

PATHOLOGIE • SCIENCE

**Les agents stimulant
l'érythropoïèse**

**coordonné par
N. Casadevall
C. Gisselbrecht
J. Rossert**

 **John Libbey**
EUROTEXT

Que de chemin parcouru en vingt ans ! C'est le constat que fait quotidiennement le clinicien en voyant les progrès accomplis dans le traitement de l'anémie au cours de ces deux dernières décennies.

En vingt ans, l'érythropoïétine (Epo) a été caractérisée, son gène a été identifié et cloné, puis transféré dans le génome de cellules animales par transfection virale. La voie de production d'Epo recombinante humaine à visée thérapeutique était ouverte et inaugurerait, par là même, l'ère de la production industrielle par génie génétique. L'industrie biotechnologique était née.

Cet ouvrage, coordonné par Nicole Casadevall, Christian Gisselbrecht et Jérôme Rossert, rassemble l'ensemble des connaissances acquises au cours de ces deux dernières décennies en matière d'Epo et de traitement de l'anémie rénale et chimio-induite.

C'est un formidable voyage qui plonge le lecteur dans le monde fascinant de la biologie moléculaire et cellulaire et, finalement, le ramène progressivement dans le monde exaltant de la clinique humaine.

Soulignons que ce défi médical et humain a été le fruit conjugué de la perspicacité de cliniciens et du génie inventif de chercheurs, les premiers ayant soulevé une bonne hypothèse, les seconds ayant pu apporter une réponse thérapeutique ciblée en développant des outils nouveaux.

Dans cet ouvrage, le clinicien trouvera une réponse à ses questions, le chercheur y trouvera les justifications cliniques à ses travaux.



John Libbey
EUROTEXT

www.jle.com

Les agents stimulant l'érythropoïèse

Collection pathologie science
formation

Les informations, les analyses à caractère scientifique apparaissant dans cet ouvrage possèdent une nature informative au sens de la recommandation émise par l'AFSSAPS le 9/1/2001.

Elles n'engagent que la seule responsabilité des auteurs et éventuellement de l'éditeur, les premiers s'étant exprimés de manière totalement indépendante, et en aucun cas celle des sociétés dont les médicaments viendraient à être indiqués directement ou indirectement par les auteurs.

Il est néanmoins porté à l'attention du lecteur que le contenu de l'ouvrage ne saurait être substitué par ses soins aux informations disponibles dans les publications scientifiques et les dictionnaires et que, par conséquent, le contenu de l'ouvrage ne doit être considéré que comme un complément reflétant l'état actuel de la science dans le domaine thérapeutique des maladies concernées.

ISBN : 978-2-7420-0673-1

Éditions John Libbey Eurotext

127, avenue de la République

92120 Montrouge, France

Tél. : 01 46 73 06 60

e-mail : contact@jle.com

<http://www.jle.com>

John Libbey Eurotext Limited

42-46 High Street

Esher

KT10 9QY

United Kingdom

© John Libbey Eurotext, Paris, 2008

Il est interdit de reproduire intégralement ou partiellement le présent ouvrage sans autorisation de l'éditeur ou du Centre Français d'Exploitation du Droit de Copie (CFC), 20, rue des Grands-Augustins, 75006 Paris.

Les agents stimulant l'érythropoïèse

Coordonné par :
Nicole Casadevall,
Christian Gisselbrecht,
Jérôme Rossert



Les auteurs

Carole Beaumont. Inserm U773, Centre de recherche biomédicale Bichet Beaujon, Université Paris Diderot, site Bichat, Paris.

Zakia Belaid. Université de Liège, Belgique.

Lorenn Bellamy. Université Paris-Descartes, Hôpital Cochin, Paris.

Bernard Canaud. Hôpital Lapeyronie, Montpellier.

Andrew T. Chow. Amgen USA (États-Unis).

Yann-Erick Claessens. Hôpital Cochin – Saint Vincent de Paul – La Roche Guyon, Paris.

Alain Cariou. Hôpital Cochin – Saint Vincent de Paul – La Roche Guyon, Paris.

Nicole Casadevall. Hôpital Saint-Antoine, Paris.

Séverine Coulon. Hôpital Necker, Paris.

Geneviève Courtois. Hôpital Necker, Paris.

Sameer Doshi. Amgen USA (États-Unis).

Mickaël Dussiot. Hôpital Necker, Paris.

Steve Elliot. Amgen USA (États-Unis).

Évelyne Fischer. Institut Pasteur, Paris.

Daniel Gale. Imperial College London, Londres (Grande-Bretagne)

Christian Gisselbrecht. Service d'onco-hématologie, Hôpital Saint-Louis, Paris.

Michel Guinot. Hôpital Sud, CHU Grenoble, Échirolles.

Olivier Hermine. Hôpital Necker, Paris.

Graham R. Jang. Amgen USA (États-Unis).

Wolfgang Jelkmann. Institut de physiologie, Faculté de Médecine, Luebeck (Allemagne).

Joëlle Kersual. Hôpital Necker, Paris.

Thierry Leblanc. Hôpital Saint-Louis, Paris.

Patrick Maxwell. Imperial College London, Londres (Grande-Bretagne).

Patrick Mayeux. Hôpital Cochin, Paris.

Yves Ozier. Université Paris-Descartes, Hôpital Cochin, Paris.

Jean-Louis Prugnaud, Hôpital Saint-Antoine, Paris.

Jean-Antoine Ribeil. Hôpital Necker, Paris.

Nadia Rosencher. Université Paris-Descartes, Hôpital Cochin, Paris.

Jérôme Rossert. Amgen, Thousand Oaks, CA (États-Unis).

Juan José Pérez-Ruixo. Amgen USA, (États-Unis).

Julie Vandekerckhove. Hôpital Necker, Paris.

Yaël Zermati. Institut Cochin, Paris.

Sommaire



Préface

B. Canaud VII

La régulation de l'érythropoïèse

J. Vandekerckhove, G. Courtois, M. Dussiot, J. Kersual, S. Coulon, Z. Belaid, Y. Zermati, J.A. Ribeil et O. Hermine 1

Le récepteur de l'érythropoïétine : expression, structure et mécanisme d'action

P. Mayeux 15

Pharmacocinétique des agents stimulant l'érythropoïèse

S. Doshi, J.J. Perez-Ruixo, G.R. Jang, A.T. Chow, S. Elliot 29

Adaptation à l'hypoxie

P. Maxwell, D. Gale 45

Le métabolisme du fer

C. Beaumont 59



Les effets extra-hématopoïétiques de l'érythropoïétine	
<i>Y.E. Claessens, A. Cariou</i>	77
Érythropoïétine et développement embryonnaire	
<i>É. Fischer</i>	88
Les différents agents stimulant l'érythropoïèse	
<i>W. Jelkmann</i>	100
Utilisation des agents stimulant l'érythropoïèse en néphrologie	
<i>J. Rossert</i>	107
Utilisation des agents stimulant l'érythropoïèse en onco-hématologie	
<i>C. Gisselbrecht</i>	118
Utilisation de l'érythropoïétine en chirurgie	
<i>N. Rosencher, L. Bellamy, Y. Ozier</i>	134
Utilisation des agents stimulant l'érythropoïèse en néonatalogie	
<i>T. Leblanc</i>	143
Érythroblastopénies induites par les agents stimulant l'érythropoïèse	
<i>N. Casadevall</i>	153
Les biosimilaires	
<i>J.L. Prugnaud</i>	161
Stimulation de l'érythropoïèse et dopage	
<i>M. Guinot</i>	176

Merci à Christophe Marsac pour la traduction.

P réface



Les agents stimulant l'érythropoïèse : vingt ans déjà

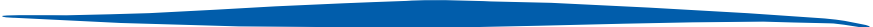
Que de chemin parcouru en si peu de temps ! C'est le constat que fait quotidiennement le clinicien en voyant les progrès accomplis dans le traitement de l'anémie au cours de ces deux dernières décennies. Deux dates suffiront à marquer les esprits de cette formidable aventure médicale et humaine. Il y a un peu plus d'un siècle que Carnot et Deflandre suggéraient l'existence d'un facteur humoral, intitulé « hémopoïétine », capable de stimuler la production de globules rouges chez des animaux rendus anémiques [1]. En tout juste un peu plus de 20 ans, l'érythropoïétine (Epo) a été caractérisée par l'équipe de Goldwasser [2], son gène a été identifié et cloné par FK. Lin *et al.* [3] puis transféré dans le génome de cellules animales par transfection virale. La voie de production d'Epo recombinante humaine à visée thérapeutique était ouverte. Elle

démontrait la possibilité de synthétiser des peptides à action thérapeutique ciblée. Elle ouvrait, par là même, l'ère de la production industrielle par génie génétique. L'industrie biotechnologique était née.

Au plan de la biologie moléculaire et cellulaire, que nous ont appris ces vingt dernières années en matière d'Epo ?

La production à l'échelle industrielle d'Epo recombinante humaine (r-HuEPO) permit très rapidement la mise en place d'essais cliniques. Les deux premières études cliniques, rapportées en 1986 [4] et 1987 [5] chez des patients hémodialysés, confirmèrent de façon magistrale l'efficacité et la sécurité d'emploi de l'Epo. L'impact de ces études fut déterminant sur la communauté néphrologique. Il ouvrit une ère nouvelle dans la prise en charge de la maladie rénale, celle de la substitution hormonale. L'anémie rénale pouvait enfin être traitée de façon efficace par un traitement hormonal spécifique. Cette expérience néphrologique extrêmement positive a permis naturellement d'étendre ses indications à d'autres causes d'anémie chronique. C'est dans le domaine de l'oncologie et de l'hématologie que l'Epo a le plus contribué aux progrès thérapeutiques et principalement dans l'anémie chimio-induite. Hors de tout essai contrôlé, les vertus « dopantes » de l'Epo ont fait l'objet d'un usage détourné dans le monde sportif de compétition. C'est en partie de ce fait que les techniques de dépistage et de dosage d'Epo ont été aussi rapidement mises à disposition des laboratoires de contrôle.

Les progrès ne s'arrêtent naturellement pas là. La bioingénierie moléculaire a permis également de modifier la « molécule base » de r-HuEPO afin d'en changer les propriétés pharmacologiques et pharmacocinétiques. Le « refaçonnage » biologique de la molécule de r-HuEPO (glycosylation, pégylation, etc.) confère à cette protéine des propriétés nouvelles. Ces molécules bénéficient ainsi d'une demi-vie plus longue et, bien que leur affinité pour les récepteurs soit plus faible, leur durée d'action est très significativement prolongée. Ces propriétés pharmacocinétiques facilitent l'utilisation clinique de ces molécules : les injections peuvent être espacées ; la voie d'administration (intraveineuse ou sous-cutanée) conserve la même efficacité. Il est également intéressant de noter que d'autres formes de « refaçonnage » biologique de la molécule base de r-HuEPO (carbamylation, acylation) sont en mesure cette fois d'accroître son pouvoir stimulant de croissance et de protection cellulaire par un effet anti-



apoptique et d'en faire disparaître l'activité érythropoïétique. Des travaux sont en cours pour évaluer l'intérêt et le potentiel thérapeutique de telles molécules en clinique.

La caractérisation des mécanismes d'action cellulaire de l'Epo, au niveau du couplage à ses récepteurs membranaires et au niveau de ses voies de signalisation cellulaire, permet également d'envisager de nouvelles avancées thérapeutiques. Parmi celles-ci, on peut déjà citer le développement de molécules nouvelles à action érythropoïétique et la compréhension de pathologies touchant la lignée érythrocytaire. De même, la meilleure compréhension des mécanismes de régulation de production et de sécrétion d'Epo permet d'envisager à terme une modulation de sa production endogène. C'est la raison pour laquelle les experts du groupe européen des recommandations de bonne pratique (*European Best Practice Guidelines*) ont proposé d'utiliser la dénomination générique d'agents stimulant l'érythropoïèse (ASE) pour l'ensemble de ces molécules à activité érythropoïétique [6].

Au plan clinique, que nous ont appris ces vingt dernières années de traitement de l'anémie rénale par ASE ?

La correction de l'anémie est désormais possible chez tous les patients atteints de maladie rénale, quel que soit le degré d'atteinte rénale et quelle que soit la modalité thérapeutique. Elle représente à ce titre un objectif thérapeutique qui rentre dans le cadre des critères majeurs d'efficacité du traitement. L'anémie n'est pas une manifestation banale de la maladie rénale chronique qui altère seulement la qualité de vie des patients rénaux, c'est un facteur de comorbidité majeur qui affecte profondément leur morbi-mortalité cardiovasculaire.

La correction de l'anémie chez les patients rénaux fait l'objet, à l'heure actuelle, d'un suivi et d'un ajustement particulièrement minutieux des doses d'ASE. Le niveau optimal de correction de l'anémie chez les insuffisants rénaux demeure l'objet de controverses. Cela dit, si la valeur supérieure de l'hémoglobininémie est sujette à débat (12 à 13 g/dL), sa valeur cible (11 g/dL) est en revanche consensuelle. La variabilité inter-individuelle de l'hémoglobininémie est devenue un sujet de préoccupation nouveau dans la mesure où elle semble affecter la morbi-mortalité des patients dialysés. L'identification des facteurs affectant cette variabilité fait l'objet de nombreux travaux. Dans le même ordre d'idée s'inscrit, la résistance relative à l'action de l'Epo qui peut être évaluée de façon

simple par le rapport « dose hebdomadaire d'Epo » sur « taux d'hémoglobine ». Un indice élevé de résistance est volontiers associé à une gravité particulière du patient dialysé. Si la preuve était établie que ce critère est associé à un risque accru de mortalité, nous aurions là un nouveau marqueur de risque. De façon indirecte, la correction de l'anémie par Epo a fait redécouvrir la gestion du fer et a relancé l'intérêt du métabolisme martial chez ces patients. Les besoins martiaux étaient manifestement sous-estimés chez les patients insuffisants rénaux avant l'ère de l'Epo.

Si la correction de l'anémie rénale par l'Epo est une réalité clinique banalisée au quotidien, il est utile de rappeler qu'il s'agit néanmoins d'une molécule de structure protéique particulièrement fragile. La description récente d'érythroblastopénies sévères induites par le développement d'anticorps anti-érythropoïétine chez des patients dialysés est là pour nous rappeler qu'une altération minime de sa structure moléculaire peut la rendre immunogène [7]. Cela doit être pris en considération dans les procédés industriels de fabrication et dans les règles d'utilisation clinique.

Ce livre, coordonné par N. Casadevall, C. Gisselbrecht et J. Rossert, rassemble l'ensemble des connaissances acquises au cours de ces deux dernières décennies en matière d'Epo et de traitement de l'anémie rénale.

C'est un formidable voyage qui plonge le lecteur dans le monde fascinant de la biologie moléculaire et cellulaire et finalement le ramène progressivement dans le monde exaltant de la clinique humaine. Soulignons que ce défi médical et humain a été le fruit conjugué de la perspicacité de cliniciens et du génie inventif de chercheurs, les premiers ayant soulevé une bonne hypothèse, les seconds ayant pu apporter une réponse thérapeutique ciblée en développant des outils nouveaux. C'est également l'illustration concrète du bien-fondé de la recherche médicale de « transfert », encore appelée « translationnelle », établissant le lien entre « lit et paillasse » et vice-versa. La néphrologie est fière d'avoir été le moteur de ce formidable défi. En dernier lieu, il nous faut remercier tout particulièrement les coordonnateurs et les auteurs de cet ouvrage, qui ont actualisé nos connaissances sur l'Epo et l'anémie rénale. Le clinicien y trouvera une réponse à ses questions, le chercheur y trouvera les justifications cliniques à ses travaux.

Bernard Canaud
Professeur de Néphrologie,
chef de service de Néphrologie, Dialyse et
Soins intensifs, Hôpital Lapeyronie, Montpellier
Président de la Société francophone de dialyse



RÉFÉRENCES

1. Carnot P, Deflandre C. Sur l'activité hémopoïétique du sérum au cours de la régénération du sang. *CR Acad Sci* 1906 ; 143 : 432-5.
2. Miyake T, Kung CK, Goldwasser E. Purification of human erythropoietin. *J Biol Chem* 1977 ; 252 : 5558-64.
3. Lin FK, Suggs S, Lin CH, et al. Cloning and expression of the human erythropoietin gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985 ; 82 (22) : 7580-4.
4. Winearls CG, Oliver DO, Pippard MJ, Reid C, Downing MR, Cotes PM. Effect of human erythropoietin derived from recombinant DNA on the anaemia of patients maintained by chronic haemodialysis. *Lancet* 1986 ; 2 (8517) : 1175-8.
5. Eschbach JW, Egrie JC, Downing MR, Browne JK, Adamson JW. Correction of the anemia of end-stage renal disease with recombinant human erythropoietin. Results of a combined phase I and II clinical trial. *N Engl J Med* 1987 ; 316 (2) : 73-8.
6. Locatelli F, Aljama P, Bárányi P, et al. European Best Practice Guidelines Working Group. Revised European best practice guidelines for the management of anaemia in patients with chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2004 ; 19 (suppl. 2) : ii1-47.
7. I. Casadevall N, Nataf J, Viron B, et al. Pure red-cell aplasia and antierythropoietin antibodies in patients treated with recombinant erythropoietin. *N Engl J Med* 2002 ; 346 (7) : 469-75.

L a régulation de l'érythropoïèse

**J. Vandekerckhove, G. Courtois, M. Dussiot,
J. Kersual, S. Coulon, Z. Belaid, Y. Zermati,
J.A. Ribeil et O. Hermine**



L'érythropoïèse est le processus permettant la production de globules rouges matures à partir de cellules souches hématopoïétiques. Ce procédé cellulaire est caractérisé par des étapes d'engagement d'une cellule souche multipotente vers un progéniteur érythroïde qui, en se différenciant va diminuer ses capacités de prolifération. Ce programme de différenciation est en grande partie sous le contrôle de facteurs de transcription et en particulier de GATA-1. GATA-1 se fixe sur les promoteurs et active la transcription des gènes érythroïdes comme la glycophorine, les chaînes de l'hémoglobine et le récepteur à l'érythropoïétine (EpoR). De plus, au niveau de l'érythropoïèse, GATA-1 transactive le gène anti-apoptotique Bcl-xL (*Figure 1*). L'érythropoïèse est finement régulée par l'effet combiné du micro-environnement et des facteurs de croissance qui permettent la survie, la prolifération et/ou la différenciation des progéniteurs érythroïdes.

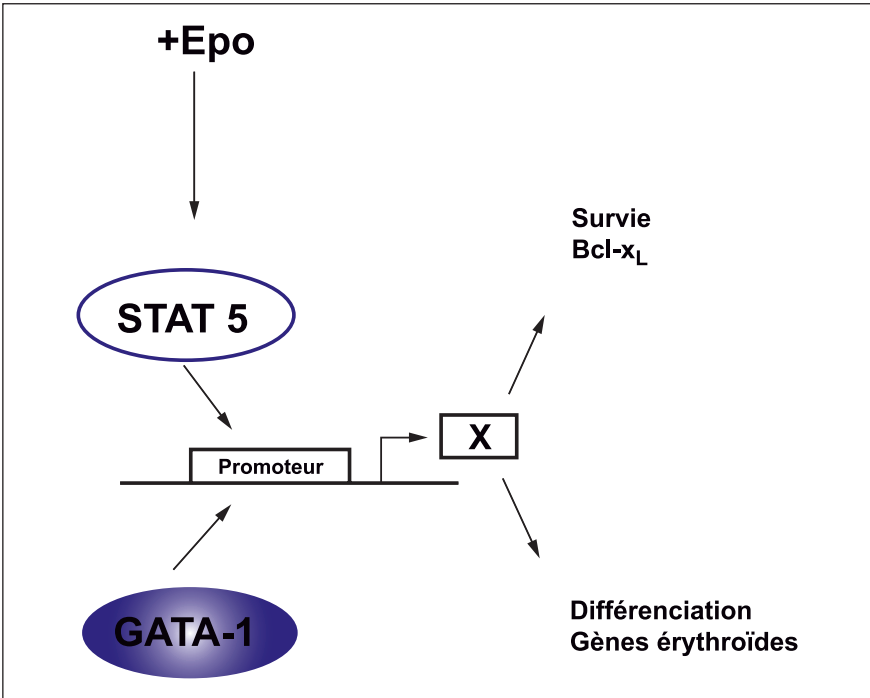


Figure 1. Rôle de GATA-1 dans la survie et la différenciation érythroïde.

En présence d'Epo, le facteur de transcription GATA-1 en synergie avec STAT5a induit l'expression du gène de survie Bcl-xL. De plus, GATA-1 permet le programme de maturation en se fixant sur les promoteurs des gènes de différenciation érythroïdes tels que le récepteur à Epo, la glycophorine A et l'hémoglobine.

La production des érythrocytes représente le plus haut rendement du système hématopoïétique, avec un taux de production estimé à 2×10^{11} érythrocytes par jour. Les progéniteurs érythroïdes ont la capacité de former en culture de méthylcellulose des colonies d'érythroblastes matures *in vitro*, appelées *burst forming unit-erythroid* (BFU-E) et *colony forming unit-erythroid* (CFU-E). Les progéniteurs capables de donner des BFU-Es sont les cellules hématopoïétiques les plus immatures déjà engagées dans la lignée érythroïde. Elles sont dépendantes du *stem cell factor* (SCF) et d'autres facteurs de croissance hématopoïétiques pour leur prolifération et leur différenciation, alors que les cellules qui donnent naissance aux CFU-Es sont hautement dépendantes de l'érythropoïétine (Epo). Les progéniteurs BFU-Es donnent naissance aux progéniteurs CFU-Es. Ces derniers vont se différencier en cellules morphologiquement identifiables de

la lignée érythroblastique, les proérythroblastes, qui se différencient successivement en érythroblastes basophiles, polychromatophiles et acidophiles. L'énucléation de l'érythroblaste acidophile donne naissance au réticulocyte qui mûrit finalement en globule rouge. Ces cellules expriment des antigènes de différenciation (Figure 2).

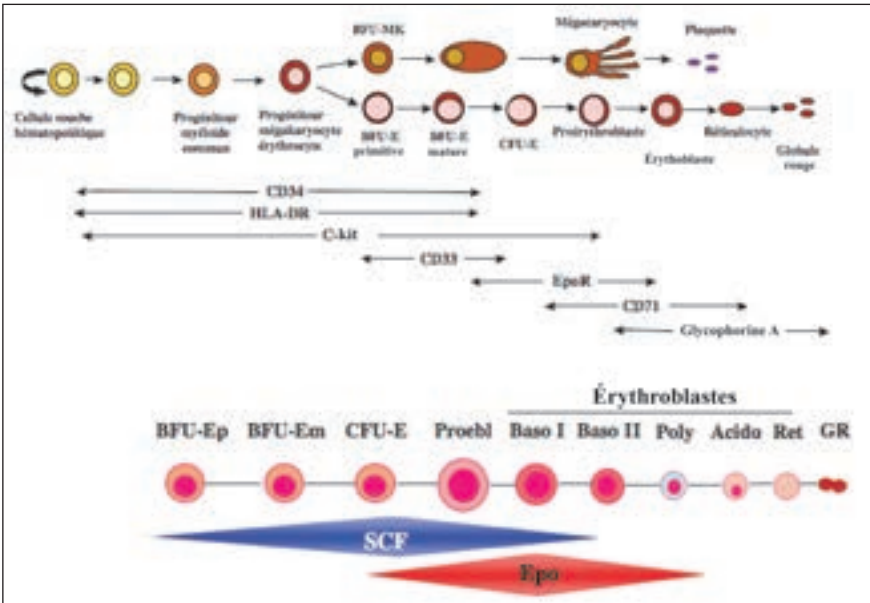


Figure 2. L'érythropoïèse et les processus permettant la différenciation des cellules souches hématopoïétiques en globules rouges matures. La dépendance en érythropoïétine débute au stade BFU-E et s'arrête au stade proérythroblaste. L'expression des marqueurs de surface utilisés pour caractériser les différents pré-curseurs érythroïdes est indiquée.

RÉGULATION DE L'ÉRYTHROPOÏÈSE

Le procédé de production de globules rouges matures est orchestré par un réseau complexe de facteurs de transcription. Parmi eux, GATA-1 joue un rôle critique, en régulant les gènes impliqués dans la différenciation, mais aussi du cycle et de la survie cellulaire. Ce programme de différenciation doit être régulé de façon positive et négative afin d'assurer une production continue mais contrôlée de globules rouges pour répondre aux besoins en oxygène des tissus périphériques.

Régulation positive de l'érythropoïèse

Régulation positive de l'érythropoïèse au niveau cellulaire

L'Epo n'est pas nécessaire au stade précoce de l'érythropoïèse, incluant le stade BFU-E et l'administration *in vivo* d'Epo a peu d'influence sur le nombre de BFU-Es. En revanche, l'administration d'Epo augmente fortement le nombre de CFU-Es et de précurseurs érythroïdes jusqu'au stade d'érythroblastes basophiles, principalement en évitant leur apoptose et, à un moindre degré, en augmentant leur prolifération. Les progéniteurs et précurseurs érythroïdes présentent des sensibilités différentes à l'Epo qui correspondent à la gamme de concentration d'Epo sérique à l'état normal et anémique. À de faibles concentrations d'Epo, seuls les progéniteurs et précurseurs hypersensibles vont survivre. C'est pourquoi, la régulation de l'apoptose des progéniteurs et précurseurs pendant le stade de dépendance à l'Epo explique le contrôle rapide mais finement régulé de la population d'érythrocytes en réponse à l'hypoxie, l'hyperoxie et l'anémie, sans effet de l'Epo sur la prolifération et la différenciation. Dans ce modèle, la concentration en Epo module le taux d'apoptose des progéniteurs et précurseurs érythroïdes (Figure 3).

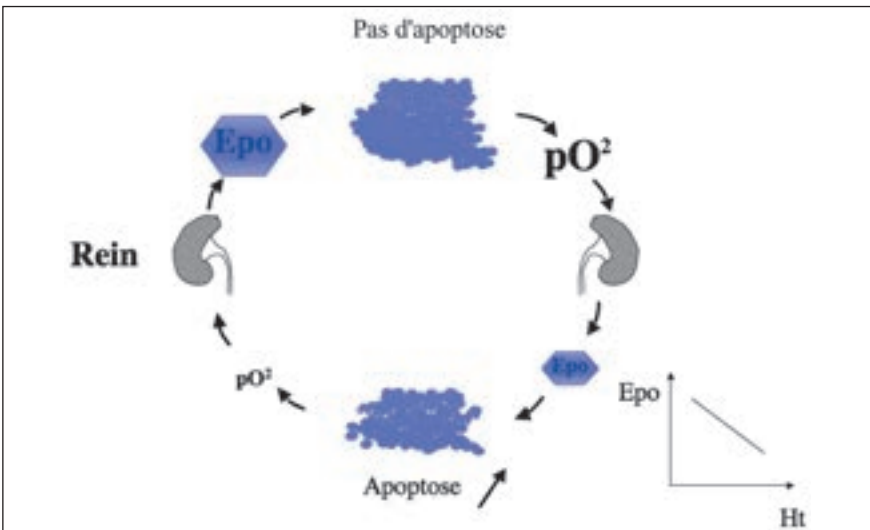


Figure 3. Régulation endocrine de l'érythropoïèse.

Les progéniteurs érythroïdes roses sont moins sensibles à Epo que les rouges et meurent par apoptose à de faibles concentrations d'Epo. À droite, la relation entre le niveau d'Epo et l'hématocrite (Hct).

Régulation positive de l'érythropoïèse au niveau moléculaire

Le *stem cell factor*

Le SCF est fabriqué par les cellules stromales de la moelle osseuse. Il existe sous une forme soluble et une forme transmembranaire qui semble prédominer pour la régulation de l'érythropoïèse puisque les souris n'exprimant que la forme soluble sont anémiques. Le SCF agit sur son récepteur c-kit, qui est un récepteur à activité tyrosine kinase, et va induire des signaux de survie et de prolifération pour les progéniteurs érythroïdes. En ralentissant la différenciation, il permet une expansion des progéniteurs les plus immatures ayant les potentiels prolifératifs les plus importants. Il agit en synergie avec d'autres facteurs pour la prolifération, notamment avec le GM-CSF (*granocyte monocyte colony stimulating factor*) et l'interleukine 3. Il pourrait également augmenter la sensibilité des CFU-E à l'Epo. L'activation de la PI3-kinase par c-kit est sans doute une des voies principales responsables de la prolifération et la survie, par l'intermédiaire de la phosphorylation de la protéine AKT (voir plus loin). Actuellement, il n'y a aucun argument démontrant l'existence d'une régulation de la production de SCF en fonction de l'hypoxie tissulaire ou, à l'inverse, en fonction de l'hyperproduction de globules rouges. Son expression semble constitutive.

L'érythropoïétine

L'Epo est donc le régulateur majeur de la production de globules rouges et délivre les signaux essentiels de croissance, survie et différenciation aux progéniteurs et précurseurs érythroïdes.

L'Epo exerce son effet en stimulant le récepteur à l'Epo (EpoR). L'EpoR appartient à la famille de récepteur de cytokine de type I, caractérisée par un domaine transmembranaire unique et un domaine cytoplasmique sans domaine kinase. L'EpoR existe à l'état dimérique lorsqu'il n'est pas lié à son ligand. Lors de la fixation de l'Epo, le récepteur subit un changement conformationnel qui permet la transphosphorylation et l'activation de la tyrosine kinase cytoplasmique, Janus kinase 2 (JAK2). JAK2 est absolument nécessaire pour l'activation de l'EpoR et des souris invalidées pour JAK2 ont un phénotype presque identique aux souris invalidées pour l'EpoR, avec une létalité embryonnaire. JAK2 activée induit la phosphorylation de huit résidus tyrosine dans le domaine cytoplasmique de l'EpoR, devenant ainsi des sites de fixation pour les molécules de signalisation contenant des domaines SH2 tels que STAT5a/b, SHP1, SHP2, SHIP, p85a, Grb2, Lyn et les régulateurs négatifs de la signalisation (SOCS). D'autres

molécules de signalisation liant le récepteur à l'Epo ont été identifiées, dont les tyrosines kinases Syk, Tec, PLC-g, les protéines adaptateurs Shc, Cbl, Crkl, IRS-2 et Gab 1/2 et les facteurs d'échange nucléiques Sos et Vav. Les rôles respectifs physiologiques de cascades de signalisation initiées par la phosphorylation du EpoR dans la régulation de l'érythropoïèse normale et de « stress » restent à élucider. Cependant, la plupart des travaux montrent que certaines voies semblent avoir un rôle majeur, parmi lesquelles les voies de *signal transducer and activator of transcription 5* (STAT5), *Ras mitogen activated protein kinase* (MAPK) et *phosphoinositol 3 kinase* (PI-3K)/Akt, ainsi que l'entrée du calcium (Figure 4).

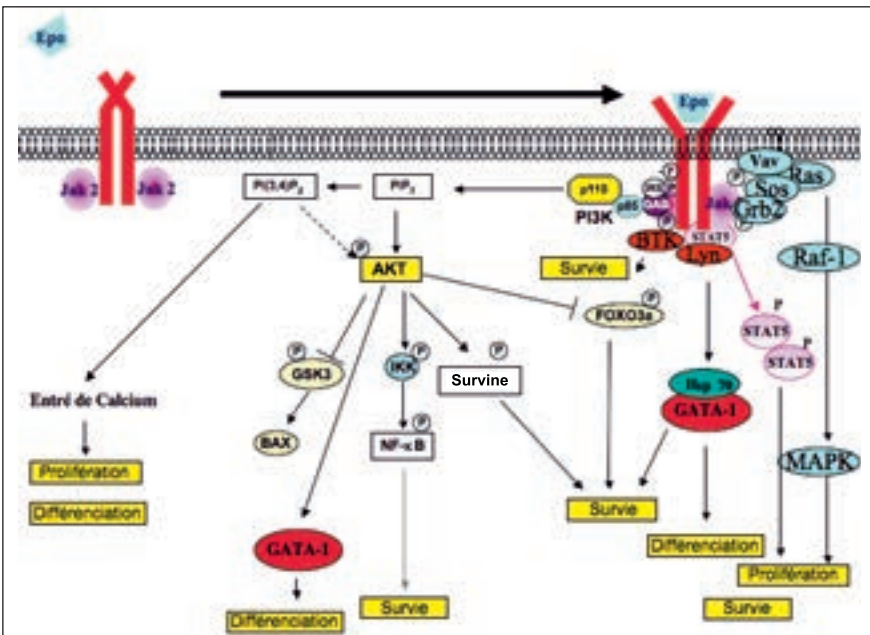


Figure 4. Le rôle d'EpoR dans la survie, la prolifération et la différenciation cellulaires.

- La voie JAK2/STAT5 et Bcl-xL

La stimulation du récepteur par l'Epo induit la phosphorylation de JAK2 qui est temps et dose dépendante. JAK2 joue un rôle majeur au cours de l'érythropoïèse en induisant la phosphorylation de huit résidus tyrosines du EpoR. JAK2, comme tous les autres membres de la famille des kinases JAK, a sept domaines uniques, appelés les domaines JAK-homology (JH). Un domaine tyrosine kinase catalytiquement actif (JH1), et un domaine pseudo-