, Van Veldhoven PP. Role of thiamine pyrophosphate in oligomerisation, functioning and import of peroxisomal 2-hydroxyacyl-CoA lyase. *Biochim Biophys Acta*. oct 2011;1814(10):1226-33.
14. Casteels M, Sniekers M, Fraccascia P, Mannaerts GP, Van Veldhoven PP. The role of 2-hydroxyacyl-CoA lyase, a thiamin pyrophosphate-dependent enzyme, in the peroxisomal

- metabolism of 3-methyl-branched fatty acids and 2-hydroxy straight-chain fatty acids. *Biochem Soc Trans.* nov 2007;35(Pt 5):876-80.
15. Bettendorff L, Kolb HA, Schoffeniels E. Thiamine triphosphate activates an anion channel of large unit conductance in neuroblastoma cells. *J Membr Biol.* déc 1993;136(3):281-8.
 16. Bettendorff L, Peeters M, Wins P, Schoffeniels E. Metabolism of thiamine triphosphate in rat brain: correlation with chloride permeability. *J Neurochem.* févr 1993;60(2):423-34.
 17. Itokawa Y, Schulz RA, Cooper JR. Thiamine in nerve membranes. *Biochim Biophys Acta BBA - Biomembr.* 14 avr 1972;266(1):293-9.
 18. Talwar D, Davidson H, Cooney J, St JO'Reilly D. Vitamin B(1) status assessed by direct measurement of thiamin pyrophosphate in erythrocytes or whole blood by HPLC: comparison with erythrocyte transketolase activation assay. *Clin Chem.* mai 2000;46(5):704-10.
 19. Lynch PL, Young IS. Determination of thiamine by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A.* 9 juin 2000;881(1-2):267-84.
 20. Astudillo L, Degano B, Madaule S, Sailler L, Galinier A, Couret B, et al. Development of beriberi heart disease 20 years after gastrojejunostomy. *Am J Med.* 1 août 2003;115(2):157-8.
 21. Kosmadakis G, Da Costa Correia E, Carceles O, Somda F, Aguilera D. Vitamins in dialysis: who, when and how much? *Ren Fail.* mai 2014;36(4):638-50.
 22. Descombes E, Hanck AB, Fellay G. Water soluble vitamins in chronic hemodialysis patients and need for supplementation. *Kidney Int.* juin 1993;43(6):1319-28.
 23. Zhang F, Masania J, Anwar A, Xue M, Zehnder D, Kanji H, et al. The uremic toxin oxythiamine causes functional thiamine deficiency in end-stage renal disease by inhibiting transketolase activity. *Kidney Int.* 2016;90(2):396-403.
 24. Descombes E, Boulat O, Perriard F, Fellay G. Water-soluble vitamin levels in patients undergoing high-flux hemodialysis and receiving long-term oral postdialysis vitamin supplementation. *Artif Organs.* oct 2000;24(10):773-8.
 25. Nascimento MM, Suliman ME, Murayama Y, Nihni M, Hayashi SY, Stenvinkel P, et al. Effect of high-dose thiamine and pyridoxine on advanced glycation end products and other oxidative stress markers in hemodialysis patients: a randomized placebo-controlled study. *J Ren Nutr Off J Counc Ren Nutr Natl Kidney Found.* avr 2006;16(2):119-24.
 26. Ubukata M, Amemiya N, Nitta K, Takei T. Serum Thiamine Values in End-Stage Renal Disease Patients under Maintenance Hemodialysis. *Int J Vitam Nutr Res Int Z Vitam-Ernahrungsforschung J Int Vitaminol Nutr.* déc 2015;85(5-6):348-55.
 27. Saka Y, Naruse T, Kato A, Tawada N, Noda Y, Mimura T, et al. Thiamine status in end-stage chronic kidney disease patients: a single-center study. *Int Urol Nephrol.* oct 2018;50(10):1913-8.
 28. Coveney N, Polkinghorne KR, Linehan L, Corradini A, Kerr PG. Water-soluble vitamin levels in extended hours hemodialysis. *Hemodial Int Int Symp Home Hemodial.* janv 2011;15(1):30-8.

29. Marie S. Utilité clinique du dosage de la vitamine B1. 2020;23.
30. Hung SC, Hung SH, Tarng DC, Yang WC, Chen TW, Huang TP. Thiamine deficiency and unexplained encephalopathy in hemodialysis and peritoneal dialysis patients. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* nov 2001;38(5):941-7.
31. Middleton HM. Uptake of Pyridoxine Hydrochloride by the Rat Jejunal Mucosa in vitro. *J Nutr.* 1 janv 1977;107(1):126-31.
32. Mw H, H M, Lm H. Transport and metabolism of pyridoxamine and pyridoxamine phosphate in the small intestine of the rat. *J Nutr.* 1 sept 1979;109(9):1552-9.
33. Middleton HM. Uptake of pyridoxine by in vivo perfused segments of rat small intestine: a possible role for intracellular vitamin metabolism. *J Nutr.* août 1985;115(8):1079-88.
34. Merrill AH, Henderson JM, Wang E, McDonald BW, Millikan WJ. Metabolism of vitamin B-6 by human liver. *J Nutr.* sept 1984;114(9):1664-74.
35. Spinneker A, Sola R, Lemmen V, Castillo MJ, Pietrzik K, González-Gross M. Vitamin B6 status, deficiency and its consequences--an overview. *Nutr Hosp.* févr 2007;22(1):7-24.
36. Fonda ML, Harker CW. Metabolism of pyridoxine and protein binding of the metabolites in human erythrocytes. *Am J Clin Nutr.* 1 juin 1982;35(6):1391-9.
37. Benesch RE, Yung S, Suzuki T, Bauer C, Benesch R. Pyridoxal Compounds as Specific Reagents for the α and β N-Termini of Hemoglobin. *Proc Natl Acad Sci U S A.* sept 1973;70(9):2595-9.
38. S.p C, M.p W. Role of phosphatases in the regulation of vitamin B-6 metabolism in hypophosphatasia and other disorders. *Curr Top Nutr Dis [Internet].* 1988 [cité 14 août 2020]; Disponible sur: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US19920049998>
39. Hadj-Saad F, Lhuissier M, Guiland J-C. Chronic Exercise Affects Vitamin B-6 Metabolism but Not Requirement of Growing Rats. *J Nutr.* 1 juin 1997;127(6):1219-28.
40. Al B, Bm G, Ee S. Increased muscle phosphorylase in rats fed high levels of vitamin B6. *J Nutr.* 1 nov 1977;107(11):1962-8.
41. Lui A, Lumeng L, Aronoff GR, Li TK. Relationship between body store of vitamin B6 and plasma pyridoxal-P clearance: metabolic balance studies in humans. *J Lab Clin Med.* nov 1985;106(5):491-7.
42. Percudani R, Peracchi A. The B6 database: a tool for the description and classification of vitamin B6-dependent enzymatic activities and of the corresponding protein families. *BMC Bioinformatics.* 1 sept 2009;10:273.
43. Robinson K, Mayer EL, Miller DP, Green R, van Lente F, Gupta A, et al. Hyperhomocysteinemia and low pyridoxal phosphate. Common and independent reversible risk factors for coronary artery disease. *Circulation.* 15 nov 1995;92(10):2825-30.

44. Baysal A, Johnson BA, Linkswiler H. Vitamin B6 Depletion in Man: Blood Vitamin B6, Plasma Pyridoxal-phosphate, Serum Cholesterol, Serum Transaminases and Urinary Vitamin B6 and 4-Pyridoxic Acid. *J Nutr.* 1 mai 1966;89(1):19-23.
45. Major LF, Goyer PF. Effects of Disulfiram and Pyridoxine on Serum Cholesterol. *Ann Intern Med.* 1 janv 1978;88(1):53-6.
46. Pike S, Prati RC, Cochran C, Gorman MA, Ashby J, Liepa GU. Lack of effect of vitamin B-6 supplementation on the lipoprotein profile of post-menopausal chronic hemodialysis patients. *J Am Diet Assoc.* juill 1990;90(7):968-72.
47. Lal KJ, Dakshinamurti K, Thliveris J. The effect of vitamin B6 on the systolic blood pressure of rats in various animal models of hypertension. *J Hypertens.* mars 1996;14(3):355-63.
48. Dakshinamurti K, Lal KJ, Ganguly PK. Hypertension, calcium channel and pyridoxine (vitamin B6). *Mol Cell Biochem.* nov 1998;188(1-2):137-48.
49. M A, A S, Mo A, Az K. Effect of oral pyridoxine hydrochloride supplementation on arterial blood pressure in patients with essential hypertension. *Arzneimittelforschung.* 1 déc 1995;45(12):1271-3.
50. Jain SK, Lim G. Pyridoxine and pyridoxamine inhibits superoxide radicals and prevents lipid peroxidation, protein glycosylation, and (Na⁺ + K⁺)-ATPase activity reduction in high glucose-treated human erythrocytes. *Free Radic Biol Med.* 1 févr 2001;30(3):232-7.
51. Onorato J, Jenkins A, Thorpe S, Baynes J. Pyridoxamine, an inhibitor of advanced glycation reactions, inhibits advanced lipoxidation reactions: Mechanism of action of pyridoxamine. *J Biol Chem.* 1 août 2000;275:21177-84.
52. Albersen M, Bosma M, Luykx JJ, Jans JJM, Bakker SC, Strengman E, et al. Vitamin B-6 vitamers in human plasma and cerebrospinal fluid. *Am J Clin Nutr.* août 2014;100(2):587-92.
53. Draï J, Garcia I. Vitamine B6. In: *Les vitamines.* 2007. p. 125-40. (Cahier de formation biologie médicale).
54. Moriwaki K, Kanno Y, Nakamoto H, Okada H, Suzuki H. Vitamin B6 deficiency in elderly patients on chronic peritoneal dialysis. *Adv Perit Dial Conf Perit Dial.* 2000;16:308-12.
55. Mikkelsen K, Stojanovska L, Apostolopoulos V. The Effects of Vitamin B in Depression. *Curr Med Chem.* 2016;23(38):4317-37.
56. Lee D-G, Lee Y, Shin H, Kang K, Park J-M, Kim B-K, et al. Seizures Related to Vitamin B6 Deficiency in Adults. *J Epilepsy Res.* 30 juin 2015;5(1):23-4.
57. van Karnebeek CDM, Tiebout SA, Niermeijer J, Poll-The BT, Ghani A, Coughlin CR, et al. Pyridoxine-Dependent Epilepsy: An Expanding Clinical Spectrum. *Pediatr Neurol.* 2016;59:6-12.
58. Bousquet B, Larregue M, Barthélémy JP, Dreux C, Civatte J. [Pellagroid syndrome with vitamin B6 deficiency. Biological and clinical study of a case]. *Ann Biol Clin (Paris).* 1972;30(6):585-92.

59. Inubushi T, Takasawa T, Tuboi Y, Watanabe N, Aki K, Katunuma N. Changes of glucose metabolism and skin-collagen neogenesis in vitamin B6 deficiency. *BioFactors Oxf Engl*. 2005;23(2):59-67.
60. Ofori-Nkansah N, Weissenfels I, Pribilla W. [Vitamin B 6 deficiency anemia]. *Schweiz Med Wochenschr*. 11 oct 1975;105(41):1319-24.
61. Qian B, Shen S, Zhang J, Jing P. Effects of Vitamin B6 Deficiency on the Composition and Functional Potential of T Cell Populations. *J Immunol Res*. 2017;2017:2197975.
62. Gdynia H-J, Müller T, Sperfeld A-D, Kühnlein P, Otto M, Kassubek J, et al. Severe sensorimotor neuropathy after intake of highest dosages of vitamin B6. *Neuromuscul Disord NMD*. févr 2008;18(2):156-8.
63. Albin RL, Albers JW, Greenberg HS, Townsend JB, Lynn RB, Burke JM, et al. Acute sensory neuropathy-neuronopathy from pyridoxine overdose. *Neurology*. nov 1987;37(11):1729-32.
64. CA_Internet_RS_Nutriments.pdf [Internet]. [cité 31 août 2020]. Disponible sur: https://www.economie.gouv.fr/files/files/directions_services/dgccrf/securite/produits_alimentaires/Complement_alimentaire/CA_Internet_RS_Nutriments.pdf
65. Leblanc M, Pichette V, Geadah D, Ouimet D. Folic acid and pyridoxal-5'-phosphate losses during high-efficiency hemodialysis in patients without hydrosoluble vitamin supplementation. *J Ren Nutr Off J Counc Ren Nutr Natl Kidney Found*. oct 2000;10(4):196-201.
66. Bostom AG, Shemin D, Lapane KL, Hume AL, Yoburn D, Nadeau MR, et al. High dose B-vitamin treatment of hyperhomocysteinemia in dialysis patients. *Kidney Int*. 1 janv 1996;49(1):147-52.
67. Okada H, Moriwaki K, Kanno Y, Sugahara S, Nakamoto H, Yoshizawa M, et al. Vitamin B6 supplementation can improve peripheral polyneuropathy in patients with chronic renal failure on high-flux haemodialysis and human recombinant erythropoietin. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. sept 2000;15(9):1410-3.
68. Toriyama T, Matsuo S, Fukatsu A, Takahashi H, Sato K, Mimuro N, et al. Effects of high-dose vitamin B6 therapy on microcytic and hypochromic anemia in hemodialysis patients. *Nihon Jinzo Gakkai Shi*. août 1993;35(8):975-80.
69. Corken M, Porter J. Is vitamin B6 deficiency an under-recognized risk in patients receiving haemodialysis? A systematic review: 2000–2010. *Nephrology*. 2011;16(7):619-25.
70. Joyce T, Brown FC, Adalat S, Reid CJD, Sinha MD. Vitamin B6 blood concentrations in paediatric dialysis patients. *Pediatr Nephrol Berl Ger*. 2018;33(11):2161-5.
71. Liang W-J, Johnson D, Jarvis SM. Vitamin C transport systems of mammalian cells. *Mol Membr Biol*. janv 2001;18(1):87-95.
72. May JM. The SLC23 family of ascorbate transporters: ensuring that you get and keep your daily dose of vitamin C. *Br J Pharmacol*. déc 2011;164(7):1793-801.

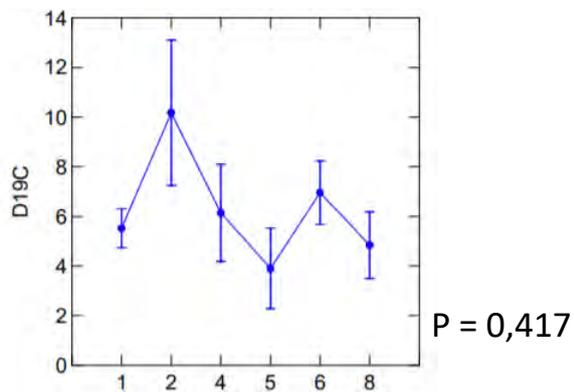
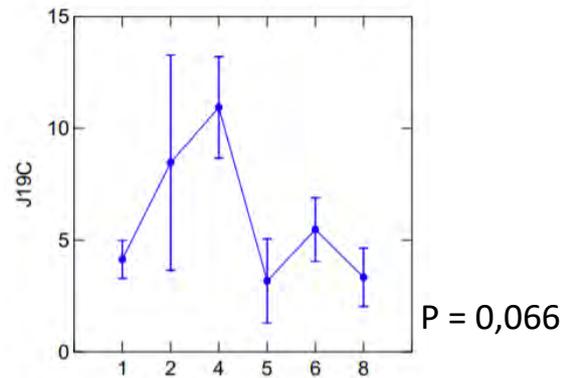
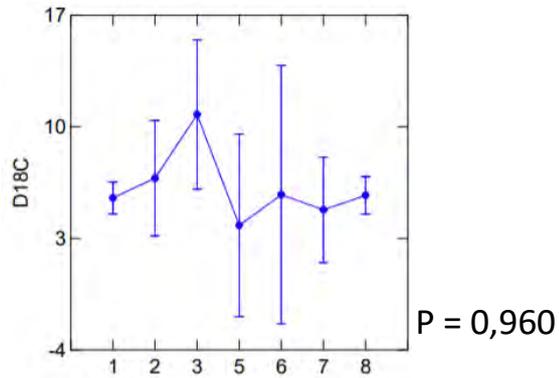
73. Rumsey SC, Kwon O, Xu GW, Burant CF, Simpson I, Levine M. Glucose transporter isoforms GLUT1 and GLUT3 transport dehydroascorbic acid. *J Biol Chem.* 25 juill 1997;272(30):18982-9.
74. Rumsey SC, Daruwala R, Al-Hasani H, Zarnowski MJ, Simpson IA, Levine M. Dehydroascorbic acid transport by GLUT4 in *Xenopus* oocytes and isolated rat adipocytes. *J Biol Chem.* 8 sept 2000;275(36):28246-53.
75. Levine M, Conry-Cantilena C, Wang Y, Welch RW, Washko PW, Dhariwal KR, et al. Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers: evidence for a recommended dietary allowance. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 16 avr 1996;93(8):3704-9.
76. Montel-Hagen A, Kinet S, Manel N, Mongellaz C, Prohaska R, Battini J-L, et al. GLUT1 érythrocytaire: Un mécanisme de compensation chez les mammifères incapables de synthétiser la vitamine C. *médecine/sciences.* avr 2008;24(4):434-6.
77. Vera JC, Rivas CI, Velásquez FV, Zhang RH, Concha II, Golde DW. Resolution of the facilitated transport of dehydroascorbic acid from its intracellular accumulation as ascorbic acid. *J Biol Chem.* 6 oct 1995;270(40):23706-12.
78. Carole G. Haute Autorité de santé. 2018;91.
79. Knight J, Madduma-Liyanage K, Mobley JA, Assimios DG, Holmes RP. Ascorbic Acid Intake and Oxalate Synthesis. *Urolithiasis.* août 2016;44(4):289-97.
80. Vitamine C. In: *Les Vitamines.* 2007. p. 179. (Cahier de formation biologie médicale).
81. Bach A. Biosynthèse de la carnitine chez les mammifères. *Reprod Nutr Dév.* 1982;22(4):583-96.
82. Robinson R, Warburton FG. Tyrosine metabolism in human scurvy. *Nature.* 31 déc 1966;212(5070):1605.
83. Chufán EE, De M, Eipper BA, Mains RE, Amzel LM. Amidation of Bioactive Peptides: The Structure of the Lyase Domain of the Amidating Enzyme. *Structure.* 15 juill 2009;17(7):965-73.
84. Rikans LE. NADPH-dependent reduction of cytochrome P-450 in liver microsomes from vitamin C-deficient guinea pigs: effect of benzphetamine. *J Nutr.* sept 1982;112(9):1796-800.
85. Kanazawa Y, Kitada M, Mori T, Inukai Y, Imaoka S, Funae Y, et al. Ascorbic acid deficiency decreases specific forms of cytochrome P-450 in liver microsomes of guinea pigs. *Mol Pharmacol.* 1 avr 1991;39(4):456-60.
86. Lynch SR, Cook JD. Interaction of vitamin C and iron. *Ann N Y Acad Sci.* 1980;355:32-44.
87. Clemetson CA. Histamine and ascorbic acid in human blood. *J Nutr.* avr 1980;110(4):662-8.
88. C B, G R, A O, Jc F. Effect of vitamin C on histamine bronchial responsiveness of patients with allergic rhinitis. *Ann Allergy.* 1 oct 1990;65(4):311-4.

89. Interaction of dietary vitamin C and vitamin E on guinea pig immune responses to mitogens. - Abstract - Europe PMC [Internet]. [cité 18 sept 2020]. Disponible sur: <https://europepmc.org/article/med/6332184>
90. Niki E, Noguchi N, Tsuchihashi H, Gotoh N. Interaction among vitamin C, vitamin E, and beta-carotene. *Am J Clin Nutr.* 1 déc 1995;62(6):1322S-1326S.
91. Frei B, England L, Ames BN. Ascorbate is an outstanding antioxidant in human blood plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* août 1989;86(16):6377-81.
92. Guillaud J-C, Lequeu B. Mécanisme d'action moléculaire et rôles des vitamines. In: *Encyclopédie des vitamines : Données fondamentales.* Technique Et Documentation. 2009. p. 515-8.
93. Martin A. Apports nutritionnels conseillés pour la population française. 3ème. TEC&DOC; 2001.
94. Le Moel G, Foin O. Carence en vitamine C et scorbut. In: *Les vitamines.* p. 186-7. (Cahier de formation de biologie médicale. BIOFORMA).
95. Le Grusse J, Watier B. *Les vitamines : données biochimiques, nutritionnelles et cliniques.* 1993.
96. Crandon JH, Lund CC, Dill DB. Experimental Human Scurvy. *N Engl J Med.* 5 sept 1940;223(10):353-69.
97. T S, Mv D, Mf M. Oral vitamin C supplementation reduces erythropoietin requirement in hemodialysis patients with functional iron deficiency. *Int Urol Nephrol.* 11 mai 2016;48(9):1519-24.
98. Sato M, Matsumoto Y, Morita H, Takemura H, Shimoi K, Amano I. Effects of vitamin supplementation on microcirculatory disturbance in hemodialysis patients without peripheral arterial disease. *Clin Nephrol.* juill 2003;60(1):28-34.
99. Khajehdehi P. Effect of Vitamins on the Lipid Profile of Patients on Regular Hemodialysis. *Scand J Urol Nephrol.* 1 janv 2000;34(1):62-6.
100. De Vriese AS, Borrey D, Mahieu E, Claeys I, Stevens L, Vanhaeverbeke A, et al. Oral vitamin C administration increases lipid peroxidation in hemodialysis patients. *Nephron Clin Pract.* 2008;108(1):c28-34.
101. Ogawa Y, Machida N, Jahana M, Gakiya M, Chinen Y, Oda M, et al. Major factors modulating the serum oxalic acid level in hemodialysis patients. *Front Biosci J Virtual Libr.* 1 sept 2004;9:2901-8.
102. Liu Y, Weisberg LS, Langman CB, Logan A, Hunter K, Prasad D, et al. Plasma oxalate levels in prevalent hemodialysis patients and potential implications for ascorbic acid supplementation. *Clin Biochem.* oct 2016;49(15):1133-9.

103. Canavese C, Petrarulo M, Massarenti P, Berutti S, Fenoglio R, Pauletto D, et al. Long-term, low-dose, intravenous vitamin C leads to plasma calcium oxalate supersaturation in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* mars 2005;45(3):540-9.

VIII. Annexes

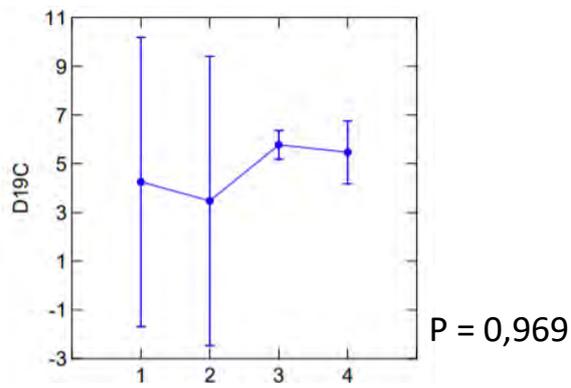
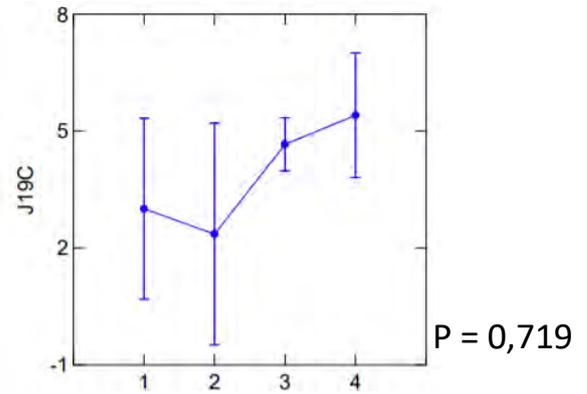
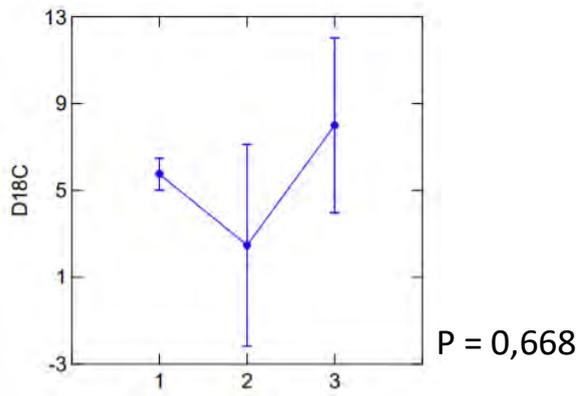
Annexe 1



1	Nipro Elisio 21H
2	Asahi ViE-21A
3	Nipro Sureflux-21UX
4	Solacea 21H
5	Nipro Elisio 25H
6	Hospal Evodial 2.2
7	Nikkiso FDX-210GW
8	Fresenius FX CorDiax 1000

Comparaison des moyennes des concentrations en acides ascorbiques en fonction de la membrane de dialyse utilisée

Annexe 2



1	Softpac
2	Citrasate
3	Lympha
4	AFB Safebag KV

Comparaison des moyennes des concentrations en acides ascorbiques en fonction du bain de dialyse utilisé

Nom : POTRON

Prénom : Alizée

Directeur de Thèse : Dr Anne Galinier

ÉTUDE DU STATUT BIOLOGIQUE EN VITAMINES B1, B6 ET C CHEZ LES PATIENTS HÉMODIALYSÉS CHRONIQUES DU CHU DE TOULOUSE

Toulouse le 12 octobre 2020

Résumé en français

Les vitamines B1, B6 et C ont été mesurées par HPLC-fluorimétrie chez 189 patients hémodialysés chroniques du CHU de Toulouse. Des interférences analytiques biaisent les dosages de vitamine B6. Sans supplémentation seulement 5.7% présente une thiamine pyrophosphate inférieure à 71 nmol/l. Indépendamment d'une supplémentation, un tiers présente un scorbut biologique et près de 2/3 une vitamine C inférieure à 6 mg/l. Les modes de filtration, la durée de dialyse ne sont pas des facteurs d'épargne de la vitamine C. Le statut en vitamine B1 doit être surveillé en cas de tableau clinique évocateur d'une carence, alors que celui de la vitamine C doit l'être chez la majorité des hémodialysés chroniques et la supplémentation adaptée individuellement.

Discipline administrative : Biologie médicale

Mots clés : Vitamine B1 – Vitamine B6 – Vitamine C – Hémodialyse

Université Toulouse III- Faculté de Médecine de Rangueil – 133 route de Narbonne –
31062 Toulouse Cedex 4 – France