

CAHIER DE

Formation

Biologie médicale

N°39

2007

Les dosages biologiques dans l'ostéoporose

Place de l'exploration du métabolisme phospho-calcique
et des marqueurs du remodelage osseux



BIOFORMA

FORMATION CONTINUE DES BIOLOGISTES



Chère Consœur, Cher Confrère,

Le risque de récurrence fracturaire, en particulier chez les femmes ménoposées qui ont connu un premier épisode souvent accidentel, peut être d'origines diverses.

La biologie, en complément de l'ostéodensitométrie qui reste l'examen primaire, permet les investigations métaboliques qui rendent compte de l'état de la qualité osseuse.

Le choix du traitement par le clinicien en est objectivé.

Compte tenu des dépenses de santé que ces récurrences impliquent, il est souhaitable que des protocoles parfaitement définis puissent être pratiqués non seulement en centres spécialisés mais aussi à proximité du clinicien et de son patient.

Le présent Cahier de Formation de Biologie Médicale, rédigé par une équipe de qualité indiscutable répond à cette préoccupation.

Bioforma vous permet ainsi d'assurer votre formation continue conventionnelle et vous souhaite bonne réception de ce document.

Nous vous prions d'agréer nos cordiales et confraternelles salutations

*Adrien BEDOSSA
Président*

230, boulevard Raspail
75014 Paris

Tél. 01.56.54.39.39
Fax : 01.56.54.39.30

site internet : www.bioforma.net
E-mail : bioforma@wanadoo.fr

Association régie par la loi de 1901
siret : 391 155 744 00025
code APE : 8040

Liste des auteurs

- **Patrick Garnero**
Chercheur Unité Inserm
Directeur Synarc SAS
16 rue de Montbrillant - Le Buoparc T4 69003 Lyon
tél + 33 (0)4 72 68 65 05
patrick.garnero@synarc.com

- **Jean-Claude Souberbielle**
Praticien hospitalier
Service d'exploration fonctionnelle
Hôpital Necker - Enfants Malades 143 rue de Sèvres 75015 Paris
tél + 33 (0)1 44 38 17 43
jean-claude.souberbielle@nck.aphp.fr

Les tests et cas cliniques concernant le métabolisme phospho-calcique sont le fruit d'une collaboration étroite entre le Docteur Jean-Claude Souberbielle et le Docteur Catherine Cormier (Hopital Cochin, Paris)

Les dosages biologiques dans l'ostéoporose

**Place de l'exploration
du métabolisme phospho-calcique et
des marqueurs du remodelage osseux**

SOMMAIRE

Introduction	8
--------------------	---

CHAPITRE I - Les ostéoporoses 9

Définition de l'ostéoporose	10
--	----

Méthodes d'évaluation de la masse osseuse	11
--	----

Absorptiométrie biphotonique aux rayons X (DEXA)	11
--	----

Définition densitométrique de l'ostéoporose	12
---	----

Autres méthodes d'évaluation de la masse osseuse	13
--	----

Le gain ou la perte de DMO est déterminée par le remodelage osseux	14
---	----

Les traitements de l'ostéoporose	15
---	----

Les inhibiteurs de la résorption osseuse	16
--	----

Les stimulateurs de la formation osseuse	18
--	----

Les facteurs de risque d'ostéoporose	19
---	----

CHAPITRE II - Régulation du remodelage osseux 21

Le rôle central du système OPG/RANKL/RANK	23
--	----

17 beta estradiol, PTH, 1,25OH2D3, corticoïdes, hormones thyroïdiennes	26
---	----

CHAPITRE III - Recherche d'une cause d'ostéoporose secondaire 29

SOMMAIRE

CHAPITRE IV - Exploration du métabolisme phospho-calcique	35
La régulation de la calcémie et de la phosphatémie	36
Aspects analytiques des dosages les plus courants	40
Calcémie	40
Calciurie	41
Phosphatémie / phosphaturie	41
Dosages de PTH	42
Dosages de vitamine D	43
<i>Dosages de 25OHD</i>	45
<i>Dosages de 1,25dihydroxy vitamine D</i>	45
<i>Le problème des valeurs de référence de 25OHD et de PTH</i>	46
Interprétation des explorations phospho-calciques	49
Hypercalcémies	49
<i>Hyperparathyroïdie primitive</i>	50
<i>Hypercalcémie-hypocalciurie familiale</i>	51
<i>Hypercalcémies "non parathyroïdiennes"</i>	51
Hypocalcémies	52
<i>Hypoparathyroïdies</i>	52
<i>Hyperparathyroïdies secondaires</i>	53
<i>Cas particulier d'une PTH haute avec calcémie, calciurie et phosphatémie normales</i>	54
Hypophosphatémies	55
Hypercalciuries	56
Cas cliniques	58

CHAPITRE V - Les marqueurs du remodelage osseux

73

Les différents marqueurs du remodelage osseux	75
Les marqueurs de la formation osseuse	75
<i>La phosphatase alcaline totale et son isoenzyme osseuse</i>	75
<i>L'ostéocalcine sérique</i>	77
<i>Les propeptides du collagène de type 1</i>	78
Les marqueurs de la résorption osseuse	79
<i>Le calcium urinaire</i>	79
<i>L'hydroxyprolinurie</i>	79
<i>Les molécules de pontage du collagène et leurs télopeptides</i>	80
<i>Formes isomères du C-télopeptide du collagène de type 1</i>	82
<i>La phosphatase acide tartrate résistante</i>	85
Conseils pour une bonne utilisation des marqueurs en pratique quotidienne	86
Prélèvement, conservation et dosage des échantillons	88
Éléments à prendre en compte dans l'interprétation des résultats	89
Valeurs de référence	89
Utilisation clinique des marqueurs osseux dans l'ostéoporose post-ménopausique	90
Aide à la décision thérapeutique	90
Suivi des traitements	94
<i>Effets des traitements sur les marqueurs biologiques du remodelage osseux</i>	94
<i>Prédiction de l'efficacité thérapeutique par les marqueurs osseux</i>	97
<i>Amélioration de l'observance aux traitements</i>	100
Aspects pratiques pour l'utilisation clinique des marqueurs osseux dans l'ostéoporose post-ménopausique	101
Autres applications potentielles des marqueurs osseux	107
Pour en savoir plus	115

Introduction

L'ostéoporose est un problème de santé publique majeur, en constante augmentation (en relation avec le vieillissement de la population), et pour lequel un certain nombre d'examen biologiques sont maintenant considérés comme nécessaires, bien qu'encore relativement peu prescrits. On compte en France environ 150 000 fractures vertébrales et plus de 70 000 fractures de la hanche par an. On estime à plus d'un milliard d'euros la somme consacrée au traitement des fractures ostéoporotiques en 1990. Ce chiffre a probablement augmenté depuis.

Si la biologie ne participe pas au diagnostic d'ostéoporose, basé rappelons-le sur la mesure de la densité minérale osseuse (DMO), elle peut, en revanche, aider le clinicien pour :

- rechercher et/ou éliminer une cause d'ostéoporose secondaire,
- l'aider dans sa décision thérapeutique dans certaines situations,
- évaluer l'efficacité (mais aussi l'observance) d'un traitement.

Dans ce cahier Bioforma, nous donnerons tout d'abord quelques informations générales sur l'ostéoporose. Suivra un chapitre sur la régulation du remodelage osseux, puis un chapitre sur la régulation et l'exploration du métabolisme phospho-calcique avec un certain nombre de cas cliniques. Nous terminerons par les données actuelles sur les marqueurs du remodelage osseux

Les ostéoporoses

CHAPITRE I

Définition de l'ostéoporose

L'ostéoporose est une affection généralisée du squelette caractérisée par une masse osseuse basse et une altération de la micro-architecture du tissu osseux responsable d'une augmentation de la fragilité de l'os et, par conséquent, du risque de fracture. Il existe donc un déficit de quantité mais aussi de qualité du tissu osseux.

Cette définition sous-entend donc que l'on peut avoir une ostéoporose sans avoir subi de fracture. On présente dans ce cas cependant un risque accru de fracture.

Les fractures ostéoporotiques peuvent toucher tous les os du squelette (on exclut toutefois les os du crâne et du visage, les vertèbres cervicales, les doigts de la main et les orteils). Elles entraînent une sur-mortalité, démontrée pour les fractures vertébrales et les fractures de la hanche (environ 25% de sur-mortalité pour les fractures de la hanche), qui survient surtout, mais pas seulement, dans l'année qui suit la fracture.

Méthodes d'évaluation de la densité minérale osseuse

Absorptiométrie biphotonique aux rayons X (DEXA)

Le principe de la technique est basé sur l'atténuation d'un faisceau de photons par le tissu osseux. On utilise deux faisceaux de photons d'énergies différentes et dont on connaît les coefficients d'extinction massique. La machine convertit ensuite cette quantité de photons absorbés en densité minérale osseuse (exprimée en grammes d'hydroxyapatite par cm^2 d'os. Il s'agit donc d'une densité surfacique) en la comparant à ce qui est absorbé par une série de "faux os", appelés "fantôme", et contenant des quantités connues et croissantes d'hydroxyapatite (ce fantôme est l'équivalent de la gamme d'étalonnage utilisée quotidiennement par les biologistes dans les immunodosages).

Il s'agit d'une technique très peu irradiante (environ 30 fois moins qu'un scanner). La mesure est en général effectuée au niveau de la colonne vertébrale lombaire (vertèbres L2-L4) et au niveau de l'extrémité supérieure du fémur. Ces deux sites osseux diffèrent par leur composition, surtout trabéculaire au rachis et plus corticale à la hanche (bien que l'os trabéculaire y soit également présent). On peut aussi faire des mesures à l'avant-bras où le site appelé "1/3 proximal" correspond essentiellement à de l'os cortical et le site dit "ultra-distal" est beaucoup plus riche en os trabéculaire. Même si une image est obtenue lors de l'examen densitométrique, celle-ci ne sert que pour vérifier la qualité de la fenêtre d'acquisition ou pour identifier des artéfacts pouvant avoir un impact sur le résultat (arthrose par exemple). L'interprétation est basée sur le chiffre rendu par la machine que l'on va interpréter par rapport à des valeurs de référence (comme un examen biologique). Cette valeur, exprimée en gramme d'hydroxyapatite par cm^2 d'os comme nous l'avons mentionné plus haut, a une distribution gaussienne dans la population en bonne santé. On l'exprime également en nombre d'écart-types, soit par rapport à la moyenne de la population de référence de la même tranche d'âge, on parle alors de Z-score, soit par rapport à la population de référence des femmes jeunes non ménopausées, on parle alors de T-score. C'est ce T-score qui est utilisé dans la définition densitométrique de l'ostéoporose. Comme pour les analyses de biologie médicale, il y a obligation pour les utilisateurs de DEXA à participer à un contrôle de qualité externe.

Définition densitométrique de l'ostéoporose

En se référant aux données épidémiologiques disponibles, l'OMS a proposé de classer les densités minérales osseuses exprimées en T-score en 4 catégories :

- **Niveau 1** : DMO normale lorsque le T-score est > -1
- **Niveau 2** : ostéopénie lorsque le T-score se situe entre -1 et $-2,5$ (soit donc entre 1 et 2,5 écart-types en-dessous de la moyenne des adultes jeunes)
- **Niveau 3** : ostéoporose lorsque le T-score est $< -2,5$ (soit plus de 2,5 écart-types en-dessous de la moyenne des adultes jeunes)
- **Niveau 4** : ostéoporose sévère ou compliquée lorsqu'une DMO basse est associée à une ou plusieurs fractures survenue(s) après un traumatisme mineur.

Ces valeurs seuils sont des valeurs diagnostiques et ne correspondent pas à des seuils de décision thérapeutique.

L'ostéodensitométrie vient d'être inscrit sur la liste des examens remboursés par la sécurité sociale (JO n°150 du 30 juin 2006, page 9806, texte n°39) pour un tarif de 39,96 Euros. Il n'est pas recommandé de la pratiquer en dépistage sur la population générale mais plutôt de la réserver aux indications suivantes :

- Antécédent de fracture(s) provoquée(s) par un traumatisme minime ;
- Ménopause précoce (avant 40 ans)
- Aménorrhée secondaire prolongée
- Antécédent d'ostéoporose ou de fracture chez un parent du premier degré
- Hypogonadisme primaire
- Hyperthyroïdie évolutive ou traitement freinateur par les hormones thyroïdiennes
- Hyperparathyroïdie primitive
- Hypercorticisme endogène ou corticothérapie prolongée (supérieure à 3 mois à une dose $> 7,5$ mg d'équivalent prednisone).
- Indice de masse corporelle (IMC = Poids en kg/ taille en mètres élevée au carré) < 19 kg/m²
- Déformation vertébrale, cyphose, ostéopénie sur une radiographie (radio "claire")
- Diminution de taille ($> 3-4$ cm)
- Association d'un âge > 60 ans et d'un poids < 60 kg.

Autres méthodes d'évaluation de la densité minérale osseuse

- **Techniques ultra-sonores.** Plusieurs appareils mesurant l'atténuation et la vitesse de propagation des ultra-sons à travers le tissu osseux (mesures principalement effectuées au calcanéum ou aux phalanges) sont maintenant commercialisés. Les mesures sont simples avec ces appareils transportables et il n'y a pas d'irradiation. Certains résultats obtenus avec ces machines sont intéressants, mais il n'existe pas à l'heure actuelle de définition de l'ostéoporose basée sur ces mesures ultra-sonores. Les experts reprochent à ces techniques une mauvaise reproductibilité, rendant difficile leur utilisation en pratique clinique.
- **Tomodensitométrie quantitative (QCT).** Il s'agit de l'utilisation d'un scanner équipé d'une unité d'étalonnage. Cette technique permet d'obtenir une véritable densité (masse/unité de volume). Cependant, la précision (reproductibilité des mesures) est moins bonne que celle de la DEXA et les courbes de référence ne sont pas validées. L'irradiation est par ailleurs bien supérieure à celle reçue lors d'une DEXA. Cette technique n'est pas conseillée aujourd'hui pour la pratique clinique.

Le gain ou la perte de DMO est déterminée par le remodelage osseux

Au cours de la vie, la DMO augmente pendant l'enfance avec une accélération du gain pendant la puberté, est stable chez l'adulte jusqu'à 40-50 ans, puis diminue ensuite avec, chez la femme, une phase de perte osseuse rapide en période post-ménopausique. Pour comprendre cette évolution, il faut se rappeler que l'os est un tissu en perpétuel renouvellement grâce à un processus appelé remodelage osseux (voir plus loin le chapitre sur la régulation du remodelage osseux) au cours duquel les ostéoclastes détruisent l'os ancien (c'est la phase de résorption osseuse) et les ostéoblastes remplacent l'os détruit par un tissu "neuf" (phase de formation osseuse). Ce renouvellement permet à l'os de conserver des propriétés mécaniques lui permettant de résister aux contraintes mécaniques journalières. Pendant l'enfance, l'activité ostéoblastique est supérieure à l'activité ostéoclastique, expliquant le gain osseux et ceci jusqu'à la période dite du "pic de masse osseuse" (fin de la deuxième décennie, début de la troisième décennie) où la masse osseuse est à son maximum. La DMO atteinte au moment du pic de masse osseuse est variable d'un sujet à un autre et dépend surtout de facteurs génétiques, mais aussi du sexe (Hommes > femmes), de l'ethnie (noirs > caucasiens > asiatiques), de la nutrition, des contraintes mécaniques (surtout sur les os périphériques), de certaines hormones, et de l'exposition à des facteurs délétères (maladies, tabac, alcool...). Si les facteurs génétiques expliquent de manière prépondérante la variabilité inter-individuelle du pic de masse osseuse, certains facteurs environnementaux (apports calciques et protéiques, statut vitaminique D, activité physique, abstention d'alcool et tabac...) peuvent avoir une influence significative bien que modeste, et ainsi permettre une optimisation de ce pic de masse osseuse. Les experts admettent qu'un gain d'une déviation standard de DMO pour ce pic de masse osseuse pourrait permettre de réduire de moitié le risque de fracture pour le reste de la vie. Après l'acquisition de ce pic de masse osseuse, la DMO est stable pendant 20 à 30 ans, période pendant laquelle la quantité d'os détruit pendant la résorption ostéoclastique est égale à celle formée par les ostéoblastes. Ensuite, la résorption osseuse devient plus importante que la formation, et il existe un micro déficit osseux à la fin de chaque cycle de remodelage (les ostéoblastes ne sont pas capables de combler intégralement la cavité creusée par les ostéoclastes) expliquant la perte

osseuse observée. Cette perte osseuse est variable d'un sujet à un autre et, en particulier, d'une femme à une autre en période post-ménopausique. Cet excès de résorption peut induire également des altérations micro-architecturales (perforations des travées osseuses) qui vont également contribuer à la fragilisation de l'os. Le remodelage osseux est régulé par de nombreux facteurs, dont des facteurs hormonaux transportés par le sang. Il est donc plus fréquent dans l'os trabéculaire, plus vascularisé, que dans l'os cortical. La perte osseuse post-ménopausique est statistiquement plus rapide au niveau des vertèbres (os trabéculaire) qu'au niveau des os périphériques. De même, la chronologie des fractures est influencée par cette prépondérance du remodelage au niveau de l'os trabéculaire : statistiquement, les fractures du poignet sont les plus précoces (elles devraient toujours être un signe d'appel incitant à rechercher une ostéoporose et donc à prescrire une mesure de la DMO), et sont suivies par les fractures vertébrales (improprement appelées en France "tassements vertébraux", ce qui prête à confusion pour les patients), et, plus tard par les fractures de l'extrémité du fémur (ESF) ou de la hanche. Toutes les fractures peuvent toutefois se produire à n'importe quel âge.

Les traitements de l'ostéoporose

On a vu ci-dessus qu'un excès de résorption osseuse (par rapport à la formation osseuse) expliquait la perte osseuse ainsi que les altérations de l'architecture osseuse. La cible des traitements de l'ostéoporose est par conséquent soit d'inhiber la résorption osseuse, soit de stimuler la formation osseuse, afin de rétablir une balance osseuse positive. Jusqu'à une période récente, les traitements étaient tous des inhibiteurs de la résorption. Le premier traitement stimulant la formation qui a obtenu l'AMM (il y a moins de deux ans) est l'hormone parathyroïdienne (PTH). Pour être considérée comme un traitement de l'ostéoporose, une molécule doit avoir apporté la preuve, dans des études d'interventions randomisées en double aveugle contre placebo (RDACP), qu'elle pouvait réduire significativement le risque de fractures. Il faut noter que les différents traitements ne suppriment pas le risque fractures, mais le diminuent de moitié environ. Ils ne sont pas prescrits "à vie" mais pour une période de 1,5 an (pour la PTH) à 5-7 ans. A la fin d'une séquence thérapeutique avec un médicament donné, il faut réévaluer le risque personnel de fracture chez la patiente avant d'envisager un traitement éventuel par une autre molécule. Il faut souligner enfin le fait que les traitements décrits ci-dessous ont été validés chez des femmes ostéoporotiques, souvent âgées, et qu'ils n'ont jamais démontré qu'ils pouvaient réduire le risque de fractures chez la femme ostéopénique ménopausée récemment.

Les connaissances sur la physiologie du remodelage osseux se sont améliorées (voir le chapitre qui lui est consacré), et de nouvelles cibles thérapeutiques sont apparues. Des nouveaux médicaments, comme un anticorps anti-RANKL, ou des inhibiteurs de la cathepsine K sont actuellement en cours d'évaluation.

Les inhibiteurs de la résorption osseuse

- **Calcium et vitamine D** : plusieurs études ont démontré que des suppléments en calcium et vitamine D pouvaient réduire significativement le risque de fractures périphériques chez les sujets âgés. Le mécanisme passe probablement à la fois par un contrôle de l'hyperparathyroïdie secondaire fréquente chez ces patients et par une réduction du risque de chute. Par contre, aucune démonstration n'existe pour la prévention des fractures en post-ménopause avec le calcium et la vitamine D. Des informations complémentaires seront développées dans le chapitre sur le métabolisme phospho-calcique.

- **Le traitement hormonal de la ménopause (THM)** : la perte osseuse post-ménopausique est due au déficit en estrogènes et le THM évite cette perte. On a maintenant la démonstration que ce traitement peut également réduire le risque de fractures vertébrales et périphériques. Toutefois, en raison d'un rapport bénéfice/risque jugé défavorable (diminution du risque relatif de fractures et de cancer du colon, mais augmentation du risque relatif de cancer du sein et d'évènements cardio-vasculaires), il n'est plus conseillé en prévention primaire de l'ostéoporose. Il garde toutefois tout son intérêt pour lutter contre les symptômes climatiques de la ménopause. Les experts conseillent de privilégier dans ce cas l'utilisation d'estradiol et de progestérone naturelles administrées par voie transcutanée.
- **Les modulateurs sélectifs du récepteur des estrogènes (SERM)** : ces produits agissent sur certains tissus (os, système vasculaire) comme les estrogènes, alors que sur d'autres tissus (mammaire), ils ont un effet anti-estrogène. Le seul représentant de cette classe de produits ayant démontré une réduction du risque de fractures (uniquement vertébrales) chez la femme ménopausée ostéoporotique est le Raloxifène (Evista®, ou Optruma®). Le Raloxifène (comme les THM) est contre-indiqué en cas d'antécédent de phlébite.
- **Les bisphosphonates** : il s'agit d'analogues du pyrophosphate qui se fixent sur la matrice osseuse et empêchent l'action des ostéoclastes. Il existe de nombreux bisphosphonates prescrits dans l'ostéoporose mais aussi dans la maladie de Paget et (par voie IV dans ce cas) dans les hypercalcémies et les métastases osseuses. Dans l'ostéoporose, ils sont administrés par voie orale. Il s'agit de l'étidronate (Didronel®), administré en "cures" de deux semaines en alternance avec deux mois et demi de calcium et vitamine D (ce médicament déjà ancien est maintenant cependant considéré comme "dépassé"), de l'alendronate (Fosamax®) administré à la dose journalière de 10 mg, ou, surtout, en une dose hebdomadaire de 70 mg, le risédronate (Actonel®), administré comme le Fosamax en doses journalières (5 mg/J) ou, surtout, en une dose hebdomadaire (35 mg) et bientôt (l'obtention de l'AMM est en cours), l'ibandronate (Bonviva®), qui devrait être administré en une dose mensuelle. Il est conseillé, avant de prescrire ces médicaments d'évaluer le statut en calcium et vitamine D et, si besoin, de le corriger (cela est vrai pour tous les médicaments de l'ostéoporose, mais particulièrement pour les bisphosphonates). Une préparation combinant la dose hebdomadaire d'alendronate (70 mg) et 2800 U de vitamine D est commercialisée sous le nom de Fosavance®. Les bisphosphonates sont des médicaments efficaces qui ont démontré, chez la femme ménopausée ostéoporotique, une réduction du risque de fractures vertébrales et périphériques (sauf l'étidronate qui n'a démontré qu'une

diminution du risque de fractures vertébrales), et dont l'effet persiste à l'arrêt du traitement puisqu'ils restent dans la matrice osseuse pendant un certain temps (on parle d'effet rémanent) contrairement aux autres traitements de l'ostéoporose dont l'effet rapidement disparaît à l'arrêt du traitement. Ils sont par contre mal absorbés au niveau intestinal (environ 0,5 % de la quantité ingérée "passe" dans le sang) et il faut respecter certaines contraintes pour optimiser cette absorption (prise le matin à jeun avec un grand verre d'eau faiblement minéralisée sans se recoucher ni absorber le moindre aliment dans la demi-heure qui suit la prise pour le Fosamax, par exemple - voir dans le chapitre sur les marqueurs du remodelage osseux, le paragraphe sur l'évaluation de l'observance des médicaments). Les bisphosphonates sont contre-indiqués en cas d'oesophagite. Ils ne présentent par contre pas de contre-indication vasculaire (phlébite).

Les stimulateurs de la formation osseuse

- **L'hormone parathyroïdienne 1-34 ou Tériparatide (Forsteo®)** : ce médicament, administré en une injection SC par jour induit une augmentation importante de la DMO et a démontré une épargne fracturaire surtout vertébrale mais aussi périphérique. Alors que vous lirez plus loin que si on a une hyperparathyroïdie (c'est-à-dire si l'on sécrète un excès de PTH) on peut avoir une ostéoporose, il peut paraître paradoxal que l'on administre de la PTH pour réduire le risque de fractures. Il faut comprendre que lorsqu'on a une hyperparathyroïdie (primitive ou secondaire), la PTH est élevée (parfois seulement très modérément d'ailleurs) continuellement, ce qui a un effet catabolique sur l'os (surtout sur l'os cortical), alors que lorsqu'on injecte de la PTH (dont la demi-vie est très courte), son interaction ponctuelle avec son récepteur (présent sur l'ostéoblaste et pas sur l'ostéoclaste) a un effet franchement anabolique sur l'os. Le Forstéo®, est pour l'instant réservé à des ostéoporoses sévères, avec au moins deux fractures vertébrales prévalentes, et est administré quotidiennement pendant une période de 18 mois.
- **Le Ranélate de Strontium (Protelos®)** : ce médicament est celui qui a obtenu l'AMM le plus récemment. Il se fixe sur l'os et, par des mécanismes encore un peu obscurs, à la fois stimule la formation osseuse et réduit modérément la résorption osseuse. Il a démontré une réduction du risque de fractures vertébrales et périphériques chez des femmes âgées ostéoporotiques. Il ne semble pas présenter d'effets secondaires particuliers. Tout comme le THM et le Raloxifène, il est contre-indiqué en cas d'antécédent de phlébite.

Les facteurs de risque d'ostéoporose

On a vu plus haut que l'ostéoporose est définie par une DMO < -2,5 T-score, et que ce seuil diagnostique n'est pas un seuil thérapeutique. Il faut, avant de décider de traiter ou non par un des médicaments cités plus haut, évaluer le risque personnel de fracture de la patiente pour une période à venir de 10 ans environ. Différents facteurs de risque d'ostéoporose autres que la DMO (et certains indépendants de la DMO) ont été identifiés par de nombreuses études épidémiologique. N'oublions pas d'une part que les traitements anti-ostéoporose ne réduisent le risque relatif de fracture que de moitié environ, et d'autre part, qu'ils sont prescrits pour une durée limitée (bien que déjà longue). On sait par exemple que pour une même valeur de DMO, le risque de fractures augmente très significativement avec l'âge ce qui s'explique par une altération progressive de l'architecture osseuse avec l'âge (qui ne peut pas être identifiée par la mesure de la DMO), et une aggravation du risque de chute avec l'âge (si on chute moins, on fait moins de fractures périphériques !). On a évalué par exemple que le risque de fracture de hanche pour les 10 ans à venir chez une femme de 50 ans qui a une DMO à -3 T-score et pas d'autres facteurs de risque est d'environ 3 % (environ 3 femmes de 50 ans sur 100 parmi celles qui ont une DMO à -3 T-score feront une fracture de hanche entre 50 et 60 ans). Si on la traite par un des médicaments décrits (dont l'efficacité anti-fracturaire, rappelons-le, n'a pas été évaluée dans cette tranche d'âge), on peut espérer réduire le risque de fracture de la hanche de moitié, c'est-à-dire le faire passer à 1,5 % environ. Considérons maintenant une femme de 80 ans qui a la même valeur de DMO à -3 T-score et pas d'autre facteur de risque. Son risque personnel de fracture de hanche pour les 10 ans est de 18-20 % selon les études épidémiologiques et il devrait diminuer sous traitement (ces traitements sont parfaitement validés dans cette tranche d'âge) à moins de 10 %. On comprend que la "rentabilité" d'un traitement (entendons par là la probabilité d'éviter une fracture) sera plus importante chez cette femme de 80 ans que chez celle de 50 ans, et que chez cette dernière, il sera important pour la décision de traiter ou de ne pas traiter d'identifier des facteurs de risque qui augmenteront son risque personnel de fracture. L'OMS a établi un score de risque (non encore publié en février 2007), basé sur les différents facteurs de risque de fracture, qui pourra aider le clinicien dans sa décision thérapeutique. Voici ci-dessous un certain nombre de facteurs de risque facilement identifiables :

- DMO basse (chaque diminution d'un écart-type double approximativement le risque).
- Antécédent personnel de fracture.
- Antécédent familial (au premier degré) de fracture ostéoporotique.
- Faible poids corporel.
- Elévation du remodelage osseux (voir plus loin le chapitre sur les marqueurs du remodelage).
- Abus de tabac et/ou d'alcool.
- Antécédent de traitement par corticoïdes à forte dose.

Régulation du remodelage osseux

CHAPITRE II

Comme nous l'avons déjà brièvement évoqué auparavant, le tissu osseux est en continuel renouvellement grâce à l'activité coordonnée des ostéoclastes et des ostéoblastes. Dans des conditions physiologiques normales et en l'absence de perte ou de gain osseux (par exemple chez la femme adulte non ménopausée), l'activité de ces deux types de cellules est parfaitement équilibrée. En revanche dans l'ostéoporose post-ménopausique, il existe un déséquilibre entre la quantité d'os dégradé par les ostéoclastes et la quantité d'os nouvellement formé par les ostéoblastes ce qui va se traduire par une perte de tissu osseux, mais aussi par des altérations qualitatives de la microarchitecture et de la matrice osseuse. Une connaissance des principaux facteurs régulant l'activité des ostéoclastes et des ostéoblastes est donc utile pour comprendre les mécanismes physiopathologiques de l'ostéoporose, identifier des cibles thérapeutiques potentielles et en comprendre leur mécanisme d'action.

L'activation ostéoclastique constitue la première étape du remodelage osseux. Le niveau de remodelage osseux est en effet essentiellement dépendant de la fréquence de recrutement de précurseurs ostéoclastiques mononucléés qui par fusion vont devenir des ostéoclastes matures polynucléés. La phase de résorption osseuse dure environ 10 jours et se traduit au niveau de l'os trabéculaire par la formation d'une cavité. Cette période est ensuite suivie par le comblement de cette lacune de résorption osseuse par des ostéoblastes qui vont synthétiser l'os nouveau. Cette période dure environ 3 mois.

Plusieurs facteurs systémiques (hormones) et locaux (cytokines) interviennent dans la régulation du remodelage osseux et notamment de l'activité ostéoclastique.

Le rôle central du système OPG/RANK-L/RANK

La mise en évidence du système de régulation RANK/RANK-L/OPG constitue l'une des avancées majeures de la biologie osseuse au cours des cinq dernières années. Ce système représente en effet le principal mécanisme de régulation de l'activité de résorption ostéoclastique et intervient aussi dans le mode d'action de nombreux facteurs hormonaux systémiques. Aussi nous le décrivons brièvement en premier lieu (figure 1).

RANK-L [ligand du récepteur activateur de NF- κ B (RANK)] est une protéine transmembranaire qui appartient à la superfamille du récepteur du "Tumor Necrosis Factor" (TNF), dont la partie extracellulaire peut être libérée sous forme soluble. Le RANK-L est fortement exprimé par les ostéoblastes, les ostéoclastes, les cellules endothéliales, les cellules stromales ainsi que les lymphocytes T activés. L'expression de RANK-L est augmentée par des facteurs connus pour favoriser l'activité ostéoclastique comme la 1,25 dihydroxyvitamine D3 et la prostaglandine E2 (PGE2). Le récepteur de RANK-L est RANK qui est aussi une protéine transmembranaire. Ce récepteur de la superfamille du récepteur du TNF est exprimé à la surface des précurseurs ostéoclastiques mononucléés, des ostéoclastes matures polynucléés, mais aussi des chondrocytes, des cellules dendritiques et des cellules T matures. La fixation de RANK sur RANK-L va entraîner la différenciation des précurseurs ostéoclastiques en ostéoclastes matures ainsi que stimuler l'activité de ces derniers. Le troisième partenaire de ce système est l'ostéoprotégérine (OPG) qui est aussi une protéine appartenant à la superfamille des récepteurs du TNF. Cette protéine fonctionne comme un récepteur "piège" pour le RANK-L. En se fixant de manière spécifique au RANK-L elle empêche la fixation de ce dernier au récepteur RANK et ainsi inhibe à la fois la différenciation et l'activité des ostéoclastes. L'OPG est produite par plusieurs types de cellules comme les ostéoblastes, les cellules dendritiques et les lymphocytes. L'OPG est exprimée par différents tissus comme le poumon, le rein, les intestins, la rate, le thymus et le cœur. L'expression d'OPG par les ostéoblastes est diminuée par la 1,25 OH2 D3 et le PGE2.

L'importance du système RANKL/RANK/OPG a notamment été mise en évidence chez des souris pour lesquelles les gènes du RANK-L ou de l'OPG ont été réprimés ou

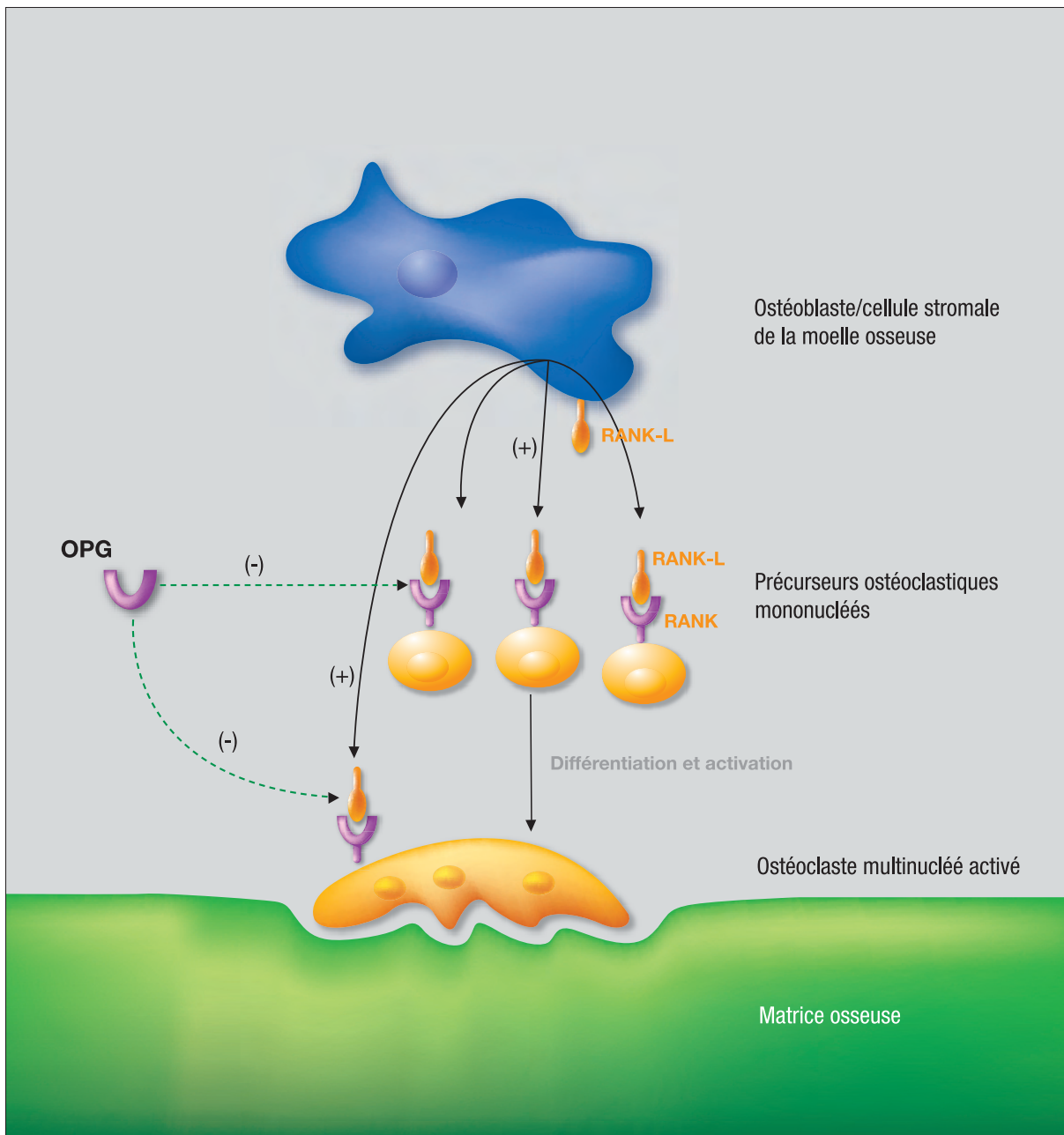


Figure 1 : Régulation de l'activité ostéoclastique par le système RANK/RANK-L/OPG

Le RANK-L est sécrété par les cellules stromales de la moelle osseuse et les ostéoblastes. Son récepteur RANK est exprimé à la surface des précurseurs ostéoclastiques mononucléés et des ostéoclastes matures polynucléés. La fixation de RANK-L sur RANK stimule à la fois la différenciation des précurseurs ostéoclastiques en ostéoclastes matures mais aussi l'activité de ces dernières. La différenciation et l'activité des ostéoclastes sont modulées par l'OPG, qui, en se fixant de façon spécifique au RANK-L, empêche son association avec RANK.

activés. Ainsi, les souris "knock-out" pour le gène du RANK-L sont caractérisées par une masse osseuse très importante de type ostéopétrose, alors que celle traitées par du RANK-L présentent une perte osseuse accélérée et une hypercalcémie. Inversement, les souris sur-exprimant le gène de l'OPG présentent un phénotype ostéopétrotique (masse osseuse très élevée), alors que les animaux "knock out" sont caractérisés par une ostéoporose sévère et des fractures.

En résumé, l'activité ostéoclastique et la résorption osseuse sont intimement dépendantes des équilibres entre RANK et RANK-L et entre RANK-L et OPG. Ainsi l'inhibition de RANK-L par un anticorps bloquant son activité (mimant ainsi l'effet de l'OPG) est une voie thérapeutique très intéressante pour diminuer la résorption osseuse dans l'ostéoporose, mais aussi pour les autres maladies métaboliques associées à une destruction osseuse importante comme la polyarthrite rhumatoïde et l'ostéolyse maligne souvent rencontrées dans le myélome et le cancer du sein avec métastases osseuses.

17 β estradiol, PTH, 1.25 OH₂D₃, corticoïdes, hormones thyroïdiennes

Dans le contexte de l'ostéoporose post-ménopausique, un des facteurs prépondérant de la perte osseuse est bien entendu la carence en estrogène. Son efficacité pour réduire la perte osseuse est surtout liée à son activité anti-résorbante, bien qu'un effet stimulateur direct de l'activité ostéoblastique puisse aussi intervenir.

Le mécanisme d'action des estrogènes sur le remodelage osseux n'est pas encore totalement élucidé. Étant donné que des récepteurs aux estrogènes sont présents au niveau des ostéoblastes, des précurseurs ostéoclastiques et des ostéoclastes matures, un effet direct sur les cellules osseuses est possible. Un effet indirect par la régulation de facteurs locaux est probable. En effet les estrogènes inhibent la sécrétion des cytokines stimulatrices de la resorption comme l'interleukine 1, le TNF α , l'interleukine 6 et le RANK-L par les cellules de la moelle osseuse.

Comme nous l'avons vu plus haut, la PTH stimule la formation osseuse ou l'activité ostéoclastique selon le mode d'administration, intermittente ou continue, respectivement. Bien que le mécanisme responsable de cet effet dual doive encore être complètement élucidé, il semblerait qu'il fasse intervenir lui aussi la modulation de la sécrétion de RANK-L et de son inhibiteur naturel l'OPG par les précurseurs ostéoblastique et les ostéoblastes matures.

La 1.25 dihydroxyvitamine D₃ qui est le métabolite actif de la vitamine D est un stimulateur puissant de l'activité ostéoclastique. Comme la PTH, elle stimule in vitro la différenciation et la fusion des précurseurs ostéoclastiques. Ce mécanisme résulte aussi d'un effet indirect en modulant la sécrétion de RANK-L par les ostéoblastes.

Les glucocorticoïdes endogènes et leurs analogues synthétiques utilisés comme traitement anti-inflammatoire ont un effet majeur sur le remodelage osseux. Une des conséquences de leur administration chronique est une ostéoporose sévère. Celle-ci résulte d'une diminution importante de formation osseuse probablement liée à un effet direct des corticoïdes sur les ostéoblastes en favorisant leur apoptose (mort cellulaire programmée). Néanmoins, les corticoïdes pourraient aussi avoir des effets directs et/ou

indirects sur l'activité des ostéoclastes, certains travaux ayant montré par exemple que les corticoïdes diminuaient l'apoptose des ostéoclastes.

Les hormones thyroïdiennes T3 et T4 stimulent l'activité ostéoclastique de résorption osseuse. Ainsi, certains patients présentant une hyperthyroïdie ont une augmentation de la perte osseuse et une hypercalcémie. Les hormones thyroïdiennes ont un effet direct sur l'activité ostéoclastique de résorption par des mécanismes qui restent encore peu connus.

La formation continue est devenue une obligation



BIOFORMA

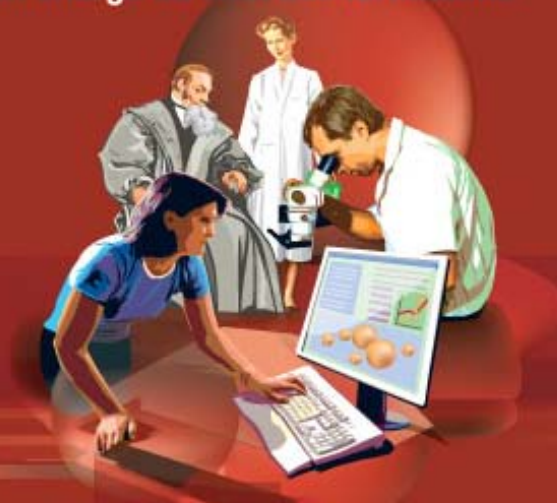
FORMATION CONTINUE DES BIOLOGISTES



80% des LABM se servent des outils BIOFORMA

dates et infos sur
www.bioforma.net

- Simplicité : aucun dossier à remplir, juste s'inscrire
- Prise en charge du coût des formations



BIOFORMA

230, boulevard Raspail 75014 Paris • tél. 01.56.54.39.39 • fax : 01.56.54.39.30 • e-mail : bioforma@wanadoo.fr
Site Internet : www.bioforma.net

Recherche d'une cause d'ostéoporose secondaire

CHAPITRE III

On a vu dans les chapitres précédents que la nature et le niveau de remodelage osseux déterminent la perte osseuse. On a vu également que ce remodelage osseux est régulé par un grand nombre de facteurs à la fois locaux et systémiques, parmi lesquels de nombreuses hormones. Un dysfonctionnement de l'une ou l'autre de ces hormones peut donc, par les altérations du remodelage osseux qu'il induit, avoir pour conséquence une ostéoporose. Il s'agira dans ce cas d'une ostéoporose secondaire (par opposition aux ostéoporoses primitives liées à la perte osseuse post-ménopausique ou sénile ou au défaut d'acquisition osseuse pendant l'adolescence). Devant une ostéoporose, un certain nombre de facteurs de risque surajoutés à la carence oestrogénique et à l'âge seront identifiés lors de l'interrogatoire (par exemple antécédent d'aménorrhée prolongée, d'anorexie, de traitement au long cours par les corticoïdes, d'immobilisation, etc.), mais il faut savoir que d'autres peuvent n'avoir jamais été diagnostiqués et être révélés par l'ostéoporose. Le fait de traiter une cause d'ostéoporose secondaire a en général pour conséquence d'augmenter la DMO. Au contraire, le fait d'ignorer une cause d'ostéoporose secondaire peut avoir une influence négative sur l'efficacité de certains traitements à visée osseuse. L'incidence des causes d'ostéoporose secondaire restées non diagnostiquées varie suivant la population. Elle est importante dans l'ostéoporose masculine, chez la femme ostéopénique en période de "peri-ménopause" et plus généralement chez la femme ménopausée ostéoporotique sans facteurs de risque évidents. Alors qu'un bilan biologique minimal devrait être pratiqué devant toute ostéoporose, la réalité est bien différente comme le rapportent toutes les enquêtes sur le sujet.

Il existe un certain nombre de situations où, devant une ostéoporose, il sera particulièrement "rentable" d'effectuer un bilan biologique pour rechercher une cause d'ostéoporose secondaire. Ce sont en particulier les cas où le niveau d'ostéoporose paraît très supérieur à ce que laisseraient supposer les facteurs de risque comme par exemple :

- ostéoporose chez une femme non ménopausée et plus globalement si la DMO est < -2 Z-score
- ostéoporose chez un(e) patient(e) sans facteur de risque
- ostéoporose chez un homme < 70 ans
- multiples fractures peu "traumatiques"
- ostéoporose dans un contexte "polypathologique"
- aggravation d'une ostéoporose (diminution de DMO ou fractures) malgré une adhérence à un traitement efficace.

Bilan systématique à faire devant toute ostéoporose pour éliminer une cause d'ostéoporose secondaire

Le bilan biologique pour éliminer une ostéoporose secondaire pourrait être défini comme suit. Il aura pour but :

- d'éliminer un processus tumoral ou infiltratif et en particulier un myélome (NFS-plaquettes, VS, électrophorèse des protéines et protéinurie des 24 heures) ;
- d'éliminer une anomalie du métabolisme phospho-calcique (calcémie, phosphatémie et calciurie des 24 heures). Afin d'éviter les fausses hyper- ou hypocalcémies, il est fortement conseillé d'effectuer une correction de la calcémie par la protidémie ou mieux par l'albuminémie. Il est également conseillé d'ajouter la mesure de la créatinine urinaire (pour documenter la validité du recueil des 24 heures) et du sodium (Na) urinaire (une hypernatrurie pouvant expliquer une hypercalciurie) ;
- de documenter la fonction rénale (créatinine sanguine) et hépatique (phosphatases alcalines totales). Une élévation de l'activité des phosphatases alcalines permettra également de suspecter une ostéomalacie.
- d'objectiver une insuffisance en vitamine D (dosage de Ca250HD).

Bilan non systématique à n'effectuer que si il existe des symptômes ou signes évocateurs

Ce bilan non systématique comporte :

- la recherche d'une hyperthyroïdie (TSH) chez les patientes ayant des signes cliniques évocateurs, mais aussi chez celles recevant une thérapie substitutive par les hormones thyroïdiennes et chez les femmes âgées (> 70 ans) même asymptomatiques;
- la recherche d'un hypercorticisme (cortisolurie des 24 heures) ;
- la recherche d'une maladie coeliaque (anticorps anti-endomysium ou anti-trans-glutaminase).

Cas particulier de l'ostéoporose masculine

En plus des examens cités plus haut, il conviendra d'éliminer un hypogonadisme (testostéronémie, FSH, LH, mais la stratégie diagnostique varie d'une école à une autre) et une hémochromatose.

Même si cela peut paraître évident, il faut insister sur le fait qu'une anomalie du bilan de base doit obligatoirement induire des explorations complémentaires, et notamment sur le bilan phospho-calcique.

Une stratégie d'exploration d'une ostéoporose à la recherche d'une cause surajoutée chez une femme ménopausée est résumée dans la [figure 2](#).

Le seul article apparaissant dans une revue de haut niveau et abordant le choix des paramètres biologiques à mesurer chez une femme ménopausée ostéoporotique pour éliminer une cause d'ostéoporose secondaire a été publié très récemment (voir le chapitre " pour en savoir plus "). Il aborde l'aspect coût-efficacité et préconise la mesure systématique de la calcémie, de la calciurie des 24 heures et de la PTH ainsi que de la TSH chez les patientes traitées par hormones thyroïdiennes. Cet article est accompagné d'un éditorial soulignant l'importance avec laquelle le comité de rédaction considère cette problématique. Une lettre de mars 2003 publiée dans la même revue et commentant ce travail souligne l'importance de mesurer systématiquement dans cette situation la 25OH D en plus des examens proposés, du fait de la grande fréquence de l'insuffisance en vitamine D. Dans leur réponse, les auteurs du premier article déclarent être tout à fait d'accord avec cette proposition du fait de l'évolution récente de la définition de l'insuffisance en vitamine D (voir plus loin dans le chapitre sur l'exploration du métabolisme phospho-calcique). Si ces recommandations sont confirmées dans d'autres publications, elles pourraient modifier notre pratique quotidienne avec une augmentation très sensible des prescriptions de dosages de PTH et de 25OH D.

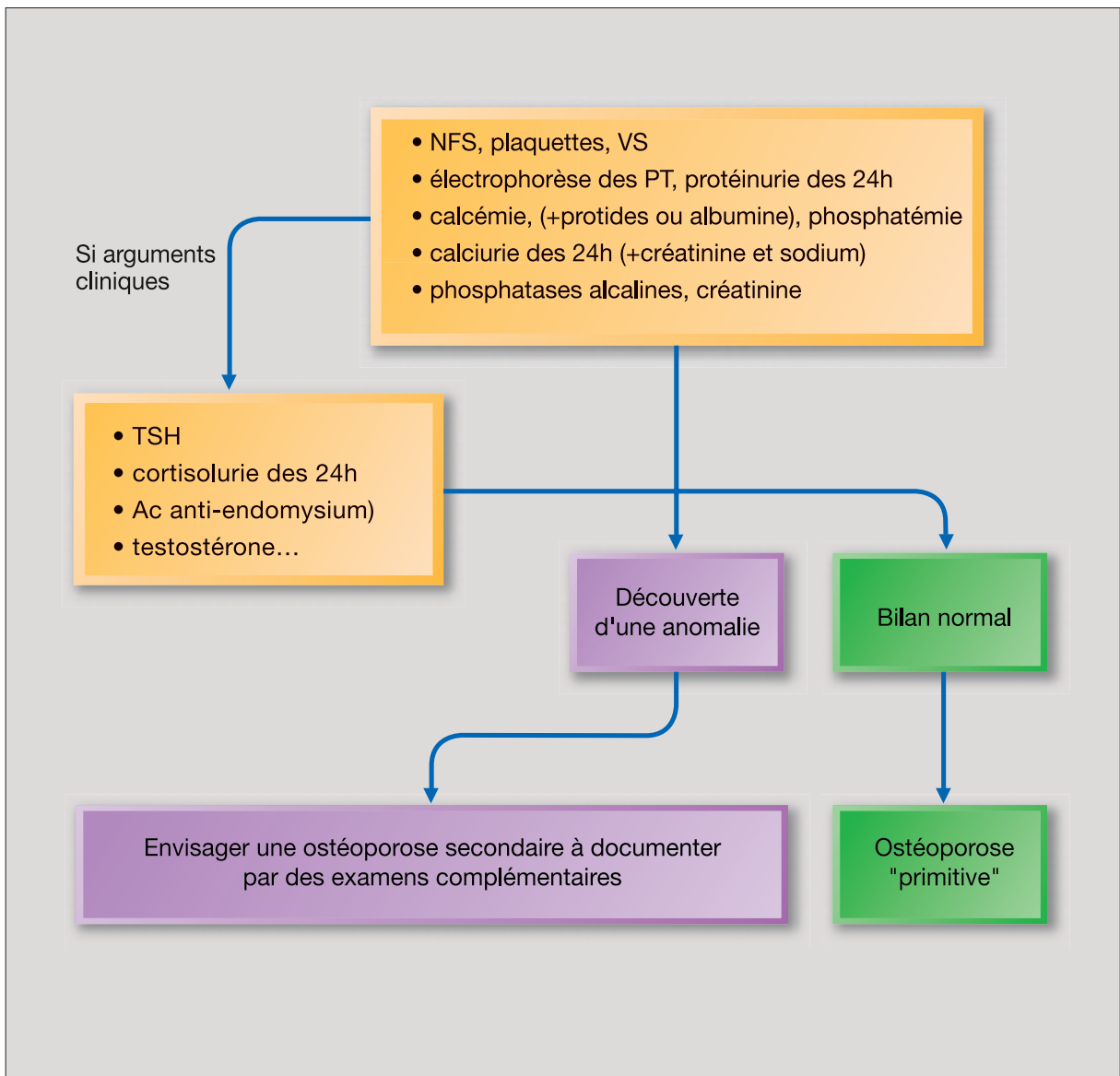


Figure 2 : Stratégie d'exploration biologique devant une ostéoporose chez une femme ménopausée, sachant toutefois que la recommandation de doser systématiquement la PTH et la 25OHD a été émise récemment.

Exploration du métabolisme phospho-calcique

CHAPITRE IV

La régulation de la calcémie et de la phosphatémie

En plus de leur rôle dans la minéralisation osseuse, le calcium et le phosphore ont de multiples fonctions dans l'organisme. Le calcium est impliqué dans la conduction nerveuse, la contraction musculaire, la coagulation, la différenciation cellulaire et le message hormonal. Le phosphore est impliqué dans les échanges énergétiques (ATP...), certaines activités enzymatiques (phosphatases, phosphorylases), l'équilibre acide-base et le message hormonal (AMPc et GMPc). Le corps humain contient environ 1 kg de calcium dont l'immense majorité (>99 %) est localisée dans le squelette. Rappelons que dans le plasma, le calcium est présent sous différentes formes : environ 45 % est lié à des protéines, principalement l'albumine, environ 5% est lié à des anions, et environ 50 % est "libre" sous la forme de calcium ionisé. La somme du calcium ionisé et du calcium lié à des anions est appelée calcium "ultrafiltrable". La liaison calcium-albumine dépend étroitement du pH (elle augmente quand le pH augmente). La concentration de calcium ionisée dépend donc également du pH (elle diminue quand le pH augmente). Seule la calcémie ionisée est régulée et sa concentration est maintenue dans des limites très étroites. En conditions normales, la calcémie ionisée et la balance calcique (c'est-à-dire la différence entre la quantité de calcium qui entre dans le liquide extra-cellulaire [LEC] et la quantité qui en sort) sont maintenues à des valeurs fixes. En conditions pathologiques, le maintien de la calcémie ionisée peut nécessiter une altération de la balance calcique. Les entrées et sorties de calcium dans, et hors du LEC sont assurées par 3 organes, l'intestin, l'os, et le rein. Après un repas, la calcémie augmente transitoirement (c'est pourquoi il faut absolument mesurer la calcémie à jeun). Par contre, à jeun, le maintien de la calcémie dépend seulement de l'équilibre entre la quantité de calcium relarguée par l'os et la quantité de calcium "perdue" dans l'urine. Il existe donc un système régulé, représenté par la calcémie ionisée, et dont la stabilité dépend de l'équilibre entre les débits d'entrée et de sortie du calcium dans le LEC, un système de stockage représenté par le squelette, où l'organisme va "piocher" quand la calcémie ionisée diminue, et un système "régulant", représenté par la PTH et la 1,25 dihydroxy vitamine D [1,25(OH)2D], qui corrige les variations de la calcémie ionisée.

Les cellules parathyroïdiennes synthétisent continuellement la PTH et la stockent dans des vésicules de stockage. Les variations de la calcémie ionisée sont détectées par une protéine à 7 fragments transmembranaires, le récepteur sensible au calcium (CaSR), présent à la surface des cellules parathyroïdiennes (et de bien d'autres tissus dont le rein).

Lorsque la calcémie ionisée s'élève au-dessus de son point d'équilibre (ou set-point), le CaSR est activé, ce qui induit la dégradation de la PTH dans les vésicules de stockage et la sécrétion par les parathyroïdes de fragments de PTH sans activité hypercalcémiant (ces fragments ne contiennent pas les acides aminés de la partie N-terminale de la PTH native). Au contraire, la baisse de la calcémie ionisée entraîne une inactivation du CaSR et la sécrétion de PTH intacte, ce qui va permettre à la calcémie ionisée de remonter. Il peut exister des mutations du gène du CaSR responsables d'hypoparathyroïdes avec hypercalciurie lorsqu'elles sont activatrices, et du syndrome d'hypercalcémie-hypocalciurie familiale ou d'hyperparathyroïdies neo-natales lorsqu'elles sont inactivatrices. La PTH est la principale hormone hypercalcémiant. Elle est aussi hypophosphatémiant. Elle agit par différents mécanismes :

- Elle stimule la libération de calcium de l'os vers le plasma. Ce processus est très rapide mais de faible capacité. Il intéresse le calcium "rapidement échangeable" présent sur les couches superficielles de l'os, et est probablement médié par les ostéocytes. Il est différent du remodelage osseux qui est un processus continu et de grande capacité.
- Elle augmente la réabsorption rénale du calcium au niveau de la branche ascendante de l'anse de Henlé et du tubule contourné distal. Ce processus, qui réduit donc l'excrétion fractionnelle du calcium (la calcémie augmente et la calciurie diminue), concerne 5 à 15 % de la quantité de calcium filtrée par le glomérule.
- Elle diminue la réabsorption rénale des phosphates (ce qui diminue la phosphatémie et augmente la phosphaturie). Dans ce processus, la PTH inhibe l'expression, au niveau des cellules du tubule proximal, d'une protéine appelée NPT2a qui est un "co-transporteur" sodium-phosphate.
- Enfin, toujours au niveau des cellules du tubule proximal, elle stimule la synthèse d'une enzyme, la 1-alpha hydroxylase, qui permet la transformation de la 25 hydroxy vitamine D (25OHD), métabolite peu actif de la vitamine D, en 1,25(OH)₂D métabolite très actif de la vitamine D.

La 1,25(OH)₂D agit en synergie avec la PTH pour faire monter la calcémie. Son rôle principal est d'augmenter l'absorption intestinale du calcium. Elle exerce également un retro-contrôle sur la sécrétion de PTH, permettant ainsi de limiter l'hyperplasie des cellules parathyroïdiennes en cas d'hypocalcémie persistante.

La phosphatémie est également très étroitement régulée, mais dans des limites plus larges que celles de la calcémie. De plus, contrairement à la calcémie ionisée, la phosphatémie n'est pas constante tout au long de la vie (elle est plus élevée pendant

l'enfance). Lorsque la phosphatémie diminue, c'est la 1,25OH₂D qui est synthétisée en premier. On ne connaît toutefois pas (encore ?) de récepteur sensible au phosphate qui pourrait expliquer cette réponse. Cette élévation de la 1,25OH₂D va induire une élévation de l'absorption intestinale du phosphore et du calcium et une diminution de la sécrétion de PTH. Il est fort probable que des protéines appelées phosphatonines, et dont la plus connue est le FGF23, interviennent également dans la régulation de la phosphatémie. Le FGF23 a une action hypophosphatémiant par diminution de la réabsorption tubulaire proximale des phosphates et inhibition de la synthèse de 1,25OH₂D. Les phosphatonines ont été identifiées comme les agents responsables de certaines ostéomalacies/rachitismes hypophosphatémiques. Il reste cependant aujourd'hui à démontrer le niveau exact d'intervention des phosphatonines en physiologie dans le maintien de la phosphatémie (par exemple, vitesse de variation de leur sécrétion ou de leur action quand la phosphatémie s'élève ou diminue) [figure 3](#).

Au total, le maintien de l'homéostasie phospho-calcique, assuré par les hormones calciotropes, est donc vital et peut se faire aux dépens du squelette. Une altération du métabolisme phospho-calcique peut ainsi avoir des répercussions importantes sur la masse osseuse. C'est pourquoi toute exploration d'une ostéoporose impose d'effectuer un bilan phospho-calcique pour éliminer une anomalie, en général facilement traitable (cf chapitre précédent). L'ostéoporose n'est toutefois pas la seule situation où un bilan phospho-calcique sera prescrit systématiquement. Il faudra en effet le faire devant une lithiase ou une néphrocalcinose, une malabsorption, ou une chondrocalcinose. Par ailleurs une exploration phospho-calcique doit aussi être prescrite dans le cas de la persistance, sans explication, d'un ou plusieurs symptômes d'hyper- ou d'hypocalcémie. On remarquera ([tableau 1](#)) que ces symptômes sont d'une grande banalité.

Tableau 1 : Signes cliniques fréquents d'hyper- et d'hypocalcémie

hypercalcémie	hypocalcémie
Fatigue, dépression, confusion, difficulté à se concentrer, besoin accru de sommeil, faiblesse musculaire constipation, anorexie, nausée, vomissements, polyurie, polydypsie, déshydratation, lithiase rénale, néphrocalcinose réduction de l'intervalle QT à l'ECG, bradycardie ou arythmie	Irritabilité musculaire, paresthésie, laryngospasme, bronchospasme, tétanie, convulsion Allongement de QT à l'ECG

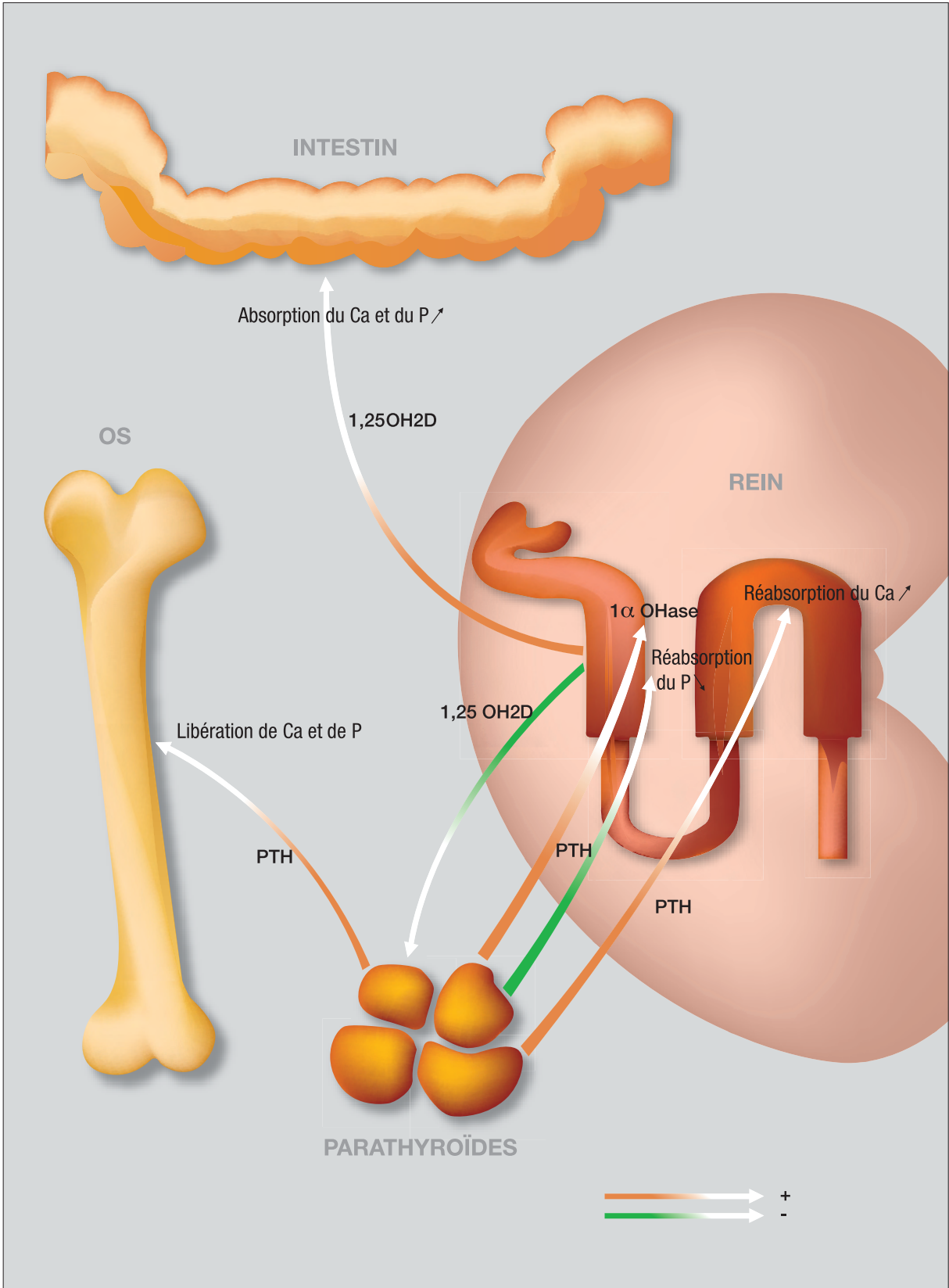


Figure 3 : Représentation schématique de la régulation de la calcémie et de la phosphatémie par les hormones calciotropes.

Aspects analytiques des dosages les plus courants

Calcémie

On peut considérer que la fourchette 2,20-2,60 mmol/L correspond à des valeurs de référence raisonnables pour la calcémie totale. Toutefois, seule la calcémie ionisée est régulée et mesurer la calcémie totale est donc un "pis-aller" pour approcher la calcémie ionisée. Dans le plasma, le calcium est lié à des protéines, principalement l'albumine. S'il existe une hyper- ou une hypoalbuminémie, on pourra trouver une hyper- ou une hypocalcémie alors que la calcémie ionisée est parfaitement normale. Il existe de très nombreuses formules de correction de la calcémie totale par les protides ou (mieux) par l'albumine. Elles sont toutes plus imparfaites les unes que les autres, mais peuvent toutefois éviter parfois de conclure à une fausse hyper- ou hypocalcémie. Nous utilisons en pratique la formule suivante :

$\text{Cacorr (mmol/L)} = \text{Ca total (mmol/L)} - 0,02 \times [40 - \text{albuminémie (g/L)}]$.

Voici un moyen mnémotechnique permettant d'utiliser cette formule sans calculette : pour tout gramme d'albumine au-dessus ou au-dessous de 40, il faut enlever (albumine>40) ou ajouter (albumine<40) à la calcémie en mmol/L autant de fois 0.02 mmol/L.

Exemple 1 : calcémie = 2,15 mmol/L, albuminémie = 34 g/L => Calcémie corrigée = 2,15 + (6 x 0.02) = 2,27 mmol/L.

Exemple 2 : calcémie = 2,70 mmol/L, albuminémie = 48g/L => Calcémie corrigée = 2,70 – (8 x 0.02) = 2,54 mmol/L

Les différentes formules de correction ignorent cependant l'influence du pH sur la liaison Ca-albumine, qui augmente quand le pH augmente. Autrement dit, chez un sujet en alcalose, et pour une même calcémie totale et une même albuminémie, la calcémie ionisée sera plus basse que chez un sujet en acidose. Le mieux est de doser le calcium ionisé mais il existe pour cette mesure des pièges préanalytiques à respecter absolument (en particulier, l'anaérobiose stricte, c'est-à-dire que le tube contenant le sang ne doit pas être ouvert entre le prélèvement et le dosage). Il vaut donc mieux bien doser la calcémie totale et la corriger par l'albumine (en connaissant les limites de ces

corrections) que mal doser la calcémie ionisée ! Si toutefois la calcémie ionisée est dosée, il faut utiliser la mesure directe (c'est-à-dire au pH du patient) et non pas la correction pour un pH de 7,40.

Calciurie

- La calciurie des 24 heures représente les apports en calcium (et l'absorption intestinale). C'est ce qui doit être mesuré dans le bilan minimal d'une ostéoporose (là, bien sûr, attention aux problèmes fréquents de recueil urinaire !). Un régime trop salé ou trop riche en protéines augmente la calciurie.

Les valeurs normales habituelles sont :

Femmes : < 250 mg/24heures

Hommes : <300 mg/24 heures

Il est préférable de tenir compte du poids du patient : < 4 mg/kg/24h

Ces valeurs "normales" devraient en fait prendre en compte les apports calciques alimentaires et médicamenteux. Les valeurs données ci-dessus ne sont probablement valables que pour des apports calciques normaux, soit environ 1g-1,5g par jour (nous considérons par exemple qu'une calciurie de 3,8 mg/kg/24h chez un sujet dont les apports calciques sont de 300 mg/24h correspond à une hypercalciurie).

- Le calcium retrouvé dans les urines du matin à jeun (deuxième miction) vient théoriquement de la dégradation osseuse uniquement. Le rapport calcium/créatinine de la deuxième miction du matin à jeun, est parfois appelé "résorption nette". Ce rapport est à utiliser dans les bilans phospho-calciques extensifs, en complément de la calciurie des 24 heures.

Phosphatémie / phosphaturie

Les hématies étant très riches en phosphore, il ne faut surtout pas de prélèvements hémolysés pour doser la phosphatémie. Les valeurs de référence habituelles pour la phosphatémie sont : 0,80-1,45 mmol/L. Les valeurs de référence pédiatriques sont plus hautes (contrairement à la calcémie qui n'est pas différente chez l'enfant et chez

l'adulte). Lorsqu'on met en évidence une hypophosphatémie, il faut savoir si elle est due à une fuite rénale de phosphate (" diabète phosphaté "). Plutôt que la phosphaturie, il faut utiliser le taux de réabsorption des phosphates (TRP) ou mieux le TmPi/DFG. On calcule le TRP à partir de la phosphatémie, de la phosphaturie, de la créatininémie et de la créatininurie obtenues sur un échantillon sanguin et une miction concomitante (attention à ce que les 4 mesures soient exprimées dans la même unité). Le TRP correspond à la fraction de phosphate réabsorbée, par rapport à la quantité filtrée par le rein. On le calcule par la formule :

$$\text{TRP} = [1 - (\text{phosphaturie} \cdot \text{créatininémie} / \text{phosphatémie} \cdot \text{créatininurie})] \cdot 100.$$

Le TmPi/DFG s'obtient à partir du TRP et de la phosphatémie que l'on reporte sur un abaque (nomogramme de Bisjvoet). Un TmPi/DFG bas témoigne d'une fuite rénale de phosphate.

Dosages de PTH

La PTH est une petite protéine (84 acides aminés) synthétisée par les glandes parathyroïdes en réponse à une baisse de la calcémie ionisée. Son rôle essentiel est d'assurer l'homéostasie phosphocalcique, en agissant sur le squelette, le rein et, indirectement, sur l'intestin. Elle stimule la libération du calcium osseux rapidement échangeable et, donc, le flux de calcium et de phosphate de l'os vers le plasma. Elle augmente la réabsorption tubulaire (tubule distal) du calcium et diminue celle des phosphates (tubule proximal). Elle stimule enfin la 1 alpha-hydroxylase rénale dans le tubule proximal. On dose la PTH par immuno-analyse. Depuis 1987, les techniques de dosage disponibles, dites de seconde génération, sont des techniques "Sandwich" qui utilisent deux anticorps dirigés contre deux parties distinctes de la PTH. Elles sont globalement appelées techniques de dosage de la PTH "intacte" car on pensait initialement qu'elles ne mesuraient que la PTH 1-84. Depuis 1998, on sait que ces dosages de PTH "intacte" reconnaissent, en plus de la PTH intacte, un fragment proche de la PTH 7-84 qui semble être un inhibiteur de l'action de la PTH. Après cette découverte, des nouvelles techniques de dosage dites de "3^{ème} génération" et ne reconnaissant pas ce fragment 7-84 ont été développées (dosage de "Whole PTH" ou dosage de "Biointact PTH"). C'est surtout pour le suivi des patients insuffisants rénaux que ces nouvelles techniques de dosage ont un intérêt potentiel (bien que controversé).

Pour les dosages de PTH prescrits dans le cadre de l'exploration des ostéoporoses, les "anciens" dosages sont aussi efficaces que ces nouvelles techniques, en particulier pour le diagnostic d'hyperparathyroïdie (secondaire ou primitive). Des études sont toutefois en cours pour confirmer ce point. La PTH partage son récepteur (PTHr1) avec une autre protéine, appelée PTH related protein (PTHrP). Celle-ci n'a en commun avec la PTH que 11 acides aminés situés dans la portion N-terminale et n'est pas reconnue par les dosages de PTH (2^{ème} ou 3^{ème} génération). La PTHrP a été identifiée comme le facteur responsable des hypercalcémies humorales malignes (différentes des hypercalcémies dues à des métastases osseuses). Dans ces situations, la tumeur sécrète PTHrP, qui interagit avec PTHr1 et induit les effets biochimiques de la PTH, hypercalcémie et hypophosphatémie (la PTHrP est aussi appelée substance PTH-like). L'hypercalcémie est détectée par le récepteur sensible au calcium ce qui inhibe la sécrétion de PTH par les parathyroïdes. Le tableau est donc hypercalcémie, hypophosphatémie, PTH basse).

Dosages de vitamine D

La vitamine D est très importante pour la croissance et la santé osseuse. Le terme vitamine est inapproprié pour la vitamine D qui doit être plutôt considérée comme une prohormone. En effet, la peau peut la synthétiser à partir du 7-dehydrocholesterol sous l'effet de certains rayonnements UVB (longueur d'onde entre 290 et 315 nm). Qu'elle soit synthétisée par la peau ou apportée par l'alimentation ou la supplémentation, la vitamine D est transportée dans le sang par une protéine porteuse, la "vitamin D binding protein" (DBP), jusqu'au foie où elle est hydroxylée sur le carbone 25 pour former la 25 hydroxy vitamine D (25OHD). Cette hydroxylation n'est pas régulée, c'est-à-dire que plus la quantité de vitamine D synthétisée ou ingérée est importante, plus la quantité de 25OHD formée est grande. La 25OHD est ensuite relarguée dans le sang où elle circule avec une demi-vie de l'ordre de 3 semaines. Dans le rein, grâce à une enzyme, la 1-alpha hydroxylase, la 25OHD est hydroxylée sur le carbone 1 pour former la 1,25 dihydroxy vitamine D [1,25(OH)2D] ou calcitriol. Cette hydroxylation rénale est régulée et est stimulée principalement par la PTH, par une hypophosphatémie ou de faibles apports alimentaires en calcium. Dans certaines pathologies comme les granulomatoses (sarcoidose en particulier), cette hydroxylation n'est pas régulée, et l'élévation de la 1,25(OH)2D peut être responsable d'une hypercalciurie et d'une

hypercalcémie La 1,25(OH)₂D est le métabolite actif de la vitamine D, et sa demi-vie dans le sérum est de 4 heures environ. Elle agit via un récepteur cytosolique, le VDR, présent dans de nombreux tissus. Le rôle le plus important (et le mieux connu) de la 1,25(OH)₂D est le maintien de l'homéostasie phospho-calcique par augmentation de l'absorption intestinale du calcium et du phosphore, et la promotion de la minéralisation osseuse. Un déficit profond en vitamine D peut ainsi avoir pour conséquence des pathologies osseuses caractérisées par un défaut de minéralisation, rachitisme chez l'enfant, ostéomalacie chez l'adulte. Ceci est particulièrement fréquent lorsque ce déficit est associé à une malabsorption. Un déficit en vitamine D peut également aggraver l'effet hypocalcémiant de certains médicaments (comme les bisphosphonates par exemple). De très nombreuses études récentes ont démontré que différents tissus sont "équipés" à la fois de la 1-alpha hydroxylase et du VDR, et qu'ils sont capables de convertir la 25OHD et de l'utiliser localement (sans qu'elle n'aille dans la circulation – il ne s'agit donc plus d'une action endocrine mais d'une action auto- paracrine). Cette propriété est la base des actions "non phospho-calciques" que l'on attribue actuellement à la vitamine D (rôle protecteur contre certains cancers et maladies auto-immunes) ainsi que l'explication de la réduction du risque de chute sous traitement par vitamine D (démonstré chez des sujets âgés dans des études d'intervention), le muscle convertissant et utilisant localement la 25OHD en 1,25(OH)₂D.

Même si la 1,25(OH)₂D est reconnue comme le métabolite actif de la vitamine D, plusieurs études suggèrent d'importantes fonctions physiologiques pour la 25OHD. D'une part, elle est le substrat pour la formation de 1,25(OH)₂D, et d'autre part elle semble avoir une activité directe sur l'absorption intestinale du calcium, 200 à 400 fois plus faible que celle de la 1,25(OH)₂D, mais avec des concentrations circulantes 500 à 1000 fois plus élevées. La conséquence de cela est qu'un déficit modéré en vitamine D (appelé de plus en plus souvent une insuffisance en vitamine D) entraînera une diminution de l'absorption intestinale du calcium et une tendance hypocalcémique, elle-même compensée par une élévation de la PTH. Cette hyperparathyroïdie secondaire va stimuler la 1 alpha hydroxylase, augmentant la concentration sérique de 1,25(OH)₂D. Dans une insuffisance en vitamine D, la 1,25(OH)₂D sérique pourra être normale, élevée ou basse. La mesure de la 1,25(OH)₂D n'est donc pas appropriée pour évaluer le statut vitaminique D. C'est la 25OHD qui doit être dosée pour savoir si un patient a ou non une insuffisance en vitamine D.

Les dosages de 25OHD

Le dosage de 25OHD doit être considéré comme un dosage de routine puisque c'est lui qui permet d'évaluer le statut vitaminique D. La méthode de référence est la spectrométrie de masse après extraction et purification. La méthode par HPLC est considérée comme une alternative à la spectrométrie de masse. Ce sont deux techniques lourdes et compliquées (surtout HPLC) qui permettent de séparer la 25OHD2 et la 25OHD3. Toutefois, le chiffre rendu par le laboratoire correspond à la somme des deux formes. Il existe plusieurs techniques de dosage de la 25OHD par immunoanalyse. A condition qu'elles reconnaissent à peu près également la 25OHD2 et la 25OHD3, ces méthodes doivent être utilisées à la place de la méthode de référence car elles sont plus simples et plus rapides. Il faut doser à la fois la 25OHD2 et la 25OHD3 car, si la peau ne synthétise que de la vitamine D3 et si les sources alimentaires (rares) de vitamine D sont surtout de la D3, de nombreux médicaments sont de la vitamine D2. Si on utilise un dosage spécifique de la 25OHD3 uniquement, on peut sous-évaluer considérablement le statut vitaminique D d'un patient traité par vitamine D2. Ce critère de choix d'un dosage de 25OHD peut toutefois évoluer dans l'avenir. En effet, il semble que l'administration d'une forte dose de vitamine D3 permet de maintenir plus longtemps un taux satisfaisant de 25OHD que l'administration de la même dose de vitamine D2. Il est donc possible que l'on recommande bientôt de donner plutôt de la vitamine D3 que de la vitamine D2 dans l'ostéoporose. Dans ce cas, toutes les techniques de dosage de 25OHD auraient le même intérêt.

Dosages de 1,25 dihydroxy vitamine D

Ce sont des techniques difficiles car elles nécessitent obligatoirement de séparer la 1,25(OH)₂D des autres métabolites de la vitamine D (se rappeler qu'il y a environ 1000 fois moins de 1,25(OH)₂D que de 25OHD dans le sérum). Cette séparation se fait par extraction avec des solvants organiques ou par immunoextraction. Contrairement au dosage de 25OHD qui est un dosage de routine que l'on peut prescrire isolément pour savoir s'il existe un déficit en vitamine D, le dosage de 1,25(OH)₂D ne devrait être prescrit (en dehors de l'insuffisance rénale) qu'en 2^{ème} (ou 3^{ème}) intention dans le cadre d'un bilan extensif du métabolisme phospho-calcique et dans certaines indications :

- hypercalciurie (avec ou sans hypercalcémie) et PTH basse pour éliminer une élévation de la 1,25(OH)₂D liée à une granulomatose.

- Diabète phosphaté primitif pour savoir si la 1,25OH₂D est élevée (réponse physiologique à une hypophosphatémie) ou non (ce qui peut orienter vers une tumeur mésoenchymateuse sécrétant une phosphatonine comme le FGF 23).
- Le dosage de 1,25OH₂D est très important pour le diagnostic des rachitismes vitamino-résistants pseudo-carenciels.

Le problème des valeurs de référence de 25OHD et de PTH

Ce problème est tout aussi important que le problème technique proprement dit. En effet, si on suppose que les questions techniques évoquées ci-dessus sont résolues, le clinicien qui a prescrit un dosage recevra un résultat qu'il interprétera (valeur normale, haute ou basse ...) en fonction des valeurs de référence données par le laboratoire. Si par exemple on veut savoir si un(e) patient(e) a un déficit en vitamine D pour, dans ce cas, lui en donner, on dosera la 25OHD sérique. Si elle est "basse" on prescrira un traitement par vitamine D, si elle est "normale" il sera logique de ne pas traiter. En France, les valeurs de référence pour la 25 OHD varient aujourd'hui d'un laboratoire à un autre et sont le plus souvent de 25-100 nmol/L (10 - 40 ng/mL). En d'autres termes, un patient ayant une concentration circulante de 25OHD à 12 ng/mL ne devrait donc pas être traité. Or, plusieurs éditoriaux et revues de la littérature ont récemment discuté le fait que les valeurs de référence de 25OHD sont inadaptées (trop basses) et que les suppléments recommandés sont insuffisantes.

Il existe deux façons d'établir des valeurs de référence.

- La première consiste à déterminer dans une population dite "de référence" la plage de valeurs dans laquelle on va retrouver 95 % de la population dite "normale". En pratique, on définit pour la population de référence des critères d'inclusion (âge, sexe, statut ménopausique etc...) et des critères d'exclusion (maladies, prise de médicaments, fumeurs, obésité etc...). On dose ensuite le paramètre dont on veut établir les valeurs de référence. On évalue la normalité de la distribution de cette variable. Si la distribution est gaussienne, les valeurs de référence correspondront à la moyenne +/- 2 écarts-types. Si la distribution n'est pas gaussienne, on obtient les valeurs de référence en éliminant les 2,5 % de valeurs les plus basses et les plus hautes. Dans la littérature, cette méthode est appelée "population-based reference values". C'est pour le moment la méthode la plus utilisée. En l'utilisant pour la 25OHD, les valeurs de référence dépendront de la latitude (valeurs plus basses pour des latitudes plus grandes), de la saison (valeurs plus basses en hiver), de l'origine ethnique (à ensoleillement égal, valeurs plus

basses pour les noirs que pour les blancs), de l'âge (valeurs plus basses pour les personnes âgées) et plus généralement des politiques locales de supplémentation par la vitamine D.

- La seconde consiste à déterminer dans une population en bonne santé apparente, les concentrations du paramètre au-dessous et/ou au-dessus desquelles il peut exister des effets néfastes pour la santé. Cette méthode est plus difficile à appliquer que la précédente et est appelée dans la littérature "health-based reference values". Un exemple bien connu (bien que ne s'agissant pas vraiment d'un paramètre biologique) est l'indice de masse corporelle (IMC). Suivant les régions géographiques, les valeurs d'IMC dans une population "tout venant" varieront de 18 à 25 dans certains pays à 18 à 35 dans d'autres pays (par exemple les USA). Il n'est pourtant pas aujourd'hui envisageable de considérer un IMC de 32 comme une valeur normale puisque l'on connaît les risques (diabète, cardio-vasculaires...) associés à ce surpoids. C'est cette méthode qui est maintenant conseillée pour la 25OHD. Elle n'est cependant pas facile à mettre en place et diverses approches ont été utilisées. En se basant sur une analyse des données de la littérature, les principaux spécialistes proposent maintenant de définir l'insuffisance en vitamine D par des concentrations de 25OHD < 30 ng/mL (75 nmol/L). De même, les signes biologiques d'intoxication à la vitamine D (hypercalciurie, hypercalcémie) n'apparaissent pas pour des concentrations de 25OHD < 100 ng/mL (250 nmol/L), et on peut donc fixer raisonnablement la limite supérieure de la 25OHD à 80 ng/mL (200 nmol/L). Plus que le terme de "valeurs normales", on utilisera maintenant pour la 25OHD la notion de "valeurs souhaitables" (30-80 ng/mL d'après les données discutées ci-dessus).

Le problème est le même si on désire établir des valeurs de référence pour la PTH. En recrutant une population de référence, les sujets ayant une raison potentielle d'avoir une altération de leur concentration de PTH seront exclus (hyper- ou hypocalcémie, insuffisance rénale, prise de certains médicaments comme les bisphosphonates, les anti-convulsivants, le lithium...). Pourquoi inclurait-on des sujets ayant une insuffisance en vitamine D puisque l'on sait que ceux-ci ont une PTH plus élevée en moyenne que ceux qui n'ont pas d'insuffisance en vitamine D, que leur PTH diminue quand on leur donne de la vitamine D et que cette supplémentation en vitamine D diminue le risque relatif de fracture (tout du moins chez les sujets âgés). Le problème est que pour savoir si un sujet apparemment sain a une insuffisance en vitamine D, il n'existe pas d'autre moyen que de lui doser sa 25OHD sérique ce qui complique très significativement le

processus d'établissement de ces valeurs de référence. En pratiquant toutefois de la sorte, nous avons montré que la limite supérieure des valeurs de référence de PTH était environ 30 % plus basse que si on ne tenait pas compte du statut vitaminique D. Nous avons également montré qu'en utilisant en pratique clinique ces valeurs de référence tenant compte du statut vitaminique D, on n'induisait pas d'augmentation des faux positifs (c'est-à-dire des patients ayant une PTH haute sans aucune raison) alors que la PTH était plus souvent au-dessus de la limite supérieure de la "normale" chez des sujets ayant une hyperparathyroïdie primitive prouvée chirurgicalement ou une raison d'avoir une hyperparathyroïdie secondaire. A noter que l'utilisation de ces nouvelles valeurs de référence de PTH induit la découverte fréquente d'une PTH au-dessus des "normes" chez des patients normo-calcémiques. Il s'agit dans l'immense majorité des cas d'une hyperparathyroïdie secondaire dont il faudra chercher l'étiologie (voir plus loin).

Interprétation des explorations phospho-calciques

Il s'agit de dégager ici les grands principes d'une démarche d'exploration d'une anomalie d'un des paramètres mesurés dans une exploration phospho-calcique préliminaire (en général, calcémie, phosphatémie et calciurie des 24 heures).

Hypercalcémie

Il faut tout d'abord vérifier la réalité de cette hypercalcémie (calcémie corrigée pour l'albumine, ou mieux calcémie ionisée si facilement accessible – *sinon ne pas faire !!*). Il faut ensuite prescrire un dosage de PTH. Il est très important de doser à nouveau le calcium sur le même échantillon que celui prélevé pour le dosage de PTH. La PTH n'est interprétable qu'en fonction de la calcémie concomitante! La [figure 4](#) propose une démarche simple d'interprétation d'une hypercalcémie en fonction de la concentration de PTH.

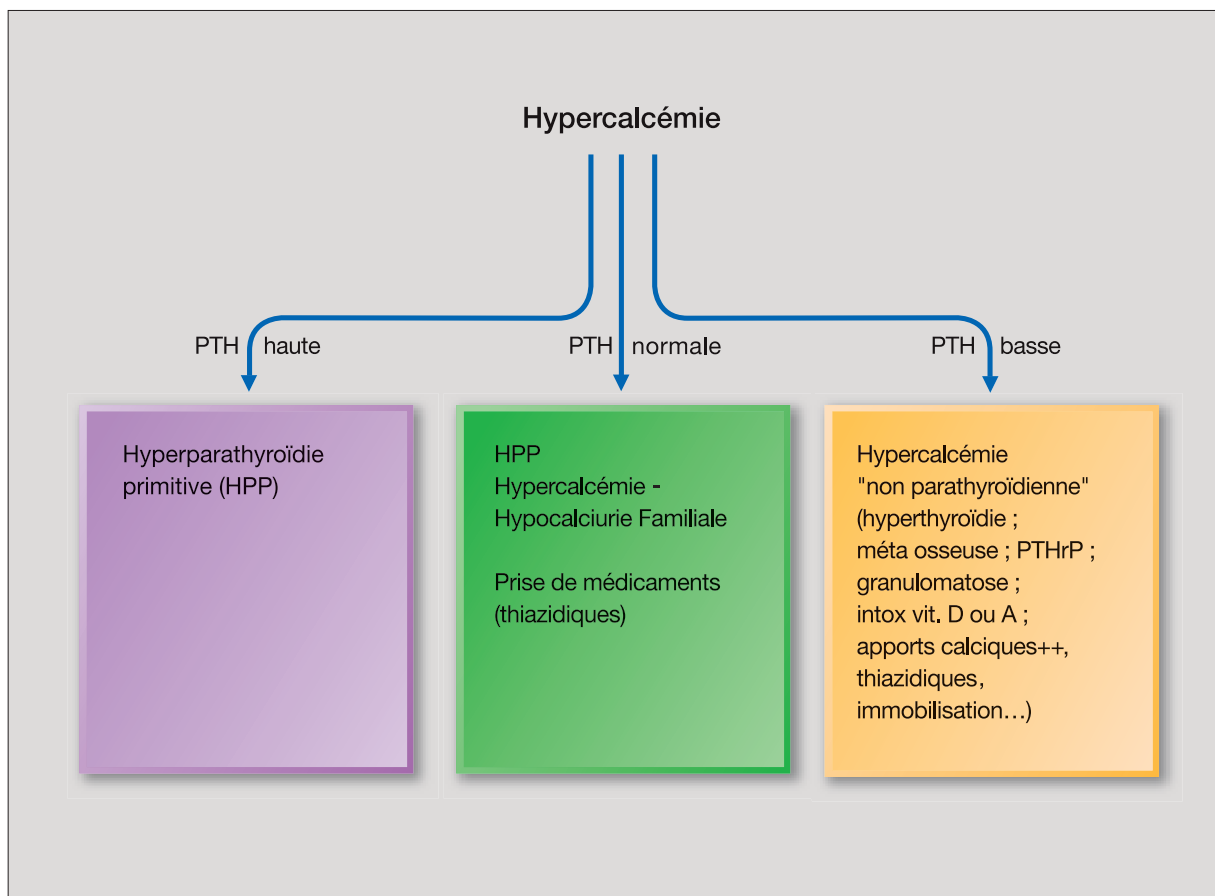


Figure 4 : Démarche simple d'exploration d'une hypercalcémie

Hyperparathyroïdie primitive (HPP).

Il s'agit d'une production excessive et inappropriée de PTH (c'est-à-dire pas en réponse à une baisse de la calcémie). Maladie surtout féminine (environ 6 femmes pour 1 homme) et le plus souvent asymptomatique, c'est, après le diabète et les pathologies thyroïdiennes, la 3^{ème} plus fréquente parmi les endocrinopathies. Dans l'immense majorité des cas, l'HPP est due à un adénome bénin unique d'une parathyroïde. Il peut toutefois exister des HPP à adénomes multiples, et des HPP dues à une hyperplasie autonomisée des 4 glandes parathyroïdes (on parlera alors souvent d'hyperparathyroïdie "tertiaire"). Les HPP peuvent également s'inscrire dans des pathologies tumorales, situation rare de carcinome parathyroïdien isolé, ou manifestation d'une néoplasie endocrinienne multiple (NEM), à rechercher systématiquement chez les patients HPP de moins de 50 ans, le plus souvent NEM de type 1 (mutation du gène de la ménine), mais parfois de type 2. Le traitement actuel de l'HPP est chirurgical (parathyroïdectomie-PTX) mais toutes les HPP ne sont pas opérées. Il existe des critères chirurgicaux définis dans des conférences de consensus parmi lesquels on retrouve une ostéoporose densitométrique. Les autres critères chirurgicaux sont un antécédent de lithiase ou de néphrocalcinose, une calcémie $>2,85$ mmol/L, une calciurie >10 mmol/24 heures en régime "libre", un débit de filtration glomérulaire <60 mL/mn (clairance de la créatinine calculée par la formule MDRD), un âge <50 ans. Le diagnostic d'HPP est biologique (des examens de localisation, scintigraphie ou échographie, négatifs n'excluent pas le diagnostic). Il est basé sur la constatation d'une hypercalcémie et d'une PTH élevée. Cependant, une hypercalcémie associée à une PTH normale haute (au-dessus de la médiane des valeurs "normales") est également très évocatrice d'une HPP. Par ailleurs, si une calcémie normale associée à une PTH haute évoque en priorité une hyperparathyroïde secondaire, le fait de ne retrouver aucune cause d'hyperparathyroïde secondaire doit faire envisager la possibilité d'une hyperparathyroïdie primitive normo-calcémique. Au total, le diagnostic d'HPP doit être sans ambiguïté avant d'adresser un(e) patient(e) au chirurgien pour PTX, et si le moindre doute persiste sur le diagnostic, il faut pratiquer un test de charge calcique. Au cours de ce test, on fera monter la calcémie (mesurer si possible la calcémie ionisée) largement au-dessus de la limite supérieure de la normale et on observera l'évolution de la concentration de PTH. Si celle-ci ne descend pas en dessous de la médiane des valeurs normales, ce sera un argument fort pour le diagnostic d'HPP. Il semble également important de doser la 25OHD chez les HPP. En effet, d'une part il est conseillé dans la conférence

de consensus de maintenir la 25OHD > 20 ng/mL chez les HPP car un déficit en vitamine D chez ces patients augmente la sécrétion de PTH et la taille de la tumeur, et d'autre part, afin d'éviter un "hungry bone syndrom", il est important de s'assurer que, en post-parathyroïdectomie, le statut vitaminique D et les apports calciques des patients HPP sont suffisants. Même s'il ne paraît pas évident pour tout le monde de donner de la vitamine D (qui augmente l'absorption intestinale du calcium) à des patients HPP déjà hypercalcémiques, il a été montré récemment que cette pratique n'induisait pas d'augmentation de la calcémie et réduisait la PTH. Pour s'en convaincre, rappelons qu'une exposition à un ensoleillement estival augmente le taux de 25OHD au moins autant que l'administration de 100 000 U de vitamine D. Quel médecin empêche son patient HPP de partir en vacances au soleil ?

Hypercalcémie-hypocalciurie familiale bénigne

C'est en fait le seul réel diagnostic différentiel de l'HPP. Il s'agit d'une mutation inactivatrice du gène du récepteur sensible au calcium. On constate une hypercalcémie avec PTH normale (elle peut être parfois élevée) et une "hypocalciurie" (attention, il s'agit d'une hypocalciurie "relative", c'est-à-dire une calciurie plus basse qu'elle ne devrait être devant une telle hypercalcémie ; la calciurie peut donc être normale). Pour avancer dans le diagnostic différentiel de l'HPP il faut corriger les carences (vitamine D, calcium) si besoin, éliminer une HPP (test de charge calcique), doser la calcémie dans la proche famille (ascendants et descendants), calculer l'excrétion fractionnelle du calcium (si elle est > 1%, c'est très contre le diagnostic). On pourra ensuite faire une recherche de mutation sur le gène du récepteur sensible au calcium (faire signer un consentement éclairé).

Hypercalcémies "non parathyroïdiennes"

Il s'agit de situations caractérisées par l'association d'une hypercalcémie et d'une PTH "freinée". Les différents diagnostics différentiels nécessitent des examens complémentaires. Pour bien interpréter ces examens complémentaires, il faudra refaire les dosages de "base" (calcium, phosphates, PTH...). Les causes les plus fréquentes d'hypercalcémies avec PTH basse sont listées dans le [tableau 2](#) avec leurs principales caractéristiques biologiques (attention toutefois car ces éléments sont théoriques et il est fréquent que dans la pratique clinique, ils ne soient pas tous retrouvés).

Tableau 2 : principaux indicateurs biologiques des différentes hypercalcémies "non parathyroïdiennes"

	Phosphatémie	TmPi/DFG	calciurie	25OHD	1,25(OH) ₂ D	TSH	autres
Métastase osseuse	N ou H	H	H	Q	B	N	<u>Scintigraphie osseuse +</u>
Tumeur PTHrP	<u>B</u>	<u>B</u>	N ou H	Q	N ou B	N	<u>PTHrP H</u>
Granulomatose	H	H	H	Q	<u>H</u>	N	
Hyperthyroïdie	N ou H	H	H	Q	B	<u>B</u>	<u>T4L H</u>
Intox à Vitam D	H	H	H	<u>H+++</u>	B, N ou H	N	
Apports calciques +++	N ou H	H	H	Q	B ou N	N	<u>Chercher prise occulte (anti-acide par exemple)</u>
immobilisation	N ou H	H	H	Q	B ou N	N	Immobilisation connue

Pour ces situations le point commun est une **hypercalcémie** et une **PTH basse** ;
 N : normal ; H : haut ; B : bas ; Q : quelconque. Les éléments déterminants sont soulignés.

Hypocalcémies

Là encore il faut vérifier la réalité de l'hypocalcémie (correction de la calcémie par l'albumine, calcémie ionisée si possible) et doser la PTH (ne pas oublier de redoser le calcium en même temps). La **figure 5** propose une démarche simple d'exploration d'une hypocalcémie.

Hypoparathyroïdies

Il s'agit d'un défaut de synthèse/sécrétion de PTH ayant pour conséquences une hypocalcémie et une hyperphosphatémie (avec TmPi/DFG élevé). Sauf si la calcémie est extrêmement basse, la calciurie est en général normale et peut même être élevée parfois, comme en cas de mutation activatrice du CaSR (bien surveiller la calciurie sous traitement par calcium et dérivé 1-hydroxylé de la vitamine D, car il peut facilement apparaître une hypercalciurie). Il s'agit donc d'une situation "miroir" de l'HPP (hypercalcémie, hypophosphatémie et PTH haute) où la PTH est également inadaptée à la calcémie. Une hypoparathyroïdie peut être due à une cause génétique (par exemple micro délétion du

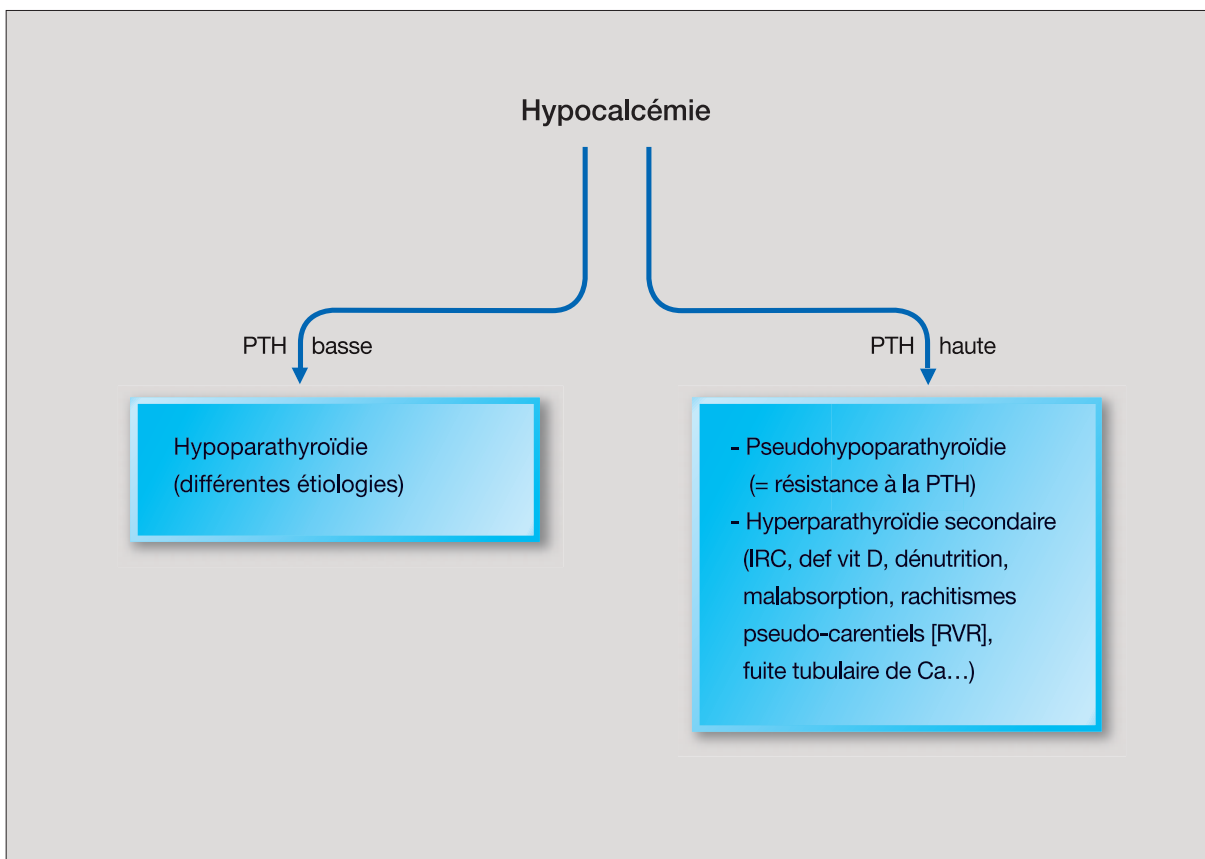


Figure 5 : Démarche simple d'interprétation d'une hypocalcémie

chromosome 22 comme dans le syndrome de Di-Georges, ou mutation activatrice du gène du CaSR, etc...) ou à la conséquence d'une chirurgie de la région thyroïdienne (parathyroïdectomie non voulue après une thyroïdectomie). Si aucune de ces étiologies n'est retrouvée, il faut éliminer une hypomagnésémie chronique (le magnésium est nécessaire pour que les parathyroïdes puissent sécréter de la PTH). Si celle-ci est retrouvée, sa correction devrait rétablir une sécrétion normale de PTH (contrairement aux autres étiologies, l'hypoparathyroïdie due à une hypomagnésémie chronique est une situation réversible). La découverte d'une hypoparathyroïdie au cours de l'exploration d'une ostéoporose est fortuite car l'hypoparathyroïdie n'induit pas de baisse de la DMO. Comme dans la pseudohypoparathyroïdie (résistance à la PTH avec hypocalcémie, hyperphosphatémie mais PTH élevée), la présentation clinique est un continuum entre des hypocalcémies symptomatiques et des formes modérées asymptomatiques.

Tableau 3 : Principaux indicateurs biologiques des principales causes d'hyperparathyroïdie secondaire

	Phosphatémie	TmPi/DFG	calciurie	25OHD	1,25(OH) ₂ D	TSH	autres
IRC	N ou H		B	Q	B ou N	N	<u>Cl.créat B</u>
Pseudo-hypopara	<u>H</u>	<u>H</u>	B, N ou H	Q	B	N	
Déficit Vitam D	B ou N	B	B	<u>B</u>	B ou N	N	
RVR 1	B	B	B	<u>H (supplémentation)</u>	<u>B</u>	N	
RVR 2	B	B	B	Q	<u>H+++</u>	N	
Maladie coeliaque	B	B	B	B	B ou N	N	<u>Ac anti trans-glutaminase ++</u>
Hypercalciurie rénale	B	B	<u>H (24 h et jeûne)</u>	Q	N ou H	N	<u>Test de charge calcique</u>

Pour ces situations le point commun est une hypercalcémie et une PTH haute ;

N : normal ; H : haut ; B : bas ; Q : quelconque. Les éléments déterminants sont soulignés.

IRC : insuffisance rénale chronique ; RVR : rachitisme vitamino-résistant ou pseudo-carentiel.

Hyperparathyroïdies secondaires

Il s'agit de situations caractérisées par l'association d'une hypocalcémie et d'une PTH haute. Les différents diagnostics différentiels nécessitent des examens complémentaires. Pour bien interpréter ces examens complémentaires, il faudra refaire les dosages de "base" (calcium, phosphates, PTH...). Les causes les plus fréquentes d'hypocalcémies avec PTH haute sont listées dans le [tableau 3](#) avec leurs principales caractéristiques biologiques (là encore, ces éléments sont théoriques et il est fréquent que dans la pratique clinique, ils ne soient pas tous retrouvés). D'autres causes d'hyperparathyroïdie secondaire sont listées dans le [tableau 4](#).

Cas particulier de la découverte d'une PTH élevée alors que la calcémie, la phosphatémie et la calciurie des 24 heures sont normales.

Il s'agit dans l'immense majorité des cas d'une hyperparathyroïdie secondaire et donc d'une réaction physiologique : la tendance hypocalcémique est compensée par une élévation de la PTH qui maintient la calcémie dans les valeurs normales. C'est une situation très fréquente (et d'autant plus fréquente que l'on utilisera les "normes" de PTH sérique

Tableau 4 : Une PTH élevée chez un(e) patient(e) normocalcémique correspond dans l'immense majorité des cas à une hyperparathyroïdie secondaire. Devant un tel tableau biologique (très fréquent), les différentes causes listées dans ce tableau doivent être éliminées, avant d'envisager le diagnostic d'hyperparathyroïdie primitive normocalcémique.

- Insuffisance en vitamine D définie par une concentration sérique de 25OHD < ou = à 30µg/L (mais cette valeur seuil peut évoluer).
- Très faibles apports calciques alimentaires.
- Très faibles apports alimentaires en protéides
- Prise de bisphosphonates (actuelle ou dans les 6-12 derniers mois).
- Prise d'anticonvulsivants (pouvant induire une insuffisance en vitamine D)
- Hypercalciurie de type "rénale", authentifiée par un test de charge calcique.
- Prise de diurétiques de l'anse.
- Insuffisance rénale dont la définition en terme de débit de filtration glomérulaire doit être précisée (probablement <60 ml/mn)

établies chez des sujets sains sans insuffisance en vitamine D !) dont il faudra trouver la cause. Une liste des causes d'élévation "secondaire" de la PTH est présentée dans le [tableau 4](#). Parmi ces causes, les plus fréquentes sont l'insuffisance rénale modérée et l'insuffisance en vitamine D. Il faut insister aussi sur l'importance d'effectuer le bilan phosphocalcique chez les ostéoporotiques avant de les traiter par un traitement anti-ostéoporose et en particulier les bisphosphonates. En effet, ceux-ci induisent une élévation de la PTH pour compenser la diminution du flux de calcium de l'os vers le plasma et donc la tendance hypocalcémique. Si aucune cause d'hyperparathyroïdie secondaire n'est retrouvée, on pourra suspecter une hyperparathyroïdie primitive normocalcémique (surtout si la calcémie est normale haute) et faire un test de charge calcique comme discuté plus haut.

Hypophosphatémies (avec calcémie normale et avec ou sans hypercalciurie)

Il faut tout d'abord éliminer une hyperparathyroïdie primitive ou secondaire normocalcémique puis calculer le TRP et le TmPi/DFG pour savoir si l'hypophosphatémie est due à une fuite rénale de phosphates. Si, après avoir éliminé une hyperparathyroïdie, le TmPi/DFG est abaissé, on conclura à un diabète phosphaté "primitif".

Rappelons que le rein est le principal organe régulateur de la phosphatémie. Environ 80 % de la charge filtrée est réabsorbée, en particulier dans le tubule proximal. La réabsorption

tubulaire des phosphates dépend de l'activité, du nombre et de la localisation intracellulaire du cotransporteur sodium-phosphate (Na-Pi) de type 2 (NPT2a). Elle est inhibée par la PTH et stimulée par une hypophosphatémie et par certaines hormones. La PTH, via l'AMP cyclique, induit une inhibition de l'expression de NPT2a ce qui augmente la phosphaturie (on observe une baisse du TmPi/DFG) et diminue la phosphatémie. D'une façon générale, s'il existe une hypophosphatémie, on observe une synthèse accrue de 1,25 (OH)₂D qui va augmenter l'absorption intestinale de phosphore mais aussi de calcium. L'augmentation de la calcémie inhibera alors la sécrétion de PTH ce qui diminuera la phosphaturie (élévation du TmPi/DFG) et augmentera la calciurie.

Schématiquement, on peut distinguer deux types de diabètes phosphatés "primitifs" :

- Diabète phosphaté avec hypercalciurie et 1,25 OH₂ vitamine D élevée.

Ces formes sont retrouvées lors de mutations de NPT2a ou dans le cadre de syndromes (maladie de Dent ...). L'élévation de la 1,25(OH)₂D est physiologique (en réponse à l'hypophosphatémie) et induit l'hypercalciurie (et parfois même une hypercalcémie modérée). Ces patients font souvent des lithiases. Si symptomatiques, ces formes seront traitées par phosphore seul (pas de dérivé 1-hydroxylé de la vitamine D).

- Diabète phosphaté avec calciurie et 1,25OH₂D normales.

On connaît des formes génétiques, liée au chromosome X (mutation du gène PHEX) ou autosomique dominante (ADHR, mutation sur le gène du FGF23), souvent découvertes dans l'enfance, et des formes acquises dues à des tumeurs mésoenchymateuses bénignes sécrétant une "phosphatonine". La mieux connue de ces phosphatonines est le FGF 23 qui stimule la fuite rénale de phosphates et inhibe la synthèse de 1,25OH₂ vitamine D (malgré l'hypophosphatémie induite). D'autres protéines, comme FRP4 et FGF 7, semblent avoir des actions comparables. On peut maintenant doser facilement le FGF 23 dans le plasma, ce qui peut avoir un intérêt pour le patient chez qui ce type d'anomalie est découvert à l'âge adulte. En effet, un résultat élevé incitera tout particulièrement à rechercher une tumeur mésoenchymateuse dont l'ablation guérira le patient. Ces formes, si symptomatiques, seront traitées par phosphore et 1-OH vitamine D en surveillant régulièrement la calciurie.

Hypercalciuries

Encore une fois, on éliminera une hyperparathyroïde primitive ou une cause d'hypercalcémie non parathyroïdienne (qui n'aurait pas encore atteint le stade d'hypercalcémie !). On évaluera les apports calciques alimentaires ainsi que les apports sodés (doser le sodium

urinaire sur les urines de 24 heures - si >150 mmol/24 heures, prescrire un régime limité en sel [<7 g/24 h] puis refaire la calciurie sous ce régime) et les apports en protéines (un régime riche en protéines augmente l'absorption intestinale du calcium). La mesure de certains marqueurs de la résorption osseuse peut aider à suspecter une origine "résorptive" à l'hypercalciurie. Même si ce n'est pas constant, une calcémie normale basse et une PTH normale haute orienteront plutôt vers une fuite rénale de calcium (régime trop "salé", hypercalciurie rénale) alors qu'une calcémie normale haute et une PTH normale basse orienteraient plutôt vers des apports calciques excessifs, une hypercalciurie "résorptive" ou une hypercalciurie "absorptive". L'examen complémentaire de choix est le test de charge calcique (tableau 5). On traitera par diurétique thiazidique les patients chez qui on diagnostiquera une hypercalciurie "rénale", c'est-à-dire une tubulopathie avec fuite de calcium et tendance à la stimulation de la PTH.

Tableau 5 : Interprétation de la calciurie dans un test de charge calcique

Ce test est pratiqué après 3 jours de régime "pauvre" en calcium (<300 mg/24h, en excluant tous les laitages, les eaux minérales riches en calcium -pendant ces 3 jours boire de l'eau de Volvic ou une autre eau très peu chargée en calcium- et en ne prenant pas les éventuels traitements par calcium pris habituellement). Le patient vient à l'hôpital avec ses urines de 24h. On lui fait un bilan phospho-calcique complet le matin à jeun avec miction (on a donc deux urines avant charge calcique, les urines de 24h et les urines du matin à jeun) puis on lui administre un gramme de calcium per os (dans le cadre d'un petit déjeuner calibré avec supplémentation en calcium). On recueille ensuite les urines, avec nouveau prélèvement sanguin, 4 heures après la charge orale en calcium. Le delta Calcium/ créat est la différence : Ca/creat à T4h - Ca/creat à T0. Quand le régime pauvre en calcium a été bien respecté (nécessité d'un interrogatoire "serré" pour le vérifier !), nous considérons que la calciurie des 24 heures doit être $< 2,8$ mg/kg/24h heures (et non pas <4 mg/kg/J comme en régime libre).

	CaU 24 heures	Ca/Creat à jeun	Delta Ca/creat
Hypercalciurie alimentaire (régime trop riche en calcium)	N	N	N
Régime trop salé ou trop riche en protides	N ou H	N	N
Hypercalciurie "absorptive"	N	N	H
Hypercalciurie "rénale"	H	H	N ou H

N : normal ; H ; haut

Cas cliniques

Cas N°1 :

Une femme de 65 ans est hospitalisée après une fracture de l'extrémité supérieure du fémur. Sa DMO est à $-3,2$ T-score au rachis lombaire alors qu'elle a reçu un THS de 50 à 57 ans. Le bilan biologique systématique retrouve une hypercalcémie (3,17 mmol/L ; normes : 2,20-2,60 mmol/L), une hypophosphatémie (0,66 mmol/L ; normes : 0,85-1,40 mmol/L) et une hypercalciurie (6,1 mg/kg/24heures ; N : <4 mg/kg/24 heures). Un dosage de PTH donne une valeur de 236 pg/mL (normes : 10-65 pg/mL) associée à une nouvelle calcémie à 3,02 mmol/L (corrigée par l'albumine).

L'association d'une hypercalcémie et d'une PTH élevée permet de retenir le diagnostic d'hyperparathyroïdie primitive dont l'indication chirurgicale repose sur l'existence de lithiase et sur le niveau de calcémie. Avant la parathyroïdectomie, elle bénéficie d'un bilan phospho-calcique extensif dont les résultats sont les suivants :

Sang		N
Calcémie ionisée (Ca ⁺⁺) :	1,51 mmol/L	(1,17-1,30 mmol/L)
Calcémie totale :	3,05 mmol/L	(2,20-2,60 mmol/L)
Albuminémie :	43 g/L	
Phosphatémie :	0,70 mmol/L	(0,85-1,40 mmol/L)
PTH :	254 pg/mL	(10-46 pg/mL)
25OH vitamine D :	5 ng/mL	(30-80 ng/mL)
1,25 dihydroxy vitamine D :	86 pg/mL	(15-60 pg/mL)
Ostéocalcine :	60 ng/mL	(14-32 ng/mL)
Cross-Laps :	10200 pmol/L	(700-3000 pmol/L)
Phosphatases alcalines :	112 U/L	(40-130 U/L)

Urines des 24 heures		
Calciurie :	12,9 mmol/24heures	($<6,2$ mmol/24h)
	6,8 mg/kg/24 heures	(<4 mg/kg/24h)
Natriurie :	162 mmol/24 h	(<150 mmol/24h)
Cl créatinine :	52 mL/mn	(80-120 mL/mn)

Urine de Jeûne

Calcium/créat :	0,59 mmol/mmol	(<0,35)
TRP :	75%	(85-95%)
TmPi/DFG :	0,58 mmol/L	(0,77-1,45)

Les apports calciques alimentaires sont évalués à 470 mg/jour

Au total, cette exploration confirme bien sûr le diagnostic d'hyperparathyroïdie primitive. Elle permet par ailleurs d'identifier deux nouveaux critères chirurgicaux : une calciurie > 10 mmol/24 heures et un débit de filtration glomérulaire (se rappeler de l'imperfection de la clairance de la créatinine pour cette évaluation) < 60 mL/mn.

Il faut bien reconnaître que de nombreux examens réalisés ne sont pas nécessaires pour le diagnostic d'hyperparathyroïdie primitive qui, ici, est évident. Les résultats permettent cependant de rappeler les différents modes d'action de la PTH qui :

- stimule le remodelage osseux : l'ostéocalcine, marqueur de la formation osseuse, et le cross-laps sérique, marqueur de la résorption osseuse, sont très élevés ;
- diminue la réabsorption des phosphates au niveau du tubule rénal proximal : on retrouve une hypophosphatémie avec un TmPi/DFG bas ;
- stimule la 1 alpha hydroxylase au niveau du tubule proximal également : la 1,25 dihydroxyvitamine D est élevée ;
- stimule la réabsorption rénale du calcium principalement au niveau du tubule distal, ce qui augmente la calcémie et diminue la calciurie : la calciurie (24h et jeûne) est élevée chez cette patiente ce qui n'est cependant pas incompatible avec la physiologie. En effet, l'action de la PTH sur la réabsorption rénale du calcium ne s'exerce que sur 5 à 15% de la quantité de calcium filtrée par le rein. Dans le cas de cette patiente, la charge filtrée en calcium est très importante, et l'action de la PTH ne permet pas de normaliser la calciurie. Dans une hyperparathyroïdie primitive, on peut donc trouver une calciurie normale ou élevée. On peut dire que pour une calcémie donnée, la calciurie sera plus faible si la PTH est élevée que si la PTH est basse.

On constate par ailleurs un déficit profond en vitamine D chez cette patiente (25OHD à 6 ng/mL) ce qui est banal dans cette pathologie et aggrave la présentation (adénomes plus volumineux, PTH plus élevée). Il est recommandé de donner de la vitamine (prudemment) aux patients ayant une hyperparathyroïdie primitive et une 25OHD sérique <20 ng/mL. Un article récent a même rapporté l'innocuité d'une telle pratique

chez des patients ayant une calcémie < 3 mmol/L. Chez cette patiente, il faudra absolument donner calcium et vitamine D immédiatement après la parathyroïdectomie pour éviter un "hungry bone syndrom", littéralement "os avide de calcium".

CAS N°2

Une femme de 57 ans ménopausée depuis 6 ans, sous traitement hormonal de la ménopause (THM) à bonne dose, a bénéficié d'une ostéodensitométrie du fait de l'existence d'un facteur de risque clinique (fracture de l'extrémité supérieure du fémur survenue chez sa mère alors âgée de 78 ans). Cette densitométrie montre une ostéoporose rachidienne (-2,8 T-score en L1-L4) et une ostéopénie très significative au total du fémur (-2,3 T-score). L'interrogatoire et l'examen clinique ne retrouvent pas d'arguments en faveur d'une anorexie, d'une endocrinopathie, ni de la prise de traitement médicamenteux au long cours responsable de perte osseuse (corticoïdes, héparine). Il n'y a pas non plus d'exposition à une intoxication alcoolique ou tabagique, ni de notion d'alitement prolongé. Elle n'a fait aucune fracture et sa taille par rapport à l'âge de 25 ans est stable à 1,68 m pour 63 kg. Avant toute décision thérapeutique, il est impératif de pratiquer une exploration biologique minimale qui aura pour but d'écarter d'autres causes d'ostéoporose secondaire (une NFS, VS, électrophorèse des protéines, protéinurie des 24 heures pour écarter une pathologie tumorale et une gammopathie monoclonale, un bilan phospho-calcique, une créatininémie et des phosphatases alcalines totales). Chez cette patiente, la calcémie est très discrètement élevée (2,62 mmol/L ; normes 2,20-2,60 mmol/L), la phosphatémie est normale basse (0,82 mmol/L ; normes 0,85-1,40 mmol/L), et la calciurie est normale (3,1 mg/kg/24 heures ; normes : < 4 mg/kg/24 heures). Les autres examens sont par ailleurs normaux.

Même si la calcémie n'est que marginalement élevée, il faut aller au bout de la démarche d'exploration avant d'envisager la question de l'éventuel changement de traitement à visée osseuse. Le premier dosage à faire devant une hypercalcémie modérée est celui de la PTH, mais il ne faut pas le pratiquer isolément et toujours le confronter à la calcémie concomitante que l'on corrigera pour l'albuminémie. Cette calcémie de contrôle montre un calcium total à 2,55 mmol/L et une albuminémie à 36 g/L, donc une calcémie corrigée discrètement élevée à 2,63 mmol/L, associée à un taux de PTH à 54 pg/mL (normes : 10-65 pg/mL). La PTH est donc inadaptée à la calcémie ce qui est en faveur d'une d'hyperparathyroïdie primitive et justifie une

exploration extensive du métabolisme phospho-calcique, à faire dans une unité spécialisée, pour confirmer définitivement ce diagnostic. En effet, compte tenu de l'existence d'une ostéoporose, ce diagnostic fera discuter une chirurgie parathyroïdienne. Le diagnostic de certitude de l'hyperparathyroïdie primitive repose sur l'exploration biologique et il convient, en cas de présentation modérée, d'étayer le diagnostic de manière absolue. Les résultats de l'exploration sont les suivants :

Sang		N
Calcémie ionisée (Ca++) :	1,38 mmol/L	(1,17-1,30 mmol/L)
Calcémie totale :	2,56 mmol/L	(2,20-2,60 mmol/L)
Albuminémie :	37 g/L	
Phosphatémie :	0,83 mmol/L	(0,85-1,40 mmol/L)
PTH :	45 pg/mL	(10-46 pg/mL)
25OH vitamine D :	13 ng/mL	(30-80 ng/mL)
1,25 dihydroxy vitamine D :	58 pg/mL	(15-60 pg/mL)
Ostéocalcine :	28 ng/mL	(14-32 ng/mL)
Cross-Laps :	3900 pmol/L	(700-3000 pmol/L)
Phosphatases alcalines :	72 U/L	(40-130 U/L)

Urines des 24 heures		
Calciurie :	6,1 mmol/24heures	(<6,2 mmol/24h)
	3,9 mg/kg/24 heures	(<4 mg/kg/24h)
Natriurie :	126 mmol/24 heures	(<150 mmol/24h)
Cl créatinine :	82 mL/mn	(80-120 mL/mn)

Urine de Jeûne		
Calcium/créat :	0,40 mmol/mmol	(<0,35)
TRP :	81 %	(85-95%)
TmPi/DFG :	0,73 mmol/L	(0,77-1,45)

Les apports alimentaires en calcium sont évalués à 870 mg/24h.

On retrouve dans cette exploration une hyperparathyroïdie primitive de présentation biologique modérée. En effet, la PTH à la limite supérieure de la normale est toujours inadaptée à la calcémie ionisée et à la calcémie totale corrigée pour l'albumine (2,63 mmol/L) qui sont modérément élevées. Remarquons que si on n'avait dosé que la calcémie totale (sans doser l'albumine) et la PTH, on n'aurait probablement pas retenu le diagnostic, les deux paramètres étant dans la fourchette des normes. Les autres arguments en faveur de l'hyperparathyroïdie primaire, bien que non exclusifs de ce

diagnostic, sont la baisse du TmPi/DFG, la 1,25 dihydroxy vitamine D à la limite supérieure de la normale, l'hypercalciurie de jeûne très modérée, et l'élévation du marqueur de la résorption osseuse (le cross-laps ou CTX sérique). Bien que, dans notre expérience, ces résultats soient très largement en faveur d'une hyperparathyroïdie primitive, nous avons l'habitude de pratiquer un test de charge calcique avant d'adresser les patients au chirurgien. L'insuffisance en vitamine D est par ailleurs un facteur confondant pour le diagnostic (même si la calcémie ionisée élevée est très contre une hyperparathyroïdie secondaire à un déficit en vitamine D) et nous pratiquons le test de charge calcique chez cette patiente environ deux semaines après l'administration d'une ampoule de 100 000 unités de vitamine D3. Le but de cette exploration fonctionnelle est d'observer l'évolution de la PTH sérique lorsque l'on fait monter significativement la calcémie ionisée. Le jour de ce test, la calcémie ionisée est égale à 1,37 mmol/L et la PTH à 49 pg/mL alors que la 25OHD est maintenant à 28 ng/mL. Quatre heures après l'administration de 1 gramme de calcium, la calcémie ionisée est montée à 1,44 mmol/L et la PTH est restée normale haute à 41 pg/mL. Cette absence de freinage de la PTH alors que la calcémie ionisée est franchement au-dessus de la normale confirme le diagnostic d'hyperparathyroïde primitive. L'ostéoporose de cette patiente étant un critère de chirurgie parathyroïdienne, la patiente est alors adressée pour parathyroïdectomie. Un petit adénome de 130 mg est retrouvé. Un an après parathyroïdectomie, sous calcium et vitamine D, sa densité minérale osseuse augmente de 6 % au rachis lombaire.

CAS N°3 :

Une femme de 52 ans bénéficie d'une ostéodensitométrie après une fracture du poignet survenue lors d'un traumatisme minime. Les résultats montrent une ostéoporose rachidienne (-2,7 T-score) et une ostéopénie fémorale (-2,2 T-score). Devant cette ostéoporose un bilan phospho-calcique est pratiqué et montre une hypercalcémie modérée (2,62 mmol/L ; norme : 2,20-2,60 mmol/L), une hypophosphatémie (0,72 mmol/L ; norme : 0,85-1,40 mmol/L) et une calciurie normale (0,7 mg/kg/24h ; norme : <4 mg/kg/24h). Le même bilan est pratiqué de nouveau pour vérification et montre une calcémie normale haute (2,57 mmol/L), une hypophosphatémie (0,74 mmol/L) et une calciurie normale (0,8 mg/kg/24 heures). Un dosage isolé de PTH est alors pratiqué. Le résultat est de 117 pg/mL (norme : 10-65 pg/mL). Devant cette hypercalcémie fluctuante associée à une hypophosphatémie et une PTH élevée, le

diagnostic d'hyperparathyroïdie primitive est très fortement évoqué par le médecin qui adresse la patiente à une unité d'explorations fonctionnelles pour confirmation de ce diagnostic. Les résultats de l'exploration sont les suivants :

Sang		N
Calcémie ionisée (Ca ⁺⁺) :	1,18 mmol/L	(1,17-1,30 mmol/L)
Calcémie totale :	2,54 mmol/L	(2,20-2,60 mmol/L)
Albuminémie :	49 g/L	
Phosphatémie :	0,75 mmol/L	(0,85-1,40 mmol/L)
PTH :	121 pg/mL	(10-46 pg/mL)
25OH vitamine D :	<2,5 ng/mL	(30-80 ng/mL)
1,25 dihydroxy vitamine D :	30 pg/mL	(15-60 pg/mL)
Ostéocalcine :	40 ng/mL	(14-32 ng/mL)
Cross-Laps :	3300 pmol/L	(700-3000 pmol/L)
Phosphatases alcalines :	102 U/L	(40-130 U/L)

Urines des 24 heures		
Calciurie :	1,6 mmol/24heures	(<6,2 mmol/24h)
	1,1 mg/kg/24 heures	(<4 mg/kg/24h)
Natriurie :	96 mmol/24 heures	(<150 mmol/24h)
Cl créatinine :	89 mL/mn	(80-120 mL/mn)

Urine de Jeûne		
Calcium/créat :	0,05 mmol/mmol	(<0,35)
TRP :	79 %	(85-95 %)
TmPi/DFG :	0,63 mmol/L	(0,77-1,45)

Les apports alimentaires en calcium sont évalués à 470 mg/24h

Bien que l'on retrouve une calcémie totale normale haute, une hypophosphatémie et une PTH élevée, on ne retiendra pas le diagnostic d'hyperparathyroïdie primitive. En effet, la calcémie totale est beaucoup moins élevée lorsqu'on la corrige par l'albumine (2,36 mmol/L), et la calcémie ionisée est normale basse. Il existe bien une hyperparathyroïdie (PTH à 121 pg/mL) mais celle-ci est secondaire à une carence en vitamine D (25OHD < 2,5 ng/mL) et des apports calciques alimentaires insuffisants. Le traitement ne sera donc (surtout) pas la parathyroïdectomie, mais l'administration de vitamine D (100 000 U de vitamine D3 tous les 15 jours pendant 2 mois, puis 100 000 U tous les 2-3 mois), et de calcium (1 g/J de calcium "médicament").

On peut remarquer que, bien que la 25OHD sérique soit effondrée, elle n'est pas nulle car la patiente est encore capable de produire des quantités modestes de 1,25 (OH)₂ vitamine D.

CAS N°4

Il s'agit d'un homme de 54 ans qui consulte un rhumatologue pour des douleurs musculaires et osseuses généralisées et une grande fatigue. Ces symptômes sont apparus il y a un an environ et il est actuellement en arrêt de travail. Plusieurs explorations biologiques sont pratiquées parmi lesquelles une électrophorèse des protéines, une protéinurie des 24 heures, une NFS, VS qui sont normales. Le bilan phospho-calcique montre une calcémie normale haute (2,56 mmol/L ; normes : 2,20-2,60 mmol/L), une hypophosphatémie (0,53 mmol/L ; normes : 0,85-1,40 mmol/L) et une calciurie normale (3,3 mg/kg/24 heures ; normes : <4 mg/kg/24 heures). Ces résultats peuvent orienter vers une hyperparathyroïdie primitive, et le patient est adressé à une unité d'explorations fonctionnelles spécialisée pour un bilan extensif dont les résultats sont les suivants :

Sang		N
Calcémie ionisée (Ca ⁺⁺) :	1,24 mmol/L	(1,17-1,30 mmol/L)
Calcémie totale :	2,50 mmol/L	(2,20-2,60 mmol/L)
Albuminémie :	44 g/L	
Phosphatémie :	0,52 mmol/L	(0,85-1,40 mmol/L)
PTH :	28 pg/mL	(10-46 pg/mL)
25OH vitamine D :	25 ng/mL	(30-80 ng/mL)
1,25 dihydroxy vitamine D :	12 pg/mL	(15-60 pg/mL)
Ostéocalcine :	8 ng/mL	(14-32 ng/mL)
Cross-Laps :	3800 pmol/L	(700-3000 pmol/L)
Phosphatases alcalines :	201 U/L	(40-130 U/L)

Urines des 24 heures		
Calciurie :	5,5 mmol/24heures	(<6,2 mmol/24h)
Soit	3,0 mg/kg/24 heures	(<4 mg/kg/24h)
Natriurie :	105 mmol/24 heures	(<150 mmol/24h)
Cl créatinine :	89 mL/mn	(80-120 mL/mn)

Urine de Jeûne

Calcium/créat :	0,24 mmol/mmol	(<0,35)
TRP :	48 %	(85-95%)
TmPi/DFG :	0,38 mmol/L	(0,77-1,45)

Les apports alimentaires en calcium sont évalués à 860 mg/24h.

Il bénéficie par ailleurs d'une mesure de la densité minérale osseuse qui est basse, avec un T-score de -2,9 au rachis et -2,7 à la hanche totale.

L'exploration permet d'éliminer le diagnostic d'hyperparathyroïdie primitive (couple calcium ionisé / PTH "adapté", les valeurs de ces deux paramètres étant proches de la médiane des normes respectives) et permet de conclure à un diabète phosphaté (hypophosphatémie avec TmPi/DFG très bas). La présentation clinique, la DMO basse et les phosphatases alcalines élevées orientent vers une ostéomalacie. Il n'y a pas d'hypercalciurie et la 1,25 dihydroxy vitamine D est normale basse ce qui incite à traiter, en plus du phosphore (phosphoneuros, 50 gouttes 4 fois par jour), par un dérivé 1-hydroxylé de la vitamine D (Rocaltrol, dose 0.25 à 0.50 µg/J). A noter que cette non élévation de la 1,25 (OH)₂D devant cette hypophosphatémie incite à rechercher une tumeur mésoenchymateuse sécrétant une phosphatonine (Les phosphatonines sont des protéines qui inhibent la réabsorption tubulaire du phosphore et la synthèse de 1,25 (OH)₂D. La plus connue est le FGF23 que les laboratoires spécialisés peuvent doser aujourd'hui facilement dans le plasma). Chez ce patient, le traitement chirurgical d'un angiome labial a été suivi d'une régression des symptômes cliniques et biologiques et l'arrêt du phosphore et du Rocaltrol.

On peut remarquer que les cas N° 2, 3, et 4 avaient une présentation biologique initiale très semblable : une calcémie haute ou normale haute mais fluctuante, une phosphatémie basse ou normale basse, et une calciurie normale. Après une exploration extensive du métabolisme phospho-calcique, on a pourtant abouti à 3 diagnostics très différents : une hyperparathyroïdie primitive (traitement = parathyroïdectomie), une carence vitamino-calcique (traitement calcium et vitamine D), et un diabète phosphaté (traitement phosphore et dérivé 1-hydroxylé de la vitamine D).

CAS N°5

Un homme de 40 ans est suivi pour une sarcoïdose à manifestation pulmonaire connue depuis 5 ans et actuellement en rémission sous une corticothérapie modérée à 3 mg/24h. Dans le cadre de la surveillance de cette sarcoïdose, il a bénéficié d'un dosage de calcium dans le sang et dans les urines avec une calcémie élevée à 2,70 mmol/L (N : 2,20-2,60 mmol/L) et une calciurie normale à 150 mg/24h (N : <300 mg/24h). Il est adressé à une unité d'explorations fonctionnelles pour bilan phosphocalcique dans ce contexte de suspicion de rechute de la sarcoïdose. Les résultats sont les suivants :

Sang		N
Calcémie ionisée (Ca ⁺⁺) :	1,50 mmol/L	(1,17-1,30 mmol/L)
Calcémie totale :	2,73 mmol/L	(2,20-2,60 mmol/L)
Albuminémie :	39 g/L	
Phosphatémie :	1,17 mmol/L	(0,85-1,40 mmol/L)
PTH :	68 pg/mL	(10-46 pg/mL)
25OH vitamine D :	6 ng/mL	(30-80 ng/mL)
1,25 dihydroxy vitamine D :	82 pg/mL	(15-60 pg/mL)
Ostéocalcine :	14 ng/mL	(14-32 ng/mL)
Cross-Laps :	2700 pmol/L	(700-3000 pmol/L)
Phosphatases alcalines :	87 U/L	(40-130 U/L)

Urines des 24 heures		
Calciurie :	5,2 mmol/24heures	(<6,2 mmol/24h)
soit	2,9 mg/kg/24 heures	(<4 mg/kg/24h)
Natriurie :	136 mmol/24 heures	(<150 mmol/24h)
Cl créatinine :	82 mL/mn	(80-120 mL/mn)

Urine de Jeûne		
Calcium/créat :	0,06 mmol/mmol	(<0,35)
TRP :	84 %	(85-95 %)
TmPi/DFG :	1,02 mmol/L	(0,77-1,45)

Les apports alimentaires en calcium sont évalués à 870 mg/24h

L'hypothèse logique est donc une récurrence de la sarcoïdose. On attend dans ce cas que l'hypercalcémie soit due à une synthèse de 1,25 dihydroxy vitamine D par les cellules du granulome. En effet, dans la sarcoïdose, l'élévation de la 1,25(OH)₂D augmente l'absorption intestinale du calcium ce qui augmente la calcémie. La conséquence est une

baisse de la PTH, ce qui va diminuer la réabsorption rénale (au niveau du tubule distal) du calcium et donc augmenter la calciurie. La charge filtrée en calcium augmentant, on aboutira à une hypercalcémie. On trouve bien chez ce patient une hypercalcémie et une 1,25(OH)₂D élevée mais on ne retiendra pas ce diagnostic. La PTH est en effet élevée, et donc inadaptée à la calcémie, ce qui est incompatible avec le diagnostic de récurrence de la sarcoïdose (dans ce cas la sécrétion de PTH serait freinée) et oriente vers une hyperparathyroïdie primitive associée. Ici, l'élévation de la 1,25(OH)₂D est due à l'action de la PTH. On n'a par ailleurs pas d'hypercalciurie, pourtant l'autre signe biologique attendu. Conjointement, il n'y a aucune aggravation de l'état pulmonaire et le dosage de l'enzyme de conversion est normal.

CAS N°6

Une femme de 50 ans est vue par un endocrinologue pour fatigue et perte d'appétit avec perte de poids (perte de 7 kg en 6 mois). Les explorations biologiques montrent une hypercalcémie à 3,02 mmol/L (N : 2,20-2,60 mmol/L) et une TSH normale. L'électrophorèse des protéines, la protéinurie des 24 heures, la NFS sont normales. Elle est adressée en urgence pour un bilan phospho-calcique extensif dans une unité d'explorations fonctionnelles. Les résultats sont les suivants :

Sang		N
Calcémie ionisée (Ca ⁺⁺) :	1,56 mmol/L	(1,17-1,30 mmol/L)
Calcémie totale :	3,07 mmol/L	(2,20-2,60 mmol/L)
Albuminémie :	42 g/L	
Phosphatémie :	1,29 mmol/L	(0,85-1,40 mmol/L)
PTH :	2 pg/mL	(10-46 pg/mL)
25OH vitamine D :	23 ng/mL	(30-80 ng/mL)
1,25 dihydroxy vitamine D :	21 pg/mL	(15-60 pg/mL)
Ostéocalcine :	33 ng/mL	(14-32 ng/mL)
Cross-Laps :	3700 pmol/L	(700-3000 pmol/L)
Phosphatases alcalines :	82 U/L	(40-130 U/L)
TSH :	2,54 mU/L	(0,50-4,50 mU/L)

Urines des 24 heures		
Calciurie :	12 mmol/24heures	(<6,2 mmol/24h)
soit	8,1 mg/kg/24 heures	(<4 mg/kg/24h)
Natriurie :	56 mmol/24 heures	(<150 mmol/24h)
Cl créatinine :	72 mL/mn	(80-120 mL/mn)

Urine de Jeûne		
Calcium/créat :	0,63 mmol/mmol	(<0,35)
TRP :	96 %	(85-95%)

Les apports alimentaires en calcium sont évalués à 550 mg/24h

Sur cette exploration on élimine rapidement une hyperparathyroïdie primitive (PTH effondrée). On se trouve donc en présence d'une hypercalcémie "non parathyroïdienne" dont il faut trouver la cause.

Sur les résultats et sur l'interrogatoire, on peut éliminer :

- une hyperthyroïdie (TSH normale)
- une sarcoïdose ou autre granulomatose (1,25 dihydroxy vitamine D normale)
- une intoxication à la vitamine D (25 hydroxy vitamine D plutôt insuffisante)
- une hypercalcémie d'immobilisation
- une prise de médicaments comme des diurétiques thiazidiques
- des apports calciques alimentaires excessifs (elle ne prend pas non plus de suppléments)

La normalité de la NFS, de l'électrophorèse et de la protéinurie sont contre un myélome ou une autre pathologie tumorale, de même que la phosphatémie et le TRP plutôt élevés sont contre une production tumorale de PTHrP

En fait, chez cette patiente, c'est l'interrogatoire fait le jour de l'exploration fonctionnelle qui avait permis le diagnostic. Elle déclarait ne pas prendre de médicament, mais en cherchant avec elle tous les produits qu'elle pouvait éventuellement prendre, elle a annoncé qu'elle prenait depuis plusieurs mois des pastilles Rennie (anti-acide) en quantité importante (2 à 3 plaquettes par jour, une plaquette = 12 comprimés ; un comprimé = 680 mg de carbonate de calcium). Elle avait donc ce que les américains appellent le "milk-alkali syndrom".

Cas N°7

Une femme de 57 ans consulte après une crise de tétanie. Elle se plaint de fourmillements fréquents. L'examen et l'interrogatoire mettent en évidence un alcoolisme chronique. Une hypocalcémie à 2,04 mmol/L (normes (2,20-2,60 mmol/L) est retrouvée. Une exploration phospho-calcique extensive donne les résultats suivants.

Sang		N
Calcémie ionisée (Ca++) :	0,94 mmol/L	(1,17-1,30 mmol/L)
Calcémie totale :	1,96 mmol/L	(2,20-2,60 mmol/L)
Albuminémie :	45 g/L	
Phosphatémie :	1,64 mmol/L	(0,85-1,40 mmol/L)
Magnésémie :	0,38	(0,70-0,90 mmol/L)
PTH :	3 pg/mL	(10-46 pg/mL)
25OH vitamine D :	16 ng/mL	(30-80 ng/mL)
1,25 dihydroxy vitamine D :	10 pg/mL	(15-60 pg/mL)
Ostéocalcine :	11 ng/mL	(14-32 ng/mL)
Cross-Laps :	1100 pmol/L	(700-3000 pmol/L)
Phosphatases alcalines :	61 U/L	(40-130 U/L)
TSH :	2,10 mU/L	(0,50-4,50 mU/L)

Urines des 24 heures

Calciurie :	5,7 mmol/24heures	(<6,2 mmol/24h)
	3,2 mg/kg/24 heures	(<4 mg/kg/24h)
Natriurie :	102 mmol/24 h	(<150 mmol/24h)
Cl créatinine :	81 mL/mn	(80-120 mL/mn)

Urine de Jeûne

Calcium/créat :	0,20 mmol/mmol	(<0,35)
TRP :	97%	(85-95%)

Les apports calciques alimentaires sont évalués à 610 mg/jour.

La PTH basse devant cette hypocalcémie, identifiée à la fois sur le calcium ionisé et sur la calcémie totale après correction par l'albumine (1,86 mmol/L) permet de poser le diagnostic d'hypoparathyroïdie. L'hyperphosphatémie avec TRP modérément élevé conforte le diagnostic. Parmi les différentes étiologies de l'hypoparathyroïdie, on exclut les suites d'une chirurgie thyroïdienne et on retient une hypomagnésémie chronique que l'on traitera par de fortes doses de magnésium.

CAS N°8

Une femme de 46 ans non ménopausée, consulte après une fracture du poignet rapportée à une ostéoporose (DMO au rachis -2.8 T score). Elle pèse 46 kg pour une taille de 1.69 m. Elle n'a aucun facteur de risque d'ostéoporose en dehors d'un indice de masse corporelle bas. La seule anomalie retrouvée à l'interrogatoire est une diarrhée chronique. Une exploration complète du métabolisme retrouve les résultats suivants :

Sang		N
Calcémie ionisée (Ca ⁺⁺) :	1,06 mmol/L	(1,17-1,30 mmol/L)
Calcémie totale :	2,02 mmol/L	(2,20-2,60 mmol/L)
Albuminémie :	41 g/L	
Phosphatémie :	0,71 mmol/L	(0,85-1,40 mmol/L)
PTH :	177 pg/mL	(10-46 pg/mL)
25OH vitamine D :	<3 ng/mL	(30-80 ng/mL)
1,25 dihydroxy vitamine D :	16 pg/mL	(15-60 pg/mL)
Ostéocalcine :	28 ng/mL	(14-32 ng/mL)
Cross-Laps :	3300 pmol/L	(700-3000 pmol/L)
Phosphatases alcalines :	143 U/L	(40-130 U/L)

Urines des 24 heures		
Calciurie :	0,8 mmol/24heures	(<6,2 mmol/24h)
soit	0,69 mg/kg/24 heures	(<4 mg/kg/24h)
Natriurie :	87 mmol/24 heures	(<150 mmol/24h)
Cl créatinine :	91 mL/mn	(80-120 mL/mn)

Urine de Jeûne		
Calcium/créat :	0,02 mmol/mmol	(<0,35)
TRP :	75 %	(85-95%)
TmPi/DFG :	0,58 mmol/L	(0,77-1,45)

Les apports alimentaires en calcium sont évalués à 870 mg/24h

Cette exploration retrouve une carence en vitamine D profonde avec réponse parathyroïdienne. Une cause de malabsorption est recherchée. Une intolérance au gluten, suspectée par des anticorps anti-endomysium très positifs, est confirmée par le gastro-entérologue à qui la patiente est adressée.

CAS N°9

Il s'agit d'une femme de 61 ans, pesant 53 kg, avec deux épisodes récents d'hydarthrose du genou gauche. Les radiographies ont montré un fin liseré cernant les deux ménisques du genou gauche faisant porter le diagnostic de chondrocalcinose. L'exploration minimale du métabolisme phosphocalcique réalisée devant la découverte de cette ostéoporose met en évidence une hypercalciurie : 350 mg/24H. Voici l'exploration complète qui est réalisée

Sang		N
Calcémie ionisée (Ca++) :	1,28 mmol/l	(1,19-1,30)
Calcémie totale :	2,44 mmol/l	(2,25-2,60)
Albuminémie :	44 g/L	
PO4 :	1,36 mmol/l	(0,80-1,45)
PTH :	9 pg/ml	(10-65)
25 OH vitamine D :	180 ng/ml	(30-80)
1,25 dihydroxy vitamine D :	25 pg/ml	(15-55)
Créatinine :	64 µmol/l	(50-115)
Mg :	0,82 mmol/l	(0,70-0,90)

Urines des 24 heures		
Calciurie (mg/24h) :	470	(<250)
Cl. Creat :	67 ml/mn	
Na (mmol/24 h) :	88	

Urines de jeûne		
Calcium / Créat :	0,47	(<0.35)
TRP :	97 %	(84-95)

Le diagnostic de surcharge en vitamine D est retenu avec un taux de vitamine D à 180 ng/ml et la constatation d'un taux de parathormone freiné, probablement par une tendance hypercalcémique intermittente non constatée sur ce bilan.

L'explication de cette surcharge en vitamine D chez cette femme de 61 ans est retrouvée aisément par l'interrogatoire. Il s'agissait d'une femme suivie pour une sclérose en plaque et dont la sœur, pharmacienne, ayant lu qu'il y avait moins de poussée de sclérose en plaque chez les patients ayant des stocks en vitamine D satisfaisants, lui a fait prendre plusieurs ampoules de vitamine D à 100 000 unités (12 en un mois). La chondrocalcinose du genou est isolée, on ne trouve aucun autre liseré (bassin, épaules, mains, hanches), et s'explique par un traumatisme ancien.

Les marqueurs biologiques du remodelage osseux

CHAPITRE V

Comme nous l'avons déjà évoqué précédemment, l'os est un tissu en perpétuel renouvellement. Le remodelage osseux est un processus complexe au cours duquel de l'os "ancien" est résorbé et remplacé par de l'os "nouveau" sous l'action couplée des ostéoclastes, responsables de la destruction osseuse (ou résorption) et les ostéoblastes, responsables de la formation osseuse. La perte osseuse associée à la ménopause, au vieillissement ou à certaines pathologies est obligatoirement due à une balance négative entre l'activité ostéoclastique et l'activité ostéoblastique (c'est-à-dire que la résorption excède la formation) et ce phénomène est amplifié par la fréquence d'activation des unités de remodelage. Le remodelage osseux peut aujourd'hui être évalué de manière simple et non invasive par différents paramètres biologiques. Ces marqueurs du remodelage osseux peuvent être un composant de la matrice osseuse libéré dans la circulation lors de la formation ou lors de la résorption osseuse ou une activité enzymatique spécifique des ostéoblastes ou des ostéoclastes. Les marqueurs osseux sont traditionnellement classés en marqueurs de la formation ou en marqueurs de la résorption ([tableau 1](#)) car ils représentent plus spécifiquement l'une ou l'autre des deux activités cellulaires osseuses. Il faut toutefois souligner que la formation et la résorption osseuse sont deux phénomènes étroitement couplés et que donc, en dehors de quelques situations particulières où ce couplage n'existe plus (comme dans l'ostéoporose cortisonique par exemple), les marqueurs osseux, qu'ils soient de formation ou de résorption, représentent le remodelage osseux dans son ensemble. Bien que les marqueurs du remodelage osseux peuvent être utiles dans l'investigation clinique de différentes maladies osseuses, leur intérêt a surtout été étudié dans l'ostéoporose post-ménopausique.

Les différents marqueurs du remodelage osseux

Tableau 6 : Marqueurs biochimiques du remodelage osseux

En gras sont indiqués les marqueurs les plus performants et les mieux validés pour le suivi thérapeutique dans l'ostéoporose.

FORMATION	RÉSORPTION
Sérum <ul style="list-style-type: none">- Ostéocalcine- Phosphatase alcaline (PAL) totale et osseuse (PAL osseuse) Propeptides C et N-terminaux du collagène de type I (PICP et PINP)	Plasma/sérum <ul style="list-style-type: none">- Phosphatase acide résistante à l'acide tartrique (TRACP 5b)- Télopeptides N (NTX) et C (CTX)-terminaux du collagène de type I Urine <ul style="list-style-type: none">- Pyridinoline (PYD) et déoxypyridinoline (DPD) libres et totales- Télopeptides N (NTX) et C-terminaux (CTX) du collagène de type I- Peptide Hélicoïdal de la chaîne alpha I du collagène de type I- Calciurie-Hydroxyprolinurie-Galactosylhydroxylysine- Fragments de l'ostéocalcine

Marqueurs de la formation osseuse

La phosphatase alcaline totale et son isoenzyme osseuse

La phosphatase alcaline (PAL) est une enzyme synthétisée notamment par les ostéoblastes. Au niveau du tissu osseux, son rôle biologique n'est pas encore clairement établi, mais il semblerait qu'elle joue un rôle prépondérant dans les processus de minéralisation osseuse. L'ALP est une ectoenzyme, localisée à l'extérieur de la membrane cellulaire, lieu probable de son action. Elle hydrolyse les esters de phosphate utilisables pour la minéralisation, ainsi que les pyrophosphates qui agissent comme des inhibiteurs de la minéralisation. Enfin, elle facilite le transport du phosphore par son activité phosphotransférase. Parmi les différents tissus exprimant la PAL, le

foie et l'os sont les principales sources de la PAL circulante. La PAL d'origine intestinale peut toutefois contribuer de manière significative à la concentration sérique totale chez certains patients non à jeun et la PAL placentaire est retrouvée chez la femme enceinte. Dans le sérum, la phosphatase alcaline osseuse (PAL osseuse) existe sous trois isoformes B1, B2 et B3, la dernière étant très minoritaire. Les formes B1 et B2 peuvent être séparées par méthode HPLC, mais l'intérêt clinique de la mesure de l'une ou l'autre forme n'a pas été démontrée.

De manière pratique, c'est donc la séparation des isoenzymes osseux (B1/2/3) et hépatique qui est importante. Ces deux isoenzymes sont codées par le même gène situé sur le chromosome 1. Le produit de ce gène est une protéine de 507 acides aminés qui subit des glycosylations post-traductionnelles. Pour l'isoenzyme osseux la partie glucidique représente approximativement un tiers de sa masse moléculaire ce qui la différencie de l'ALP hépatique. L'activité totale mesurée au niveau sérique qui représente la somme des activités ALP provenant de l'os et du foie est généralement mesurée par hydrolyse du para-nitro-phényl. Son activité augmente avec l'âge, en particulier chez la femme après la ménopause, mais elle manque de sensibilité et de spécificité dans les situations pathologiques caractérisées par de modestes changements dans la formation osseuse, telle que l'ostéoporose. L'utilisation actuelle se limite, outre le diagnostic des atteintes hépatiques, au diagnostic et au suivi de la maladie de Paget qui s'accompagne d'une très nette élévation de l'activité totale de l'ALP. Elle peut être aussi utilisée, contrairement à l'ostéocalcine, en néphrologie et en hémodialyse car son élimination n'est pas rénale. En raison de son manque de spécificité et de sensibilité dans l'ostéoporose, on préférera donc doser de façon plus spécifique l'isoenzyme osseuse. Plusieurs méthodes existent pour différencier les isoenzymes osseuses et hépatiques, en particulier des méthodes de séparation par électrophorèse ou précipitation des différentes isoenzymes sériques. Les progrès les plus significatifs concernant ce dosage, sont venus du développement d'anticorps monoclonaux reconnaissant spécifiquement l'isoenzyme osseuse, ce qui a permis la mise au point d'immunodosages spécifiques de la PAL osseuse. Il faudra garder à l'esprit néanmoins que ces dosages présentent une réactivité croisée de 15 à 20% avec l'isoenzyme hépatique. Il existe des dosages ELISA manuels et automatisés utilisant un seul anticorps et mesurant l'activité de la PAL osseuse et un dosage radioimmunologique (également adapté sur automate d'immunoanalyse) utilisant deux anticorps en "sandwich" et mesurant la quantité de l'isoenzyme. D'un point de vue clinique ces différents dosages ont montré des performances similaires.

L'ostéocalcine sérique

Les ostéoblastes synthétisent de nombreuses protéines non collagéniques incorporées dans la matrice osseuse. La séquence de certaines protéines contient des résidus d'acide gamma carboxyglutamique (Gla) résultant d'une modification post-traductionnelle des résidus glutamates opérée par une gammacarboxylase vitamine K dépendante. Cette modification donne naissance aux Gla-protéines. L'ostéocalcine (OC) est la Gla-protéine quantitativement la plus importante. Cette protéine acide monomérique de 49 acides aminés (masse moléculaire de 5700 Da) comporte 3 résidus glutamates carboxylés en position 17, 21, et 24. Le gène codant pour l'OC est situé sur le chromosome 1. L'OC est une protéine synthétisée presque exclusivement par l'ostéoblaste. Les propriétés biologiques de cette protéine ne sont pas encore connues avec précision. En raison de la haute affinité du Gla pour le calcium, il a été suggéré que l'OC pourrait jouer un rôle dans la minéralisation osseuse. Cependant, ceci est peu probable, puisqu'il a été montré que des souris transgéniques dont le gène codant pour l'OC a été invalidé, ne présentaient pas de modifications significatives de la minéralisation osseuse. Le phénotype de ces souris révélait même une augmentation progressive de la masse osseuse, suggérant ainsi d'autres propriétés biologiques pour l'OC telles la régulation de la maturation ostéoblastique et du remodelage osseux.

Une fois sécrétée par l'ostéoblaste, l'OC est incorporée majoritairement à la matrice osseuse, mais une fraction de celle-ci passe dans la circulation sanguine. L'OC sérique est rapidement métabolisée, la durée de vie est très courte et l'élimination rénale rapide. Dans la circulation, l'OC existe sous différentes formes immunologiques et notamment la molécule intacte (acides aminés : 1-49) et un produit de dégradation majoritaire (acides aminés : 1-43) appelé fragment "N-Mid" ou "N-terminal médian". Il existe de nombreux dosages de l'ostéocalcine qui utilisent des anticorps monoclonaux ou polyclonaux dirigés contre des séquences différentes de l'ostéocalcine. On a l'habitude de distinguer les dosages reconnaissant exclusivement la molécule intacte de ceux mesurant la molécule intacte et le fragment 1-43 (dosage de l'ostéocalcine totale). Il est important de noter qu'après quelques heures d'incubation à température ambiante d'échantillons sériques, une fraction significative de l'OC intacte est convertie en fragment N-Mid. Ceci entraîne une perte importante d'immunoréactivité lorsque l'OC est mesurée par les dosages de l'ostéocalcine intacte. Aussi d'un point de vue pratique, la mesure simultanée de la molécule intacte et du fragment N-terminal-Mid par des dosages de l'ostéocalcine totale, est donc préconisée. Le dosage de l'ostéocalcine

intacte nécessite de congeler les prélèvements sérique dans les 2 heures suivant le prélèvement et ne sont recommandés que dans des situations très particulières comme par exemple en cas d'insuffisance rénale modérée (car le fragment N-mid peut s'accumuler dans le sérum et entraîner des problème d'interprétation)

Les propeptides du collagène de type I.

Le collagène de type I est le collagène retrouvé majoritairement dans l'os. Il est synthétisé sous la forme d'un précurseur, le procollagène, qui comprend le collagène de type I mature qui fera partie intégrante de la matrice osseuse et les propeptides N (PINP) et C-terminaux (PICP) aux deux extrémités. Après l'assemblage en triple hélice et les modifications post-traductionnelles, la molécule de procollagène est transférée du site de synthèse vers la matrice extracellulaire par exocytose. Dans le milieu extracellulaire, interviennent des protéases qui clivent les propeptides N et C terminaux. Les PINP et PICP sont donc des entités moléculaires libérées après protéolyse. Le PINP comporte un domaine globulaire, une zone hélicoïdale et une zone linéaire. Il a un poids moléculaire de 35 kDa. Le PICP ne comporte quant à lui qu'un domaine globulaire avec des chaînes latérales oligosaccharidiques riches en mannose. Dans la matrice osseuse, le rôle biologique de ces propeptides n'est pas connu clairement, mais ils sembleraient jouer un rôle essentiel dans la formation des fibrilles de collagène. Une fois libérées, ces molécules gagnent le milieu interstitiel puis la circulation sanguine. Le PINP circulant est présent sous différentes formes immunoréactives: le PINP intact sous forme native trimérique, le PINP intact sous forme monomère et des fragments de dégradation. Il a été montré que les dosages reconnaissant la forme intacte (trimère ou monomère) du PINP sont beaucoup plus sensibles pour évaluer la formation osseuse que les dosages reconnaissant les fragments de dégradation du PINP ou la mesure du PICP. Le PINP et le PICP sont excrétés par le foie et non par le rein contrairement à l'ostéocalcine. Ils sont toutefois captés au niveau des cellules endothéliales du foie par des récepteurs différents, le récepteur "scavenger" pour le PINP et le récepteur du mannose pour le PICP. Ces mécanismes différents de clairance pourraient expliquer la meilleure sensibilité du PINP par rapport au PICP.

D'un point de vue pratique on privilégiera donc le dosage du PINP intact (disponible en RIA et en méthode automatisée), qui constitue le marqueur de choix pour suivre l'efficacité des traitements stimulant la formation osseuse comme la PTH.

Les Marqueurs de la résorption osseuse

Le calcium urinaire

Longtemps utilisé comme marqueur de la résorption osseuse, le calcium urinaire dosé sur 24 heures ou dans les premières urines du matin et corrigé par la créatinine urinaire, est pratiquement abandonné aujourd'hui, en raison de son manque de sensibilité et de spécificité. La mesure de la calciurie est toutefois très importante dans le cadre de l'exploration du métabolisme phospho-calcique (voir chapitres précédents).

L'hydroxyprolinurie

La résorption osseuse a été évaluée pendant de nombreuses années par le dosage urinaire de l'hydroxyproline libre et totale réalisés par des méthodes colorimétriques ou par HPLC. En effet l'hydroxyproline est un acide aminé qui est presque exclusivement retrouvé dans le collagène, où il représente approximativement 13% des acides aminés. Il résulte de l'hydroxylation post-traductionnelle des résidus proline. Après dégradation des collagènes tissulaires, il est libéré dans la circulation sanguine sous forme libre pour 90%. Cette fraction libre ne peut être réutilisée pour la synthèse de novo du collagène. Au niveau rénal, la presque totalité de l'hydroxyproline libre est réabsorbée. La concentration urinaire totale d'hydroxyproline représente donc seulement 10% du catabolisme du collagène. En raison du remodelage important du collagène osseux comparativement aux autres collagènes tissulaires, une grande partie du pool urinaire de l'hydroxyproline provient du catabolisme du collagène osseux. Cependant, cette spécificité osseuse est toute relative, puisque certaines molécules et notamment la fraction C1q du complément participent pour une part non négligeable (jusqu'à 40%) au pool urinaire. L'hydroxyproline étant un constituant normal de la gélatine, son dosage urinaire impose des restrictions diététiques. Toutes ces raisons peuvent expliquer la faible corrélation entre les mesures histomorphométriques de la résorption osseuse et l'excrétion urinaire de l'hydroxyproline. Son dosage comme marqueur de la résorption osseuse est aujourd'hui abandonné au profit des dosages des télépeptides du collagène de type I qui sont beaucoup plus spécifiques.

Les molécules de pontage du collagène et leurs télopeptides associés

La molécule de collagène de type I retrouvée dans la matrice osseuse est constituée d'une région en triple hélice (association de 2 chaînes alpha 1 et d'une chaîne alpha 2) et de domaines linéaires aux deux extrémités appelées télopeptide N et C-terminaux (figure 6). C'est au niveau de ces télopeptides qu'ont lieu les processus de maturation extracellulaire du collagène appelés pontage (figure 6). Au niveau du tissu osseux, il existe essentiellement trois molécules de pontages appelé pyridinoline (PYD), désoxypyridinoline (DPD) et pyrrole. Seul le dosage fiable de PYD et DPD est aujourd'hui possible. La détermination de la PYD et de DPD s'est avérée constituer un marqueur capable de refléter de façon sensible et spécifique le processus de résorption osseuse. Si la PYD est présente dans de nombreux tissus comme le cartilage, l'os, les vaisseaux sanguins, les ligaments, l'intestin et le muscle, la DPD a une distribution tissulaire plus restreinte et elle est présente en quantité importante uniquement dans le tissu osseux. Au cours de la dégradation du collagène, ces molécules de pontage sont libérées dans la circulation, puis ultérieurement excrétées dans les urines sous forme libre (40% environ) et sous forme conjuguée à des fragments peptidiques des N et C-télopeptides appelés respectivement NTX et CTX (60% environ de l'excrétion totale) (figure 6). Le tissu osseux étant le siège d'un remodelage intense, la majorité des molécules de pontage retrouvées dans les urines provient de l'os. Cependant, dans certaines situations pathologiques, on ne peut exclure la participation éventuelle d'autres tissus, en particulier du cartilage (par exemple dans l'arthrose et la polyarthrite rhumatoïde) ou des muscles, au pool urinaire des de PYD. Les méthodes de dosage développées initialement reposent sur la détermination par HPLC des formes libres et conjuguées après hydrolyse urinaire, mais également des formes libres en omettant l'étape d'hydrolyse.

La difficulté de mise en œuvre des techniques HPLC a rendu nécessaire le développement de méthodes analytiques mieux adaptées aux dosages en routine telles que les méthodes immunoenzymatiques. La production d'anticorps dirigés contre les formes libres de PYD et de DPD ont donné lieu au développement de deux trousse: Ppyrilinks™ et Ppyrilinks-D™ dosant respectivement les formes libres de PYD et de DPD. Les anticorps de ces trousse ne reconnaissent que les formes libres. Les molécules de pontage étant excrétées majoritairement sous leur forme peptidique, d'autres méthodes analytiques pour évaluer les dérivés peptidiques retrouvées dans les urines et le sérum ont été développées permettant le dosage des télopeptides N (NTX) et C (CTX et ICTP) terminaux du collagène de type I (figure 6).

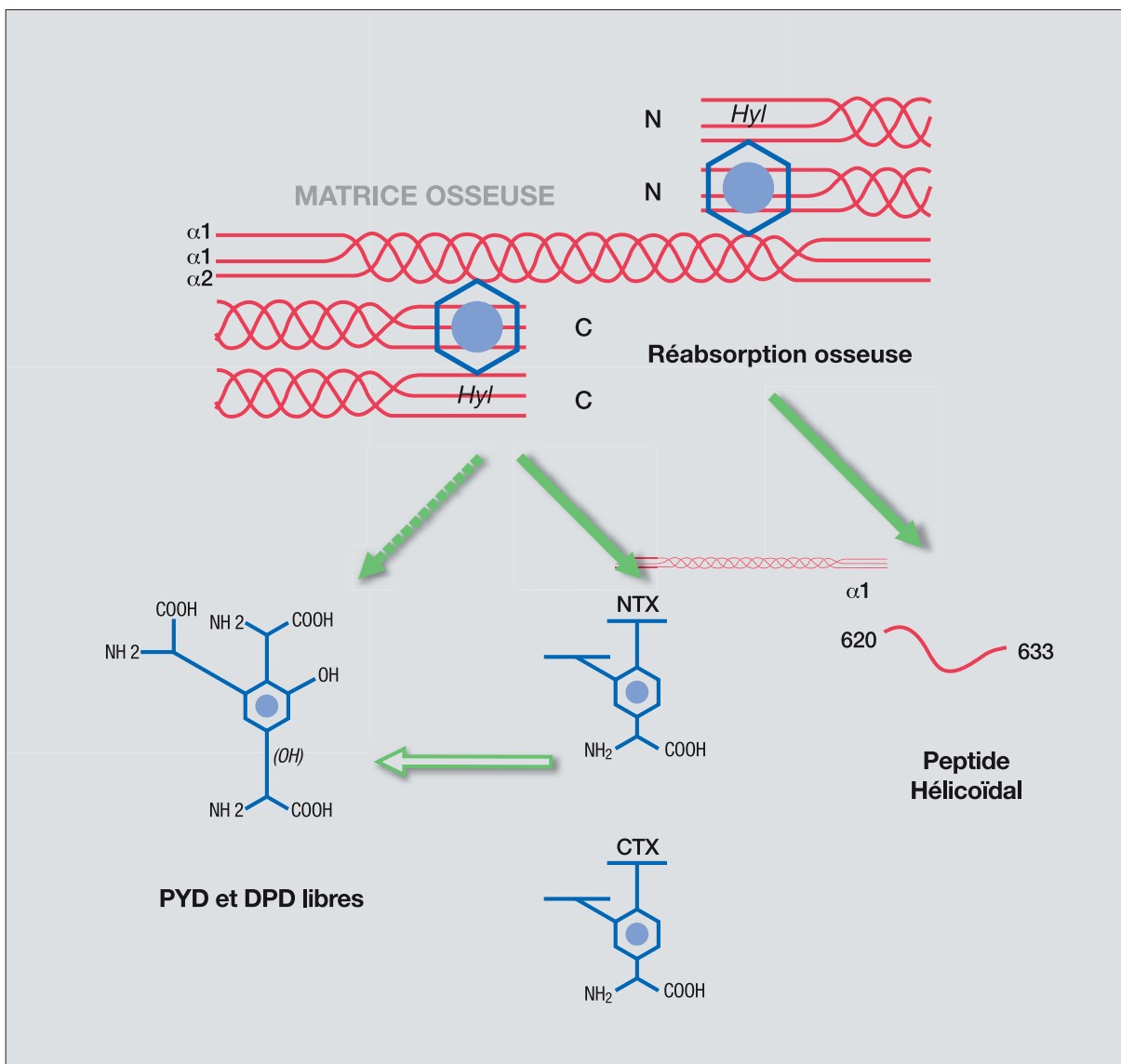


Figure 6 : Fragments du collagène de type I: Marqueurs spécifiques de la résorption osseuse.

Dans la matrice osseuse, les molécules de collagène de type I (formées par l'association en triple hélice de 2 chaînes alpha 1 et d'une chaîne alpha 2) sont liées entre elles par des molécules de pontage [pyridinoline (PYD) et désoxypyridinoline (DPD)] au niveau des télopeptides amino (N) et carboxy (C) terminaux. La pyridinoline se différencie de la désoxypyridinoline par la présence d'un groupement hydroxyle (OH) représenté en italique sur le schéma. Ces molécules assurent la stabilité des fibres de collagène au sein de la matrice osseuse. Au cours de la résorption ostéoclastique de la matrice osseuse, des fragments du collagène provenant soit des télopeptides (CTX, NTX) soit de la région hélicoïdale (peptide α1: 620-633) sont libérés dans la circulation et excrétés dans les urines. Une partie des peptides de la pyridinoline est secondairement dégradée en PYD et DPD libres au niveau du rein. Des dosages immunologiques reconnaissant de façon spécifique et différentielle la PYD libre, la DPD libre et les peptides CTX, NTX et hélicoïdal dans les urines ou le sérum sont commercialement disponibles et inscrits à la nomenclature.

Plusieurs études indiquent que les dosages des fragments du collagène de type I décrits ci-dessus se comportent de manières différentes en fonction des situations cliniques. En effet, alors que la concentration sérique et urinaire de NTX et de CTX augmente de manière importante après la ménopause et diminue rapidement quel que soit le traitement antirésorbant (par hormonothérapie ou par bisphosphonate), l'excrétion urinaire de DPD libre et la concentration sérique de ICTP varient peu chez les femmes ostéoporotiques et sous traitement par bisphosphonate. En revanche, la concentration d' ICTP est fortement élevée chez les patients présentant des métastases osseuses ou chez des patients atteints de polyarthrite rhumatoïde. Il est probable que ces différences de comportement entre les différents marqueurs de la dégradation du collagène de type I s'expliquent par le fait qu'ils sont libérés de la matrice osseuse par des mécanismes enzymatique distincts. Ainsi, il a été montré que le NTX et CTX résultent de l'action de la cathepsine K (une enzyme collagénolytique sécrétée de manière spécifique par les ostéoclastes), alors que l'ICTP est libéré par les métalloprotéases matricielles qui jouent un rôle majeur dans l'invasion métastatique et qui sont produites de manière abondante notamment par les ostéoblastes. De plus il a été montré que l'épitope reconnu par l'anticorps utilisé dans le dosage du ICTP était détruit par la cathepsine K, ce qui se traduit par une diminution des taux de ICTP lorsque cette enzyme ostéoclastique est très active.

Enfin, un dosage reconnaissant un fragment de la triple hélice du collagène de type I a été plus récemment décrit (peptide hélicoïdal), mais l'intérêt clinique de ce marqueur reste à être démontré.

Formes isomères du C-télopeptide du collagène de type I

Les marqueurs biologiques décrits ci-dessus apportent des informations sur les modifications quantitatives du remodelage osseux. L'identification de marqueurs biologiques reflétant des altérations qualitatives de la matrice osseuse est susceptible d'apporter des informations complémentaires sur les déterminants de la fragilité osseuse. Le collagène de type I, constituant organique majoritaire de la matrice osseuse, est le siège de plusieurs modifications post-traductionnelles spontanées ou dépendantes d'un processus enzymatique. Des études biochimiques comparant des pièces osseuses de patients ostéoporotiques et de sujets sains ont montré des altérations de ces processus avec notamment, une hyper-hydroxylation des résidus de lysine et des modifications de la concentration de certaines molécules de pontage du

collagène, altérations pouvant être associées à des modifications de la résistance mécanique. L'isomérisation des résidus d'acide aspartique est une autre modification post-traductionnelle spontanée qui a été mise en évidence au cours du processus de vieillissement des matrices extracellulaires et notamment au niveau des CTX. Ainsi, lorsque le collagène de type I est nouvellement synthétisé, la liaison peptidique entre l'acide aspartique (Asp) et la glycine adjacente fait intervenir le groupement COOH terminal de l'Asp. Lors de la maturation du collagène dans la matrice osseuse il existe une conversion spontanée de cette forme native appelée α CTX vers sa forme isomérisée (β CTX qui est la forme mesurée par les dosages classiques Crosslaps sérique et urinaire) qui se traduit par un transfert de la liaison peptide du groupe COOH en position α de l'Asp vers le groupe COOH en position β (figure 7).

Ces modifications du degré d'isomérisation du collagène osseux peuvent être détectées in vivo par le dosage urinaire des produits de dégradation des formes native (α CTX) et isomérisée (β CTX). Dans la maladie de Paget, qui se caractérise par une augmentation intense du remodelage osseux (formation et résorption) dans des zones localisées du squelette où le tissu est anormal (os "tissé"), une diminution du degré d'isomérisation du collagène dans les foyers pagétiques a été montrée. Ce défaut d'isomérisation du collagène se traduit par une excrétion urinaire plus importante de la forme α CTX que β CTX. Une augmentation préférentielle de la forme α CTX par rapport à la forme β CTX a aussi été rapportée chez des patients porteurs de métastases osseuses d'origine mammaire ou prostatique. Dans l'étude prospective OFELY (Os des Femmes de Lyon, étude de cohorte chez des femmes de 30 à 90 ans), nous avons montré qu'un rapport urinaire α/β CTX augmenté était associé à un risque accru de fractures ostéoporotiques de manière indépendante du niveau de densité minérale osseuse et de l'activité globale de remodelage osseux évaluée par les marqueurs biologiques de la formation ou de la résorption osseuse. Ces données suggèrent que les modifications post-traductionnelles du collagène jouent un rôle important dans le déterminisme de la fragilité osseuse et que la mesure du rapport urinaire α/β CTX pourrait représenter un index biologique des altérations qualitatives de la matrice osseuse.

En pratique clinique, on retiendra que les marqueurs télopeptidiques du collagène de type I (NTX urinaire et β CTX sérique ou urinaire) sont aujourd'hui les plus performants pour évaluer la résorption osseuse et sa modulation thérapeutique dans l'ostéoporose postménopausique. Le dosage de l'excrétion urinaire de α CTX (α Crosslaps) pourrait

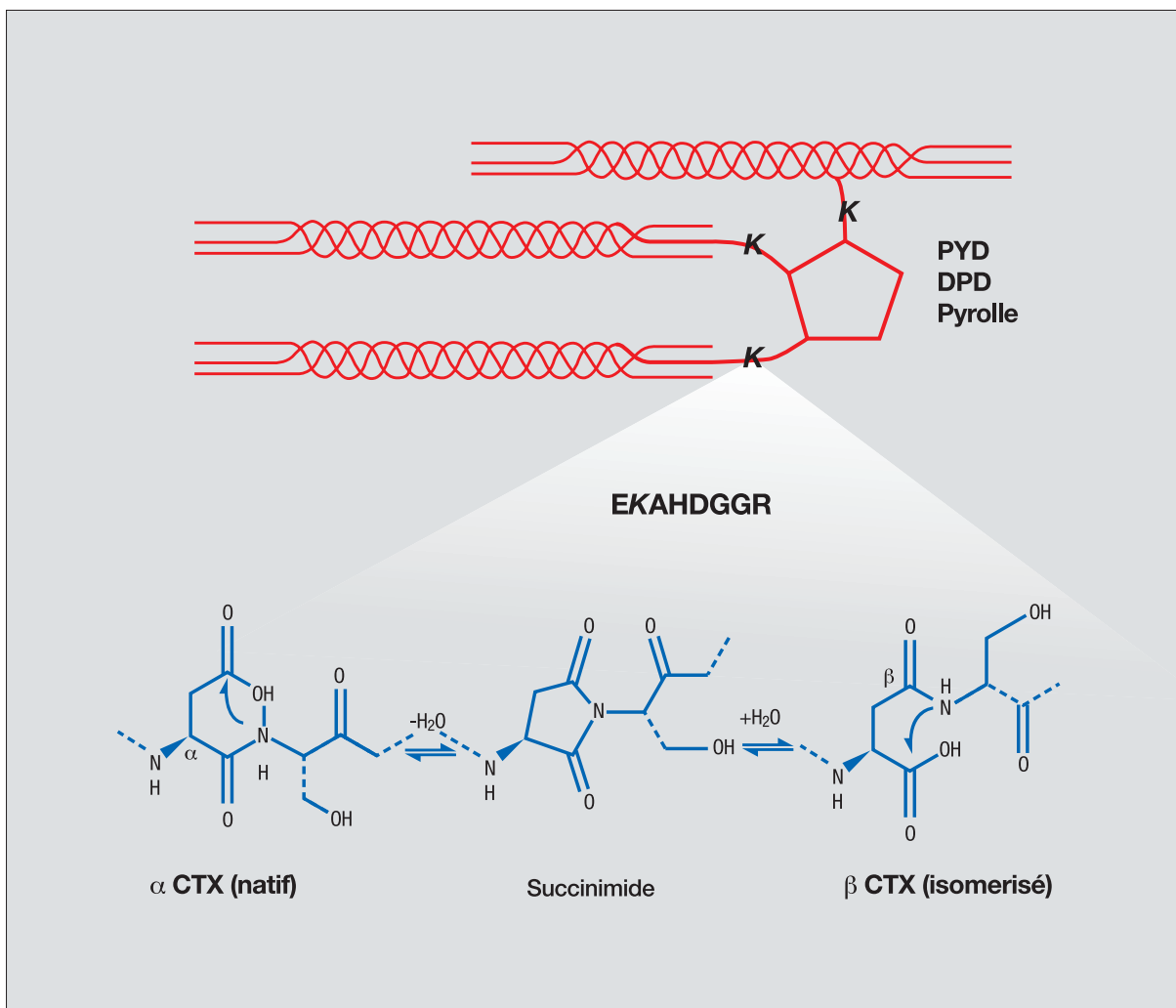


Figure 7 : Isomérisation des C-télopeptides du collagène de type I.

L'isomérisation est un processus spontané de maturation des protéines extracellulaires. Dans le collagène nouvellement synthétisé la liaison peptide entre l'acide aspartique et la glycine adjacente dans le C-télopeptide fait intervenir le groupe carboxyle en position α de l'Asp (forme native ou α du CTX). Au cours de la maturation du collagène, il y a une conversion vers la forme β isomérisée par transfert de la liaison peptidique vers le groupe carboxyle en position β . Cette réaction fait intervenir un intermédiaire succinimide instable. Dans l'os adulte normal, l'équilibre se fait en faveur de la forme β isomérisée avec environ 3 molécules de β CTX pour une molécule de α CTX. Lors d'augmentation intense du remodelage osseux rencontré par exemple dans les foyers pagétiques, la réaction d'isomérisation ne parvient pas à son équilibre ce qui entraîne une augmentation de la proportion de forme native α CTX. L'excrétion urinaire de α et de β CTX peut être mesurée de manière sélective par l'intermédiaire des dosages alpha Crosslaps et β Crosslaps

être particulièrement intéressant dans la maladie de Paget (notamment lors d'atteinte monostotique) et pour l'évaluation des métastases osseuses (voir ci-dessous).

La phosphatase acide tartrate résistante

Différentes isoenzymes de la phosphatase acide sont retrouvées dans l'os, la prostate, la rate, les plaquettes et les globules rouges. Ces isoenzymes peuvent être séparées par des méthodes électrophorétiques, mais ces techniques ne sont pas adaptées à des dosages en routine. La phosphatase acide sécrétée par l'ostéoclaste est résistante à l'acide tartrique, alors que l'isoenzyme prostatique est inhibée par ce composé, ce qui permet de les différencier lors d'un dosage colorimétrique. L'isoenzyme n°5 est présente sous deux isoformes, 5a et 5b, l'isoenzyme 5b étant plus spécifique des ostéoclastes. L'activité totale de la TRACP est mesurée par des méthodes enzymatiques colorimétriques. Toutefois, sa mesure n'est pas spécifique du tissu osseux. Il est à noter que l'activité TRAP est très instable dans les échantillons sériques. Plus récemment des dosages immunologiques détectant de manière spécifique l'isoenzyme 5b ont été développés. L'évaluation clinique de ces nouveaux dosages a montré que la TRAP5b reflète essentiellement le nombre et l'activité des ostéoclastes (qui peuvent parfois être dissociées de la dégradation de la matrice osseuse, par exemple dans l'ostéopétrose où l'on trouve beaucoup d'ostéoclastes, donc une activité TRAP importante, alors que la résorption osseuse est fortement diminuée). La TRAP5b a été montrée augmentée chez la femme ménopausée, et diminuée après traitement par estrogènes ou bisphosphonates avec une sensibilité voisine des NTX et CTX. La mesure de la TRAP5b semble particulièrement intéressante pour évaluer l'activité ostéoclastique pour l'évaluation de l'ostéolyse maligne.

Conseils pour une bonne utilisation des marqueurs osseux en pratique quotidienne

L'interprétation clinique des marqueurs osseux doit prendre en compte les sources de variabilité analytiques et pré-analytiques de ces paramètres. La variabilité analytique, intra et inter série des marqueurs osseux est en général acceptable, le plus souvent inférieure à 10 %. Les performances analytiques semblent meilleures avec les dosages automatisés. Certains des facteurs de variabilité préanalytique comme l'âge, le sexe, le statut hormonal, la fonction rénale ou hépatique, les pathologies ou la prise de traitement ayant une influence sur le remodelage osseux, l'existence de fracture récente ne sont pas "contrôlables" mais nécessitent d'être très soigneusement colligés. D'autres facteurs comme l'heure du prélèvement, la nature et le mode de conservation des échantillons, l'influence des repas (prélèvement à jeun ou non) sont par contre tout à fait "contrôlables" et leur standardisation peut permettre de réduire très significativement la variabilité des marqueurs osseux (tableau 7).

Tableau 7 : Les principales sources de variabilité des marqueurs osseux

Facteurs non contrôlables	Facteurs contrôlables
Age Statut ménopausique Sexe Ethnicité Fractures récentes (jusqu'à 1 an) Grossesse et allaitement Fonction rénale et hépatique Médicaments <ul style="list-style-type: none">- Anti-résorbants- Ostéoformateurs- Corticoïdes- Anticonvulsivants- Agonistes de la GnRH Maladies <ul style="list-style-type: none">- Maladies métaboliques osseuses- Diabète- Hyper/hypothyroïdie- Maladies ostéoarticulaires (polyarthrite rhumatoïde, arthrose) Immobilisation	Variabilité circadienne Alimentation Variation saisonnière Exercice physique intense

L'ensemble des variabilités analytiques et pré-analytiques contribue à une variabilité intra individuelle globale, propre à chaque marqueur, et qu'il est important de connaître car elle peut affecter l'interprétation d'un résultat de deux façons. Tout d'abord, lorsque les marqueurs sont utilisés pour classer les patientes en fonction de leur niveau de remodelage osseux, certaines femmes peuvent être classées différemment en différentes occasions. Ensuite, dans le cadre d'une évaluation longitudinale, comme lors du suivi d'un traitement, des modifications substantielles (dépendant de la variabilité intra-individuelle du marqueur mesuré) sont nécessaires pour considérer que deux concentrations sont significativement différentes. Schématiquement, la variabilité intra individuelle des marqueurs sériques de la formation et de la résorption est plus faible (de l'ordre de 5-10%) que celle des marqueurs urinaires de la résorption (de l'ordre de 15-20%).

En pratique on retiendra les recommandations suivantes :

Prélèvement, conservation et dosages des échantillons

- Pour un même patient, il est recommandé de pratiquer les dosages dans le même laboratoire car tous les laboratoires n'utilisent pas forcément la même technique pour un même marqueur et les différentes méthodes ne sont pas standardisées
- Les marqueurs osseux sériques seront mesurés de préférence sur sérum recueilli à jeun avant 9 heures car il existe un rythme nyctéméral important et l'alimentation peut affecter profondément le niveau de certains paramètres comme le CTX ([figure 8](#)).
- Pour les marqueurs urinaires de la résorption osseuse, il est préconisé de recueillir les urines de 1^{ère} ou 2^{ème} miction le matin à jeun. Il faudra toutefois se servir de valeurs de références obtenues sur le même type de prélèvement (si on mesure un marqueur sur la première miction, il ne faut pas utiliser des valeurs de référence obtenues sur la 2^{ème} miction). Dans le cadre d'un suivi longitudinal, il faudra utiliser toujours le même type de prélèvement. On exprimera les résultats en fonction de la créatininurie mesurée sur le même prélèvement (attention aux urines trop diluées sur lesquelles la mesure de la créatinine peut être soumise à une erreur analytique importante du fait d'une possible mauvaise précision de la technique de dosage dans les valeurs basses).
- Si le dosage est effectué dans la journée du prélèvement, il est recommandé de conserver les échantillons au réfrigérateur. S'il en est autrement, les échantillons

devront être congelés dans les délais les plus brefs et, dans tous les cas, dans les 4 heures qui suivent le prélèvement. Pour le dosage éventuel de l'ostéocalcine intacte, il faut impérativement congeler le sérum dans l'heure qui suit le prélèvement.

- Il est possible de mesurer les marqueurs osseux sur des prélèvements sériques et urinaires ayant subi jusqu'à 3 cycles de congélation décongélation (à l'exception de l'ostéocalcine intacte qui doit être mesurée sur des échantillons n'ayant jamais été décongelés).
- Les échantillons sériques et urinaires peuvent être conservés pendant 4 mois (à l'exception de la TRACP) à -20°C. Pour des périodes plus longues, et en attendant de nouvelles données, une conservation à -70°C est préconisée.

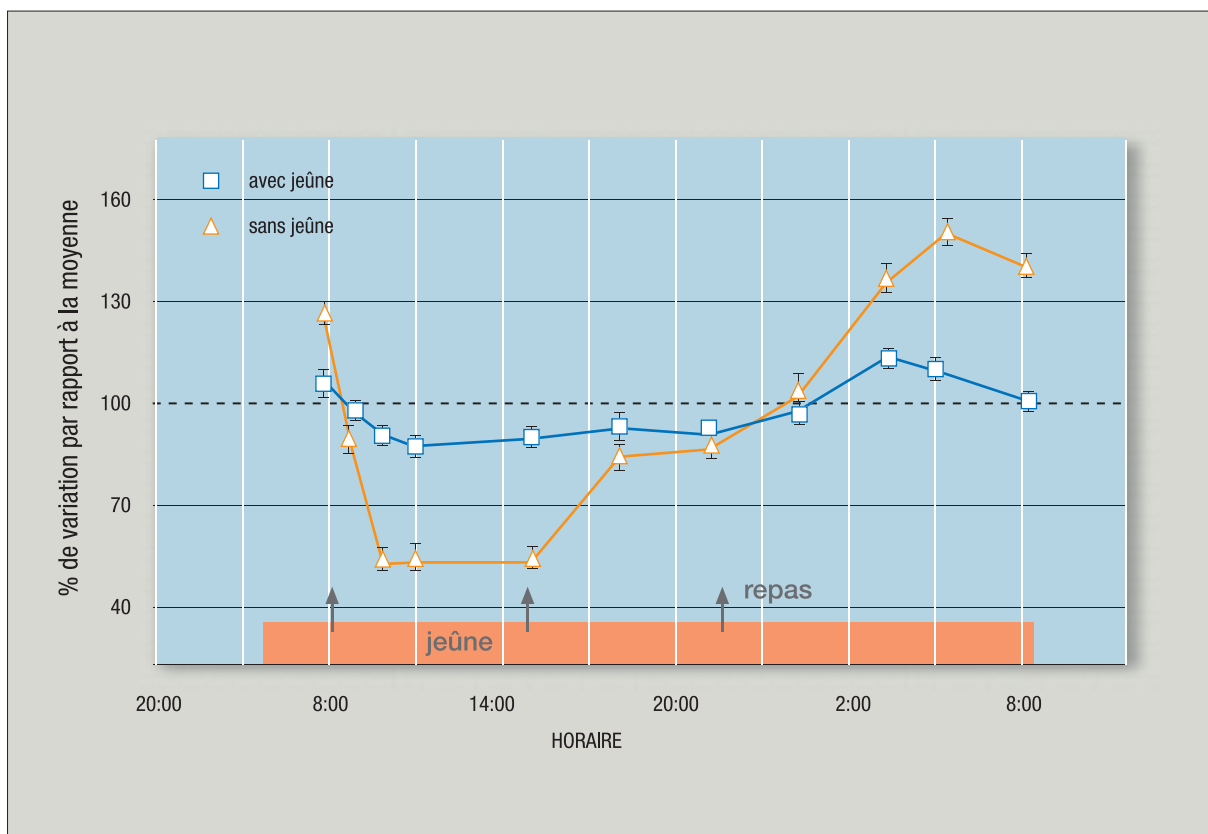


Figure 8 : Variation circadienne de la concentration sérique de CTX Effet de l'alimentation.

Des échantillons de sang ont été collectés toutes les 3 heures pendant 24 heures chez 11 femmes ménopausées au cours de deux périodes consécutives. Au cours de la première période, les femmes étaient à jeun pendant toute l'étude alors que dans la deuxième période, l'alimentation était permise. La variabilité moyenne sur 24 heures était de 13.6% et de 34%, respectivement chez les femmes à jeun et non à jeun. D'après : Qvist P, Christgau S, Pedersen BJ, Schlemmer A, Christiansen C. Circadian variation in the serum C-terminal telopeptide of type I collagen (Serum CTx): Effects of gender, age, menopausal status, posture, daylight, serum cortisol and fasting. *Bone*; 31: 57-61 (2002).

Éléments à prendre en compte dans l'interprétation des résultats

- La survenue d'une fracture récente doit être colligée et il convient alors d'interpréter avec précaution les résultats des marqueurs osseux car leur augmentation pourrait en effet représenter non pas un haut remodelage du squelette dans son ensemble, mais plutôt un phénomène transitoire de réparation osseuse.
- Le dosage d'ostéocalcine est à proscrire chez les patients ayant une insuffisance rénale (filtration glomérulaire < 30ml/min).
- Chez les patients ayant une insuffisance hépatique sévère tous les marqueurs (même la phosphatase alcaline osseuse) doivent être interprétés avec précaution.
- A l'exclusion de l'évaluation des effets des corticoïdes sur le métabolisme osseux, il est conseillé de réaliser les dosages des marqueurs osseux à distance d'un traitement utilisant ce type de produits à forte dose (attention aux infiltrations récentes, courantes chez les patients pouvant bénéficier d'un dosage de marqueur osseux).

Valeurs de référence

Les marqueurs osseux seront le plus souvent dosés chez des femmes ménopausées (voir chapitre suivant : applications cliniques). Il faudra toutefois comparer la concentration mesurée à des valeurs de référence obtenues chez des femmes non ménopausées (un peu dans l'esprit du T-score en ostéo-densitométrie). Ces valeurs de référence doivent être établies selon les recommandations suivantes :

- Une population de 150 à 200 femmes non ménopausées âgées de 35 à 40 ans
- Une absence de maladie ou traitement susceptible d'interférer avec le métabolisme osseux.
- La présence de cycles menstruels réguliers et un taux circulant de FSH normal
- Il n'est pas nécessaire de prendre en compte la phase du cycle menstruel, la prise ou non d'une contraception orale, la saison pendant laquelle est réalisé le prélèvement ni l'activité physique (à l'exception de la pratique d'un sport de haut niveau qui doit être exclu).
- Les valeurs de référence doivent être établies pour chaque type de dosage.

Utilisation clinique des marqueurs osseux dans l'ostéoporose post-ménopausique

De manière générale, les marqueurs osseux ont deux intérêts potentiels. Ils peuvent être utiles pour i) aider à la décision thérapeutique en améliorant l'identification des femmes présentant un risque important de fracture et celles qui répondront de manière plus efficace aux traitements de l'ostéoporose et ii) pour le suivi thérapeutique en permettant d'évaluer l'efficacité des traitements et en améliorant l'adhérence.

Aide à la décision thérapeutique

Avec l'émergence de traitements efficaces, mais assez coûteux et qui peuvent avoir des effets secondaires, il est important de pouvoir détecter les femmes à risque augmenté de fractures. En effet si la décision d'un traitement, en particulier anti-résorbant, ne pose en général pas de problème devant une ostéoporose avec fracture ou une DMO particulièrement basse, ceci n'est plus le cas lorsque la patiente présente simplement une ostéopénie significative, groupe dans lequel une proportion importante de fractures intervient. Il semble dans ce cas important de documenter l'existence de facteurs de risque de fracture autres que la DMO basse.

En excluant l'âge qui est un déterminant important du risque fracturaire, plusieurs facteurs de risque indépendamment de la DMO ont été identifiés notamment pour la fracture de la hanche chez la femme âgée. Ceux-ci comprennent un antécédent de fracture de la hanche chez la mère, un antécédent personnel de fracture, et un poids faible dans certaines études. Dans l'étude française OFELY qui s'intéresse à la prédiction de tout type de fractures chez des femmes ayant un âge moyen de 50 ans, 6 facteurs de risque de fracture incidente indépendants de la DMO ont été identifiés : l'âge, le nombre de chutes dans l'année précédente, une force de préhension diminuée, une histoire maternelle de fracture, un antécédent personnel de fracture et une activité physique faible. Comme discuté ci dessous, des valeurs élevées de certains marqueurs biologiques peuvent aussi faire partie de cette stratégie globale d'évaluation du risque de fracture.

Les études prospectives qui ont étudiées les relations entre marqueurs biologiques de la formation osseuse et le risque de fracture ont donné des résultats discordants. Dans

l'étude française EPIDOS sur les facteurs de risque de la fracture de la hanche, la concentration sérique de PAL osseuse et d'ostéocalcine n'était pas prédictive du risque de fracture. Des résultats négatifs pour ces deux marqueurs de la formation osseuse ont aussi été rapportés pour la prédiction de toutes les fractures et des fractures vertébrales symptomatiques chez des femmes âgées de 75 ans et plus, participant à l'étude Malmö. En revanche, des taux augmentés de PAL osseuse étaient prédictifs du risque de tout type de fractures chez des femmes ménopausées plus jeunes participant aux études OFELY ou HOS (Hawai Osteoporosis Study) .

Des résultats beaucoup plus consistants ont été rapportés pour les marqueurs de la resorption osseuse. Cinq études prospectives (Rotterdam, EPIDOS, OFELY, HOS et Malmö) ont montré que des taux de CTX sérique ou urinaire, de DPD libre urinaire ou de TRACP5b sérique au dessus de la limite supérieure des valeurs observées chez les femmes non ménopausées étaient associés à un risque multiplié par environ 2 de fracture de la hanche, de fractures vertébrales ou non vertébrales. Dans ces études, le risque n'était pas ou très peu modifié après ajustement pour le niveau de DMO mesurée par DXA. Ceci pourrait s'expliquer par une détérioration de la micro architecture de l'os résultant de l'hyperostéoclastose (comme la perforation des travées osseuses), ce qui fragiliserait l'os au-delà de ce qui peut être prédit par la DMO. La présence à la fois d'une DMO basse et d'une concentration de marqueur de la résorption au-dessus des valeurs préménopausiques double approximativement le risque de fracture associé individuellement à l'une ou l'autre de ces deux situations.

L'utilisation des risques relatifs n'est toutefois pas idéale pour prendre des décisions cliniques à l'échelon individuel et l'estimation du risque absolu de fracture, par exemple sur une période de 10 ans, semble plus appropriée. En utilisant les données des études EPIDOS et OFELY, il a été montré que la combinaison de la mesure du CTX urinaire avec la DMO ou un antécédent personnel de fracture, permettaient d'améliorer l'estimation du risque individuel de fracture, la probabilité de fracture sur 10 ans étant deux fois plus importante avec une combinaison des facteurs de risque par rapport à l'utilisation de la DMO seule ([figure 9](#)). Un groupe de travail sous l'égide de l'Organisation Mondiale de la Santé est en train de développer, à partir de plusieurs études prospectives, des algorithmes de prédiction du risque de fractures en combinant la DMO avec d'autres facteurs de risque incluant éventuellement la mesure des marqueurs biologiques du remodelage osseux.

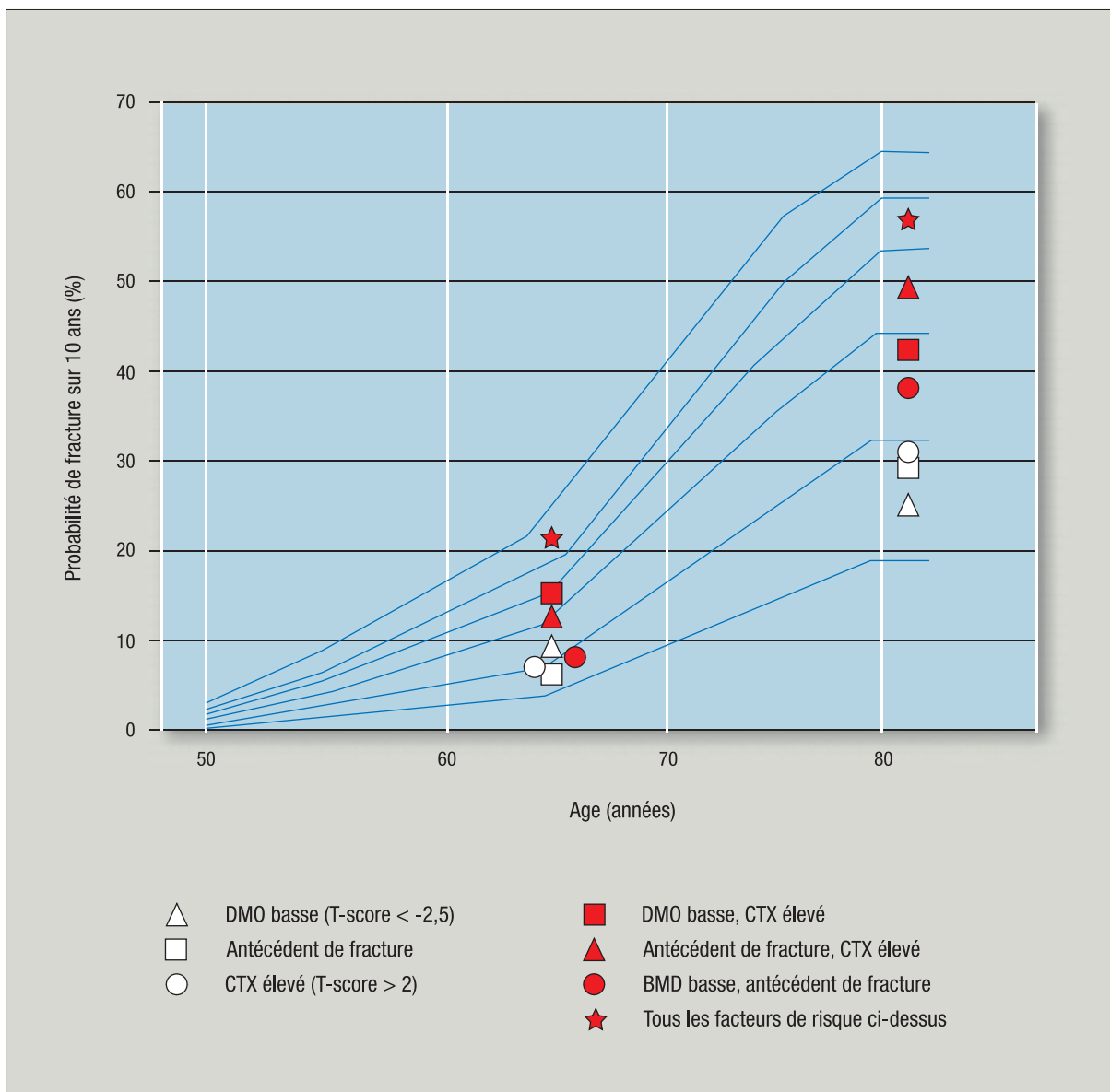


Figure 9 : Combinaison de facteurs cliniques, de la densité minérale osseuse (DMO) et des marqueurs biologiques de la résorption osseuse (CTX) pour identifier les femmes à haut risque de fracture. La figure montre la probabilité de fracture sur 10 ans en fonction de l'âge et du risque relatif (lignes bleues). Les symboles montrent l'effet de la présence de différents facteurs de risque et de leurs associations sur la probabilité de fracture chez des femmes âgées en moyenne de 65 ans (Etude OFELY) et de 80 ans (Etude EPIDOS). Une DMO faible a été définie par des valeurs ≤ 2.5 DS au dessous des moyennes des femmes non-ménopausées (T-score ≤ -2.5). D'après Johnell O, Oden A, De Laet C, Garnero P, Delmas PD, Kanis JA. Biochemical markers and the assessment of fracture probability. *Osteoporos Int* 2002 ; 13:523-526.

Les marqueurs biologiques pourraient avoir un intérêt tout particulier pour identifier les femmes ostéopéniques à risque de fracture. En effet dans la population des femmes ménopausées, plus de 50% de toutes les fractures surviennent dans ce groupe de femmes pour lesquelles la mesure de la DMO n'est pas suffisante pour décider de l'instauration d'un traitement. Dans l'étude OFELY, nous venons de montrer que 47% de toutes les fractures incidentes observées chez les 668 femmes ménopausées suivies pendant 8 ans survenaient chez des femmes qui avaient une DMO qui n'était pas franchement abaissée (T-score entre -1 et -2.5). Parmi ces femmes, la combinaison d'un marqueur du remodelage osseux élevé et d'un antécédent personnel de fracture permettait d'identifier 59% des femmes avec une fracture et qui n'auraient pas été détectées si l'évaluation s'était limitée à une mesure unique de DMO.

Les femmes à risque de fracture peuvent bénéficier d'un traitement, notamment si les facteurs de risques peuvent être modifiés par le médicament. En effet, certains facteurs indépendant de la DMO, comme par exemple les chutes pour la fracture de la hanche, sont fortement prédictifs du risque fracturaire, mais probablement très difficilement modifiables par des moyens pharmacologiques. En revanche, des études ont montré un effet anti fracturaire des bisphosphonates et du raloxifène chez des femmes ostéopéniques, efficacité qui pourrait être d'autant plus importante que le niveau de remodelage osseux avant traitement est élevé. Ainsi dans la grande étude américaine FIT (fracture intervention trial), il a été montré que les femmes ostéopéniques présentant avant traitement un niveau de PINP et de PAL osseuse dans le tertile supérieur avaient, sous traitement, une diminution du risque de fracture non-vertébrale plus importante que les femmes présentant des niveaux de marqueurs plus faibles. Les traitements anaboliques et notamment la PTH, ont été suggérés comme intéressants chez les patientes ostéoporotiques présentant un remodelage osseux faible. Néanmoins, des études très récentes réalisées avec la PTH 1-34 (FORSTEO) et la PTH entière (1-84) ont montré des augmentations de DMO et des réductions du risque de fracture quel que soit le niveau de remodelage osseux initial. En fait, avec les deux types de traitement, l'augmentation de DMO à la colonne lombaire était plus importante chez les femmes présentant un niveau de marqueur osseux avant instauration du traitement plus élevé et pour FORSTEO, la réduction du risque absolu de fracture (et non pas relatif) à 18 mois était aussi plus important lorsque le remodelage osseux avant traitement était plus élevé.

Suivi des traitements

Comme toutes les maladies chroniques, la surveillance et l'évaluation de l'efficacité du traitement de l'ostéoporose sont un défi pour le clinicien. Le but du traitement est de réduire la survenue des fractures, mais l'incidence est faible et l'absence d'événement fracturaire pendant la ou les premières années du traitement n'implique pas nécessairement que celui-ci est efficace. L'utilisation de marqueurs de substitution permettant une évaluation plus précoce est donc indispensable à une surveillance efficace du traitement. La mesure de la DMO par DXA est un marqueur intermédiaire de substitution qui a été largement utilisé dans les essais cliniques. Son utilisation dans le suivi thérapeutique individuel n'est toutefois pas validée. Étant donnée l'erreur de reproductibilité de la mesure de DMO, de l'ordre de 1 à 1,5% à la colonne et à la hanche, les variations individuelles doivent être supérieures de 3 à 5% pour être significatives. Avec des bisphosphonates comme l'alendronate ou le risédronate, la répétition de la mesure de DMO deux ans après le début du traitement est apte à déceler si le malade est répondeur, tout au moins à la colonne. En revanche avec des traitements comme le raloxifène qui n'induisent qu'une faible augmentation de DMO, la DXA n'est pas la méthode de choix pour le suivi thérapeutique. D'autre part les changements de DMO sous traitement n'expliquent qu'une faible partie de l'efficacité anti-fracturaire du raloxifène, de l'alendronate et du risédronate. Les mesures de DMO par DXA ne représentent donc pas une technique appropriée pour le suivi individuel des patients. Une méthode alternative pour le suivi repose sur l'utilisation de la diminution rapide des marqueurs biologiques sous traitements anti-résorptifs.

Une non réponse au traitement peut être liée à une mauvaise observance, probablement un des facteurs les plus importants, à une mauvaise absorption intestinale, notamment pour les bisphosphonates, ou à d'autres paramètres qui peuvent induire une perte osseuse. La surveillance au traitement par les marqueurs osseux peut aussi avoir l'avantage d'améliorer l'observance thérapeutique, bien que cela reste à être démontré.

Effets des traitements sur les marqueurs biologiques du remodelage

Les traitements anti-résorptifs provoquent une diminution des marqueurs de résorption osseuse dans les premières semaines de traitement, puis un plateau après 3 à 6 mois, et une diminution retardée des marqueurs de formation avec un plateau atteint après

6 à 12 mois. L'amplitude de la diminution dépend de la puissance du médicament (les diminutions les plus importantes sont observées avec les bisphosphonates) et du marqueur utilisé. Le mode d'administration (voie d'administration du THS, ou traitement continu ou cyclique pour les bisphosphonates) joue également un rôle.

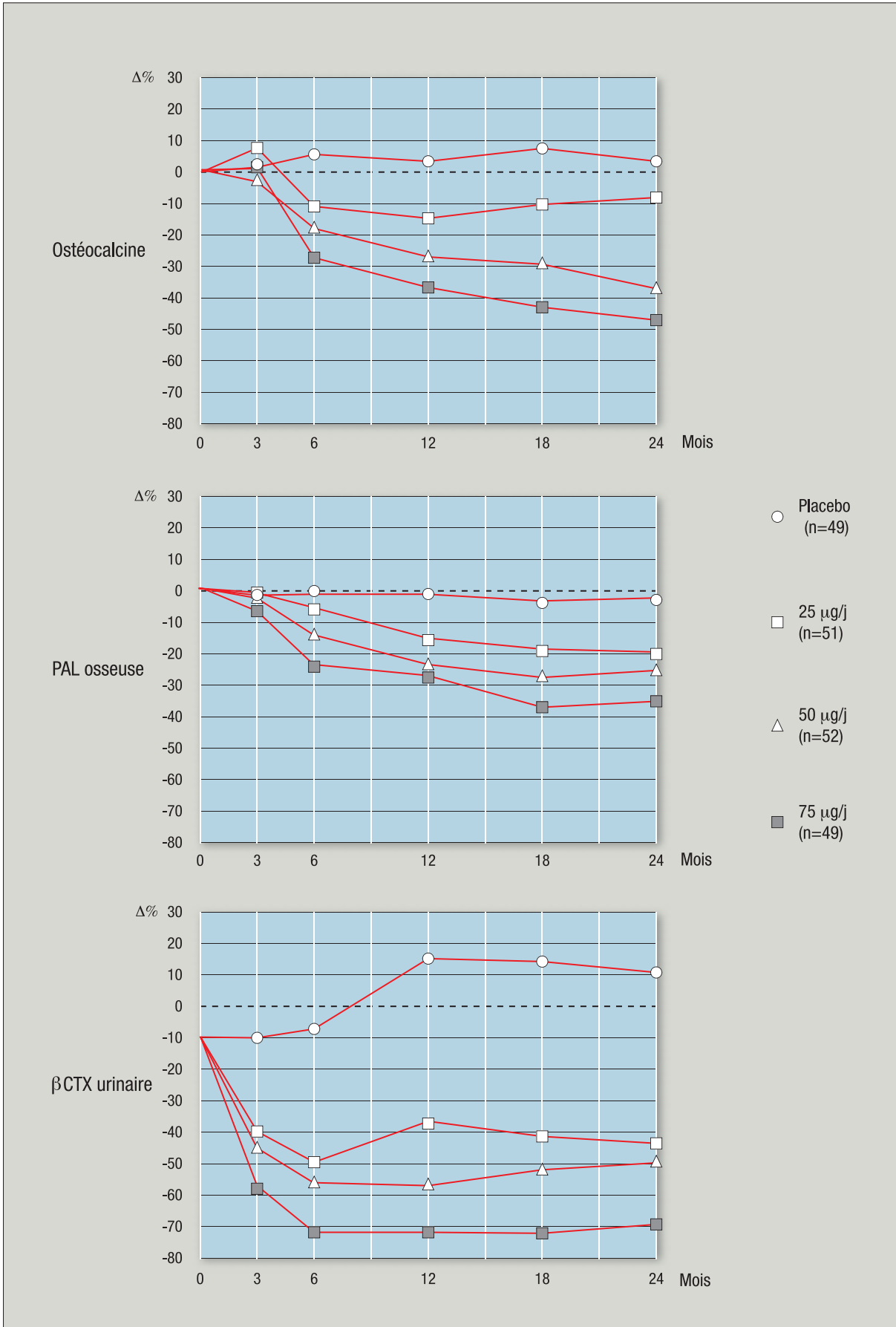
Après 6 mois de traitement par le 17 bêta-estradiol oral à 2mg/j, l'excrétion urinaire de CTX et de NTX diminue de 60 % environ, celle de la DPD libre de 30 %. Des variations comparables sont observées avec le 17 bêta-estradiol administré par voie per-cutanée. Dans les 3 premiers mois de traitement, la réponse des marqueurs de la formation peut être différente selon la voie d'administration avec une diminution de 30 % de l'ostéocalcine chez les femmes traitées par un estrogène oral et pas de variation en cas d'administration par voie per-cutanée. Ces différences pourraient être attribuées au premier passage hépatique, et donc à l'effet de l'IGF 1 sur les marqueurs de formation (figure 10).

Lors de l'administration des bisphosphonates, par voie orale, en traitement continu, la diminution la plus importante est observée pour les marqueurs peptidiques du collagène de type 1 (CTX, NTX, peptide hélicoïdal), intermédiaire pour l'excrétion totale de pyridinoline (PYD) et DPD, faible ou nulle pour l'excrétion urinaire de PYD et DPD libre. Ce mode différent de réponse pourrait être lié aux mécanismes enzymatiques de dégradation du collagène comme nous l'avons discuté auparavant, aux effets différents des différents bisphosphonates sur ces processus enzymatiques et sur le métabolisme rénal des peptides de la pyridinoline. Avec l'alendronate oral à 10 mg/jour, est observée une diminution d'environ 70 % du NTX et CTX urinaires, et 50 % de la DPD totale. Avec le risédronate oral à 5 mg/jour, les diminutions des marqueurs peptidiques de la pyridinoline (NTX urinaire, CTX sérique) sont de l'ordre de 35 à 50 %.

La diminution des marqueurs de résorption est identique lors des administrations quotidiennes ou hebdomadaires de l'alendronate et du risédronate. Avec l'ibandronate ou le pamidronate intraveineux on observe une diminution rapide des marqueurs de la résorption osseuse après l'injection, puis une augmentation progressive dont le délai et l'amplitude sont fonction de la dose et du rythme des injections. Le zolédronate a un effet biologique prolongé d'un an ou plus.

A l'arrêt du traitement par alendronate, il existe une augmentation du remodelage, démontrant la reprise de l'activité cellulaire. A l'arrêt d'un traitement suivi pendant 5 ans, l'augmentation du remodelage, de l'ordre de 20 %, ne permet pas de revenir aux

Figure 10



valeurs pré-thérapeutiques. Un tel effet rémanent est à prendre en compte dans les stratégies thérapeutiques. L'évolution des paramètres osseux à l'arrêt du traitement par le risédronate et le zolédronate est en cours d'étude.

Le raloxifène oral provoque une diminution des marqueurs d'amplitude moins importante que les bisphosphonates ou le THS : 30 à 45 % environ de réduction pour les CTX urinaires, 20 à 30 % pour les marqueurs de formation, les valeurs moyennes revenant dans les niveaux observés chez des femmes non-ménopausées.

Au plan pratique il est important de savoir que le calcium et la vitamine D, à doses physiologiques, provoquent des diminutions faibles mais significatives des marqueurs de résorption de 10 à 20 % en moyenne.

Les traitements anaboliques induisent des augmentations importantes et rapide tout d'abord des marqueurs de la formation osseuse (au bout de 1 mois seulement avec des augmentations de plus de 100% notamment pour le PINP), suivi d'une augmentation retardée des marqueurs de la résorption osseuse.

Prédiction de l'efficacité thérapeutique par les marqueurs du remodelage osseux

- La diminution des marqueurs du remodelage osseux sous traitement antirésorptif, habituellement exprimée en pourcentage de la valeur initiale, est significativement corrélée avec l'augmentation de la DMO. Au cours des dix dernières années de nombreuses études du THS, de l'alendronate et du risédronate ont montré que la diminution des marqueurs à court terme (3 à 6 mois) est significativement corrélée avec l'augmentation de la DMO à un, deux ou trois ans mesurée à la colonne lombaire ou au radius.

Figure 10 (ci-contre) : Effets de différentes doses de 17 β estradiol transdermique sur les marqueurs biologiques du remodelage osseux.

Deux cent une femmes ménopausées âgées de 40 à 60 ans ont été traitées par un placebo ou un patch transdermique délivrant 25, 50, ou 75 $\mu\text{g}/\text{jour}$ de 17 β estradiol. La diminution des marqueurs de la formation osseuse [ostéocalcine et phosphatase alcaline osseuse (PAL osseuse)] est retardée par rapport à celle de la résorption osseuse (CTX urinaire), reflétant le couplage physiologique du remodelage osseux. La réponse retardée des marqueurs de la formation dans cette étude est amplifiée par la voie non-orale d'administration. D'après Cooper C, *Osteoporos Int*; 9:358-366 (1999).

- La validité des modifications de la DMO pour prédire le risque de fracture sous traitement est un sujet actuellement très débattu notamment pour certains médicaments comme le raloxifène qui induisent des réductions de 30 à 50 % du risque de fractures vertébrales en dépit d'une augmentation faible de la DMO. L'analyse rétrospective récente de différents essais cliniques suggère que les changements de DMO sous traitement pourraient en réalité n'expliquer qu'une faible partie (< 30 %) de l'efficacité des traitements antirésorptifs sur le risque de fractures vertébrales. Ainsi, les changements de la DMO sous traitement ne sont probablement pas un critère adéquat pour analyser la fiabilité des marqueurs osseux à prédire le risque de fractures. Récemment des études ont corrélé les modifications des marqueurs avec le risque de fractures incidentes sous traitement. Des analyses effectuées dans un sous groupe de l'étude international MORE (multiple outcome raloxifene) ont montré que les changements à 6 mois de l'ostéocalcine, de la PAL osseuse et du PINP (à 1 an) sérique sous raloxifène étaient associés avec le risque ultérieur de fractures vertébrales, alors que les changements de DMO n'étaient pas prédictifs. De même dans un sous groupe de femmes ostéoporotiques participant aux études VERT et traitées par le risédronate (5 mg/jour), les modifications du CTX et du NTX urinaire après 3 à 6 mois de traitement étaient significativement associées au risque de fractures incidentes vertébrales et non vertébrales évalué après 1 et 3 ans. Les changements des marqueurs osseux expliquaient 50 à 70 % et 54 à 74 % de l'efficacité du traitement sur les fractures incidentes vertébrales et non vertébrales, respectivement. Dans cette étude (figure 11), la relation entre l'amplitude de diminution du marqueur, et le risque de fracture vertébrale, n'est pas linéaire, indiquant l'absence de gain supplémentaire d'efficacité anti-fracturaire du risédronate pour des diminutions de CTX urinaire au-delà de 60 %, et de 40 % pour le NTX urinaire. Cette notion très importante en pratique devra être étudiée pour les autres traitements.

Pour l'alendronate, une relation significative entre la diminution de la PAL osseuse, du PINP et du CTX sérique à 1 an, et le risque de fracture vertébrale au cours d'un suivi de près de 4 ans a été montré. Pour la PAL osseuse, cette relation était aussi significative pour le risque de fractures non vertébrales que pour les fractures de la hanche. Par exemple, dans le groupe alendronate, le pourcentage de femmes présentant une fracture incidente de la hanche était de 0.8% chez celle dont la diminution de la PAL osseuse était inférieure à 30%, alors qu'elle était de seulement 0.2% chez les patientes dont le marqueur baissait de plus de 30%. Ainsi, ces données récentes indiquent que

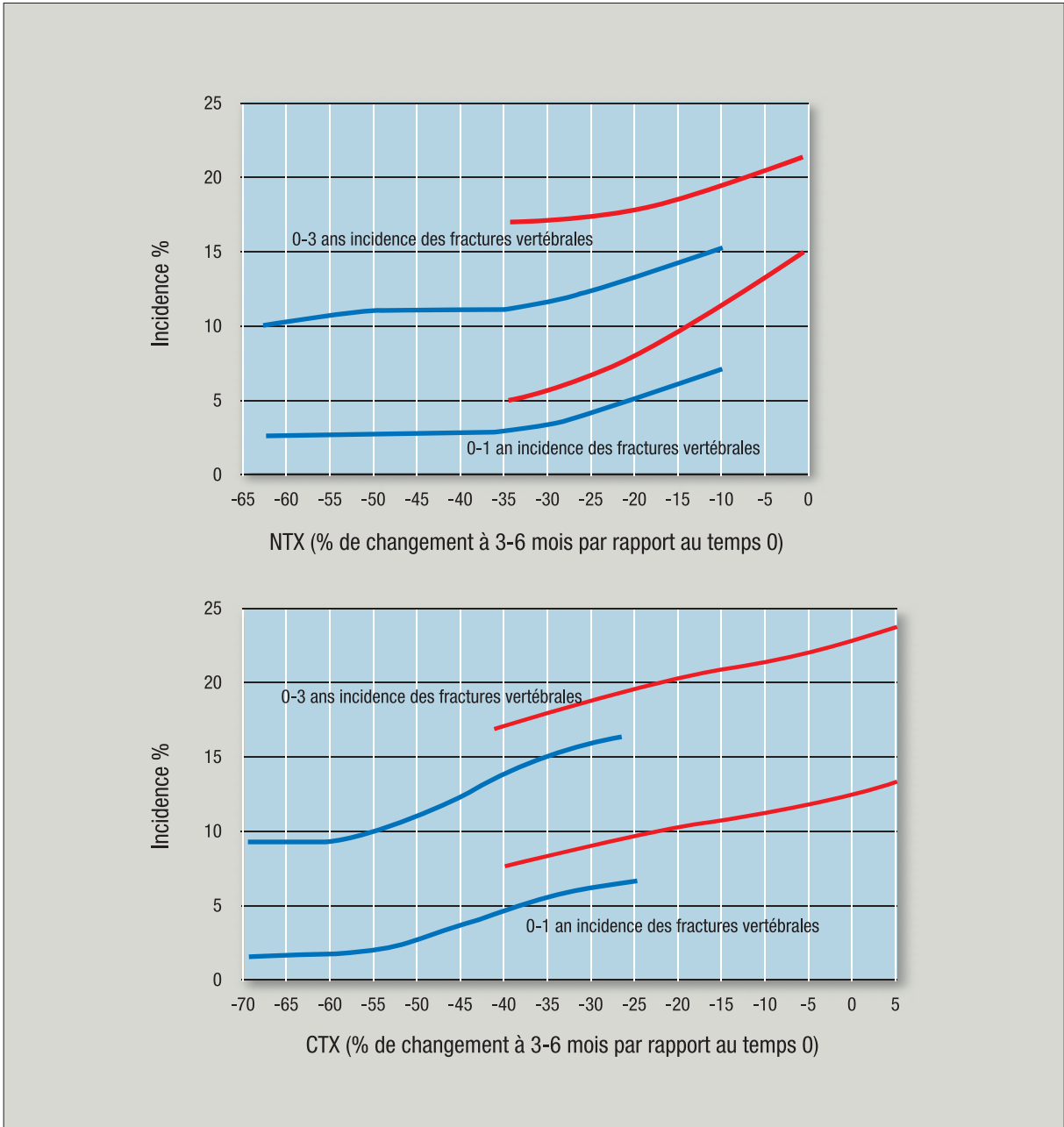


Figure 11 : Prédiction de l'efficacité du risédronate oral sur les fractures vertébrales incidentes par les marqueurs de la resorption osseuse (NTX et CTX urinaire).

693 femmes ménopausées présentant au moins une fracture vertébrale (âge moyen 69 ans) ont reçu un placebo ou 5 mg/jour de risédronate oral pendant 3 ans.. La relation entre l'incidence de nouvelles fractures vertébrales après 1 et 3 ans (axe des ordonnées) et la diminution du NTX et du CTX urinaire après 3 à 6 mois de traitement exprimée en pourcentage de la valeur avant traitement (axe des abscisses) n'est pas linéaire ($p < 0.05$). Il n'y a pas de gain supplémentaire d'efficacité anti-fracturaire pour des diminutions supérieures à 35-40 % pour le NTX urinaire et de 55 à 60% pour le CTX urinaire. Le groupe placebo est représenté par la ligne rouge et le groupe risédronate par la ligne bleue. Toutes les patientes recevaient un supplément de calcium (1000 mg/jour) et de vitamine D (en cas d'hypovitaminose). D'après Eastell T, Barton I, Hannon RA, Chines A, Garnero P, Delmas PD. Relationship of early changes in bone resorption to the reduction in fracture risk with risedronate J Bone Miner Res 2003; 18: 1051-1056.

la mesure des marqueurs biologiques sous traitement antirésorptifs (raloxifène, alendronate, risédronate) devrait être très utile pour évaluer à court terme l'efficacité de ces traitements directement sur le risque de fracture incidente.

Les marqueurs osseux pourraient aussi être utiles pour évaluer l'efficacité thérapeutique des traitements par la PTH. Il a été en effet montré des corrélations très fortes entre l'augmentation des marqueurs osseux après 1 à 3 mois seulement de traitement –et notamment du PINP- et les changements de DMO vertébrale après 12 à 18 mois. L'intérêt des marqueurs osseux dans la prédiction de l'efficacité de la PTH devra être néanmoins évalué en utilisant l'incidence de fracture comme critère d'efficacité.

- En revanche, les marqueurs osseux ne sont pas utiles pour le suivi de l'efficacité du traitement par le ranelate de strontium (Protelos) car leurs variations sont très faibles.

Amélioration de l'observance aux traitements

Comme pour les traitements de fond des autres maladies chroniques, la non-observance est très fréquente avec les traitements de l'ostéoporose, chez plus de 50 % des patients semble-t-il, et n'est pas systématiquement liée aux effets indésirables. Une raison souvent invoquée par les patients est qu'ils ne ressentent pas d'amélioration ou de mieux-être sous traitement. Il n'est donc pas utopique de penser que pour un(e) patient(e) donné(e), la démonstration d'une efficacité biologique du traitement et l'explication de sa signification par le médecin puissent être des facteurs de motivation pour une meilleure observance. Actuellement toutefois, il existe très peu d'étude ayant évalué de manière spécifique cette application.

Une équipe britannique a randomisé 65 femmes ménopausées en trois groupes selon la stratégie de suivi : **1)** sans interrogatoire, ni dosage de marqueur osseux **2)** un interrogatoire trimestriel délivré par une infirmière et **3)** par le dosage trimestriel des marqueurs osseux et la délivrance du résultat au patient. Après un an de traitement par raloxifène (EVISTA), les patientes des groupes 2 et 3 avaient une adhérence de 57% plus importante que celles du premier groupe, bien qu'il n'y ait pas de différence significative entre ces deux groupes de suivi. Ces résultats indiquent qu'un suivi thérapeutique augmente en effet l'adhérence au traitement. Néanmoins il reste à démontrer qu'un suivi biologique est plus efficace qu'un simple interrogatoire clinique dans des études de plus grande échelle. Dans une autre étude, 2302 femmes ménopausées ont été randomisées en deux groupes. Le premier ne recevait pas

d'information biologique d'efficacité, alors que dans le second le médecin délivrait un message standardisé en fonction de la diminution du NTX après 3 à 6 mois de traitement par risédronate. Après 1 an de traitement, les patientes recevant un message positif d'efficacité (c'est à dire pour lesquelles le NTX diminuait de plus de 30%) avaient une adhérence significativement supérieure à celle ne recevant aucun message. Il est à noter toutefois que la délivrance d'un message négatif (chez les femmes dont le NTX augmentait de + 30%) en revanche diminuait l'adhérence. Bien que le nombre de fracture était faible après 1 an, il était toutefois significativement plus faible dans le groupe suivi par un marqueur osseux par rapport aux femmes ne recevant pas de message basé sur les marqueurs osseux

Ces données encore parcellaires suggèrent donc qu'un suivi biologique par la mesure d'un marqueur osseux pourrait améliorer l'observance au traitement, ce qui devrait se traduire par une épargne de fracture plus importante.

Aspects pratiques pour l'utilisation clinique des marqueurs osseux dans l'ostéoporose post-ménopausique.

- Il n'existe pas de consensus quand à l'utilisation des marqueurs osseux en routine clinique. Nos propositions sont basées sur la synthèse de la littérature et sur notre expérience. Dans le contexte budgétaire actuel, il est important d'utiliser les examens biologiques à bon escient (c'est-à-dire sans "gaspiller"!).
- Dans l'ostéoporose post-ménopausique, les marqueurs peuvent donc servir comme aide à la décision thérapeutique chez certaines patientes pour qui cette décision n'est pas facile et comme évaluation de l'efficacité (et/ou de l'observance) de certains traitements.

En pratique :

- 1) Rappelons qu'on ne fait *pas de diagnostic d'ostéoporose avec les marqueurs du remodelage osseux*. Ce diagnostic est basé sur la mesure de la DMO. Il n'y a *donc pas d'intérêt à mesurer les marqueurs en première intention chez une femme qui vient de faire une fracture ou chez qui le diagnostic d'ostéoporose n'est pas établi*.
- 2) *Lorsque le diagnostic d'ostéoporose ou d'ostéopénie est établi par une mesure de la DMO, il faut d'abord pratiquer un bilan biologique minimal pour éliminer une cause d'ostéoporose secondaire* (proposition, également non consensuelle : NFS, VS, EPP, protéinurie des 24h, calcémie, phosphatémie, phosphatases alcalines totales, créatinine sanguine, 25OHD sérique et calciurie, natriurie des 24h). Là encore, *les marqueurs n'ont pas leur place dans ce bilan*. En effet, si le marqueur est élevé à ce moment de l'exploration, ce haut remodelage peut être du uniquement à une cause d'ostéoporose secondaire et disparaître après traitement de l'anomalie ou correction de l'éventuel déficit vitamino-calcique. Comme indiqué dans le chapitre III, *si le bilan préliminaire est anormal, il faut pratiquer des examens complémentaires. Dans ce cadre, lors d'un bilan phospho-calcique extensif, les marqueurs osseux (un marqueur de formation et un marqueur de résorption) peuvent cependant avoir un intérêt pour documenter le remodelage osseux et le confronter aux autres paramètres biologiques. Par contre, on n'utilisera pas ces valeurs comme aide éventuelle à la décision thérapeutique* (sauf si, comme cela peut arriver, l'exploration phospho-calcique complémentaire se révèle totalement normale).
- 3) *Chez les femmes ostéopéniques ou ostéoporotiques chez qui une cause d'ostéoporose secondaire a été exclue, le clinicien doit alors se poser la question de l'instauration d'un traitement de fond de l'ostéoporose*. Rappelons que les seuils diagnostiques pour les mesures de la DMO ne sont pas des seuils thérapeutiques. Par conséquent, à l'exception du calcium et de la vitamine D qui seront prescrits systématiquement en cas d'insuffisance (importance du dosage de la 25OHD et d'un questionnaire évaluant les apports alimentaires en calcium !), les traitements de fond de l'ostéoporose décrits dans notre chapitre II ne devraient être prescrits, en dehors de cas particuliers, que si le risque personnel de fracture ostéoporotique de la patiente est important (par exemple, de l'ordre de 8-10% ou plus pour les 10 ans à venir). *Le dosage d'un marqueur osseux n'aura d'intérêt pour décider de traiter ou non que si le risque de fracture, estimé à partir des facteurs de risque (fracture*

prévalente, niveau de la DMO, âge, antécédent familial d'ostéoporose, IMC...- On utilisera, lorsqu'il sera publié, le score de risque développé par l'OMS - voir "Les facteurs de risque d'ostéoporose" page 19 -) est insuffisant. Il n'y a en effet pas besoin de marqueur osseux, si le risque de fracture est suffisamment important pour débiter un traitement. Néanmoins, lorsque la décision de traiter a été prise (sur la base de facteurs de risque avec ou sans dosage des marqueurs), il sera important de faire une mesure de marqueur avant l'initiation de certains traitements pour avoir une valeur "basale" afin d'évaluer ensuite l'efficacité ou l'observance (voir item suivant), à condition qu'il n'y ait pas eu de fracture dans l'année passée (le marqueur serait alors probablement élevé à cause du processus de réparation de la fracture, et on pourrait observer une diminution sous traitement même si l'efficacité ou l'observance sont insuffisantes). En revanche, si le risque de fracture évalué à partir des facteurs de risque classiques ne paraît pas suffisant pour débiter un traitement, le dosage d'un marqueur de la résorption (nous utilisons le CTX sérique prélevé le matin à jeun) aidera à la décision : si la concentration du marqueur est supérieure aux normes préménopausiques, ce sera un argument pour traiter ; si elle se situe dans les normes préménopausiques, ce sera un argument pour ne pas traiter dans ce contexte. Dans notre expérience, environ 30 à 50 % de ces femmes présentent une valeur élevée. L'établissement de ces normes préménopausiques est donc très importante. Ce sont elles qui doivent apparaître sans ambiguïté sur la feuille de résultats éditée par le laboratoire. Si le biologiste ne les a pas établies lui-même, il devra s'assurer que la population de référence utilisée répond bien aux recommandations (voir "Valeurs de référence" page 89).

- 4) *Lorsqu'un traitement de fond de l'ostéoporose est instauré, il est intéressant d'avoir, à relativement court terme, une information sur l'efficacité ou sur l'observance. Il existe en effet, comme l'ont montré les essais cliniques des médicaments, un certain nombre de "mauvaises répondeuses" (alors que ces femmes prennent correctement leur traitement), mais surtout, comme pour les traitements des autres maladies chroniques, un problème d'observance fréquent. Cette information peut, pour certains traitements, être apportée efficacement par la mesure d'un marqueur osseux.*

- Avec les bisphosphonates per os on peut doser un marqueur avant et 3 à 6 mois après le début du traitement. Comme indiqué plus haut, les marqueurs les plus performants dans ce contexte sont les téléopeptides du collagène de type 1, CTX et

NTX. Rappelons que la DPD libre est peu informative et que les marqueurs de formation diminuent plus tardivement que les marqueurs de résorption. *Une diminution de 30% environ du CTX sérique (toujours prélevé le matin à jeun) et de 50% du NTX urinaire sera considérée comme un effet significatif du traitement* (ces pourcentages tiennent compte du CV intra-individuel de ces marqueurs, et du calcul du plus petit changement significatif qui est ensuite "arrondi" pour obtenir un chiffre simple à retenir), ces deux marqueurs diminuant en général plus que ces seuils minimums sous traitement par bisphosphonate. *Si on n'a pas dosé de marqueur avant la mise sous traitement, on se contentera de confronter aux normes préménopausiques la valeur mesurée après 3 à 6 mois de traitement. Si celle-ci est dans les normes (surtout dans la moitié inférieure de ces normes), on supposera un effet bénéfique significatif du traitement. Dans le cas d'une diminution significative du marqueur, le médecin prescripteur devra expliquer à la patiente ce que cela signifie et lui délivrer un message positif sur l'effet du traitement.* Il a été montré que cette pratique était susceptible d'augmenter significativement l'adhérence au traitement. On pourra ensuite répéter le dosage annuellement (si cela paraît coûteux, il faut comparer le coût d'un dosage de marqueur, 23 Euros environ, au coût annuel d'un traitement par bisphosphonate !). *Si, par contre, le marqueur ne diminue pas significativement sous traitement en restant supérieur aux normes préménopausiques, le médecin devra discuter de l'observance avec la patiente et rechercher les différentes causes de mauvaise absorption du médicament :* nature de l'eau bue lors de la prise (rappelons qu'il faut utiliser une eau peu riche en calcium) ; est-ce que les éventuels suppléments en calcium/vitamine D (ou même d'autres médicaments) ne seraient pas pris en même temps (ou peu de temps après) le bisphosphonate ? quel est le délai réel entre la prise du médicament et la première prise alimentaire ? La patiente respecte-t-elle la consigne de ne pas se recoucher pendant 30 minutes au moins ? Y-a-t-il eu une fracture a minima ou un autre événement médical (y compris l'instauration ou la modification d'un traitement pour une autre pathologie), ou une modification importante des habitudes alimentaires depuis le début du traitement ? *Si une telle anomalie est découverte, le médecin expliquera comment la corriger. Si aucune cause n'est retrouvée, il suspectera une non-réponse non due à une mauvaise observance. Dans ces deux cas de figure, en renouvelant l'ordonnance pour les 6 mois à venir, le médecin prescrira un nouveau dosage de marqueur pour dans 5 mois* (afin d'avoir le résultat lors de la prochaine consultation). *Si, cette fois, le marqueur a diminué significativement, le médecin délivrera un message positif sur*

l'effet du traitement et vérifiera le marqueur annuellement. Si par contre, le marqueur n'a pas diminué, il envisagera probablement un changement de traitement. Il se peut enfin que, comme on l'observe parfois après plusieurs années (plus de 5 ans) de traitement par bisphosphonate, la concentration du marqueur soit très basse (très inférieure aux normes préménopausiques). Il paraît alors raisonnable, et ce jusqu'à ce que des publications sérieuses aient éclairé les risques liés à cette situation, d'arrêter le médicament pendant un certain temps en observant l'évolution du marqueur par exemple tous les 6 mois (ne pas oublier que les bisphosphonates ont un important effet rémanent) pour documenter un remodelage osseux toujours actif, ceci afin d'éviter d'aboutir éventuellement à un os "adynamique" (on parle d'os "gelé").

- Avec les traitements hormonaux de la ménopause (THM). Aujourd'hui, le but généralement recherché lors de la prescription d'un THM est la suppression des symptômes climatiques de la ménopause. La disparition (ou l'atténuation) de ces symptômes sera alors le témoin de l'efficacité du THM. *Les gynécologues ont de plus en plus tendance à prescrire la plus petite dose possible de THM permettant le contrôle de ces symptômes. Il peut leur paraître légitime de savoir si, chez une patiente donnée, cette faible dose d'estradiol contrôle aussi le remodelage osseux. Il suffit dans ce cas de doser un marqueur de la résorption osseuse sous ce traitement* (si des essais de doses décroissantes sont pratiqués, il faut, une fois que la plus petite dose qui contrôle les symptômes climatiques est trouvée, attendre 2-3 mois sous cette posologie avant de doser le marqueur osseux). *Si la valeur est dans les normes préménopausiques, on conclura à un bon contrôle du remodelage osseux.*

- *Avec le Raloxifène.* Les études de validation de ce médicament ont montré qu'il induit une diminution des marqueurs osseux d'environ 30% en moyenne. Cette diminution moyenne correspond approximativement à la diminution minimale qu'il faut observer à l'échelon individuel pour conclure à un effet significatif d'un médicament. Cela veut donc dire qu'*environ la moitié des patientes prenant correctement ce traitement présenteront une diminution des marqueurs osseux <30%. L'utilisation clinique des marqueurs osseux pour suivre un traitement par raloxifène ne permettra donc pas d'identifier de manière fiable, à l'échelon individuel, les mauvaises répondeuses ou les femmes ayant un problème d'observance et il sera délicat d'arrêter ce traitement en raison d'une absence de réponse significative du marqueur.* Si toutefois les marqueurs sont dosés sous raloxifène, nous conseillons la pratique suivante : **i)** utiliser un marqueur de formation plutôt qu'un marqueur de résorption, **ii)** doser le marqueur après un an de

traitement, **iii**) si la valeur est dans les normes préménopausiques, délivrer le message positif d'efficacité et poursuivre le traitement. Si la valeur est supérieure aux normes préménopausiques, prévoir une mesure de DMO pour dans un an (c'est-à-dire deux ans après le début du traitement) et continuer le traitement. Si la DMO à deux ans est stable ou a augmenté par rapport à la valeur avant traitement, continuer le traitement. Si la DMO a diminué, changer de traitement.

- Avec la *PTH en séquentiel (FORSTEO)*. On utilisera de préférence le *P1NP* et on recherchera une augmentation significative de ce marqueur après 3 mois de traitement (de l'ordre de 10 µg/L). Si on n'observe pas d'augmentation significative, on vérifiera la fiabilité du stylo injecteur utilisé (fuite possible...) et sa bonne utilisation par la patiente, le mode de conservation du médicament, et l'adhérence de la patiente aux injections.

- Avec le *ranelate de strontium* (Protélos). A priori *pas d'utilité des marqueurs osseux en suivi*.

5) A la fin d'une séquence thérapeutique avec un médicament, il faut réévaluer le risque de fracture de la patiente et envisager éventuellement le relais par un autre médicament. On peut donc se retrouver dans une situation analogue à celle décrite dans l'item 3 du présent paragraphe et utiliser un marqueur osseux comme aide à la décision thérapeutique. Il faut dans ce cas attendre environ 3 mois après l'arrêt du traitement par THM, raloxifène ou PTH pour doser ce marqueur et un à deux ans après l'arrêt d'un bisphosphonate (en raison de l'effet rémanent de ces produits). Nous n'avons pas aujourd'hui d'information sur le délai à respecter après l'arrêt du strontium.

Autres applications potentielles des marqueurs osseux

Bien que l'ostéoporose post-ménopausique constitue le domaine d'application clinique privilégié des marqueurs osseux, ceux-ci présentent aussi un intérêt dans l'investigation d'autres maladies osseuses et notamment la maladie de Paget et la maladie osseuse métastatique.

Ostéoporose masculine

L'ostéoporose de l'homme âgé représente un problème important de santé publique puisque 25 à 30% de toutes les fractures ostéoporotiques interviennent en fait chez l'homme. Toutefois, cette maladie reste beaucoup moins étudiée que l'ostéoporose post-ménopausique, et notamment en ce qui concerne les marqueurs osseux.

Contrairement à la forte élévation des marqueurs osseux après la ménopause qui est concomitante à la perte osseuse accélérée, les variations avec l'âge des marqueurs osseux chez l'homme sont beaucoup plus discrètes, ne sont pas retrouvées dans toutes les études et avec tous les marqueurs osseux.

Comme dans l'ostéoporose post ménopausique les marqueurs osseux pourraient avoir un intérêt dans l'évaluation de risque de fracture et dans le suivi des traitements. Malheureusement on ne dispose actuellement que de très peu d'études prospectives qui ont étudié les relations entre marqueurs osseux et risque de fracture chez l'homme. En effet, une seule étude cas-contrôle chez des hommes âgés (l'étude Australienne Dubbo) a montré que des taux augmentés d'ICTP étaient significativement associés à un risque de fracture vertébrale symptomatique et non vertébrale plus important. Étant donné que le recueil du sang n'a pas été standardisé dans cette étude, l'analyse du rôle prédictif d'autres marqueurs comme le CTX sérique n'a pas pu être évalué. En conséquence et dans l'attente de données plus solides, il est prématuré de préconiser le dosage des marqueurs osseux dans l'évaluation du risque de fracture chez l'homme.

Chez les patients souffrant d'hypogonadisme, les traitements par la testostérone s'accompagnent d'une diminution progressive des marqueurs de la résorption osseuse au cours des premiers mois de traitement. Pour les marqueurs urinaires, il faudra toutefois interpréter avec précaution cette diminution car elle pourrait en partie refléter une augmentation de masse musculaire entraînant une augmentation de la concentration urinaire de créatinine (utilisée pour corriger les marqueurs urinaires). En revanche les marqueurs de la formation osseuse et notamment l'ostéocalcine augmentent de manière importante surtout au cours des 6 premiers mois, pour ensuite se stabiliser et progressivement diminuer (après 12 mois). L'augmentation initiale reflète l'effet stimulateur direct de la testostérone (directement ou par l'intermédiaire d'une conversion en 17β estradiol) sur les ostéoblastes, alors que la diminution tardive indique un ralentissement général du remodelage osseux. Toutefois, ici encore les études sont parcellaires et peu très peu d'entre-elles ont évalué les relations entre modifications des marqueurs osseux et changements de DMO ou incidence de fracture.

Les traitements anti-resorptifs par les bisphosphonates alendronate, risedronate ont été évalués dans des études randomisées contre placebo et elles montrent des diminutions des marqueurs de la formation et de la résorption osseuse dont la rapidité et l'amplitude sont similaires à celles observées chez la femme ménopausée. De même chez des hommes ostéoporotiques traités par la PTH 1-34 (Forsteo), on observe, comme chez la femme, des augmentations très importantes et très rapides des marqueurs de la formation osseuse (PINP notamment) suivies par des augmentations des marqueurs de la résorption osseuses. Toutefois, on ne dispose pas de données qui ont corrélé les changements des marqueurs osseux sous traitements par bisphosphonates ou PTH et leurs effets sur la DMO ou les fractures incidentes.

Donc en résumé, les données sur l'intérêt clinique des marqueurs osseux dans l'ostéoporose masculine sont encore très limitées. Il semble toutefois qu'ils pourraient être utiles pour rapidement documenter un effet positif des traitements par les bisphosphonates ou la PTH.

Maladie de Paget

La maladie de Paget est caractérisée par une très forte augmentation du remodelage osseux dans des zones localisées du squelette ce qui se traduit par une production importante de matrice osseuse de qualité médiocre. Ceci va se traduire par une fragilité osseuse augmentée. Notamment, la structure lamellaire rencontrée dans un os normal (qui résulte de l'agencement parallèle des molécules de collagène de type I) est désorganisée avec une prédominance d'un os dit "tissé" dans lequel les fibres de collagène ne sont pas régulièrement agencées.

Les marqueurs osseux sont utilisés en routine dans cette maladie pour évaluer l'activité de la maladie et pour suivre l'efficacité de traitements par bisphosphonates qui sont dans cette maladie le médicament de choix. Étant donné que l'élévation du remodelage osseux est généralement très importante dans cette maladie, la mesure de l'activité phosphatase alcaline totale constitue pour des raisons de coût et de disponibilité, le marqueur le plus souvent utilisé dans ces deux applications cliniques. Bien que la PAL totale convienne tout à fait chez la plupart des patients, elle présente une sensibilité insuffisante dans deux situations particulières : chez les patients présentant une maladie qui touche un seul os (maladie monostotique), et d'autant plus que cet os est de petite taille, et chez les patients ayant une maladie purement ostéolytique. Dans ces deux situations les nouveaux marqueurs biologiques décrits ci-dessus dans l'ostéoporose peuvent être intéressants. Dans une étude comparant un panel de différents marqueurs de la formation et de la résorption osseuses chez 43 patients, dont 16 présentaient une maladie monostotique, les deux marqueurs de la formation les plus sensibles étaient la PAL osseuse et le PINP. Ces deux marqueurs osseux étaient aussi les plus efficaces pour démontrer l'efficacité d'un traitement par le pamidronate ou le tiludronate. En ce qui concerne les marqueurs de la résorption osseuse, l'excrétion urinaire de NTX et de α CTX apparaissent les marqueurs les plus sensibles pour évaluer l'activité de la maladie et la réponse au traitement.

En effet, l'os pagétique est caractérisé par un défaut de maturation du collagène de type I se traduisant par une proportion plus faible de forme β CTX par rapport à la forme native α CTX. (40 % de β CTX dans l'os pagétique, 70 % dans l'os lamellaire normal). Nous avons montré chez 26 patients atteints de la maladie de Paget que l'excrétion urinaire de α CTX était augmentée de 13.5 fois par rapport aux contrôles alors que le β CTX était augmenté de 3.5 fois uniquement, ce qui se traduit par un rapport urinaire

α/β CTX anormal. Aussi, dans la maladie de Paget, le dosage du CTX "classique" (β CTX, Crosslaps) est peu sensible. Au cours de traitements par des bisphosphonates, il a été montré que le α CTX diminuait de manière beaucoup plus importante que le β CTX, se traduisant par une normalisation progressive rapport α/β CTX. Il a donc été suggéré que la mesure du rapport α/β CTX pourrait être un index permettant d'évaluer l'efficacité des traitements à induire la formation d'un os lamellaire normale (qui est caractérisé par une maturation plus importante du collagène) dans la maladie de Paget.

Métastases osseuses

Les métastases osseuses représentent une complication très fréquente des cancers (notamment dans les cancers du sein, de la prostate, de la thyroïde, des reins et poumons) et au moins 25% des patients avec cancer développeront des métastases osseuses. Elles sont responsables sur le plan clinique de la survenue d'"évènement osseux" comme les fractures, des épisodes d'hypercalcémie et des douleurs osseuses très importantes. L'évaluation des métastases osseuses revêt une importance clinique essentielle car elle détermine les modalités thérapeutiques. En effet la découverte de métastases osseuses entraîne souvent la mise en place d'un traitement systémique par chimiothérapie et par bisphosphonate en traitement adjuvant. Les métastases osseuses peuvent être identifiées par l'intermédiaire de quatre techniques d'imagerie médicale: la radiographie standard, la tomographie, la scintigraphie osseuse et l'imagerie par résonance magnétique (IRM). La radiographie est fréquemment utilisée pour évaluer les lésions symptomatiques, mais elle est peu sensible. En revanche, la scintigraphie osseuse est sensible mais peu spécifique. Par ailleurs, chez les patients traités, l'augmentation du signal qui résulte de l'incorporation du bisphosphonate marqué (utilisé comme traceur en scintigraphie osseuse) dans les sites de formation, n'est pas un index fiable de la progression de la maladie, car elle peut aussi refléter la reconstruction osseuse. Enfin, la tomographie et l'IRM sont des techniques plus sensibles que la radiographie pour la détection des lésions ostéolytiques, mais ces techniques restent onéreuses et ne représentent pas des outils efficaces pour évaluer le squelette dans sa globalité.

Etant donné que les métastases osseuses (à la fois ostéolytiques et ostéocondensantes) s'accompagnent d'altérations du remodelage osseux, il a été suggéré que les marqueurs biochimiques du remodelage osseux pourraient être utiles à l'évaluation du processus métastatique

Les marqueurs osseux sont potentiellement utiles pour diagnostiquer la présence de métastases osseuses, prédire la survenue d'évènement osseux et la survie et pour suivre l'efficacité des traitements, notamment par les bisphosphonates.

Diagnostic de métastases osseuses

De nombreuses publications ont montré que chez les patients avec cancer et métastases osseuses de différentes origines, incluant le sein et la prostate, les marqueurs biochimiques de la formation et de la résorption osseuse étaient augmentés par rapport aux patients sans métastases osseuses. Dans le cancer de la prostate, seule situation dans laquelle les marqueurs de la formation peuvent être utiles, l'ALP osseuse et le PINP semblent les plus sensibles et les plus spécifiques pour détecter la présence des métastases osseuses avec une bonne corrélation avec le degré des lésions osseuses évalué par scintigraphie. En revanche, l'ostéocalcine est peu sensible pour évaluer les métastases osseuses dans le cancer de la prostate. L'augmentation de la formation osseuse associée aux métastases osseuses prostatiques s'accompagne aussi d'une augmentation de la résorption osseuse comme le montre l'élévation importante des paramètres histologiques et biochimiques de la résorption osseuse. Ainsi dans une étude réalisée chez 39 patients avec cancer de la prostate et métastases osseuses nous avons montré une élévation plus importante de la concentration urinaire de α CTX et de la concentration urinaire et sérique de β CTX que de celle des marqueurs de la formation osseuse.

Les différents marqueurs de la résorption osseuse présentent des sensibilités variables pour détecter la présence des métastases osseuses. Une étude récente comparant la valeur diagnostique de différents marqueurs de la résorption osseuse a montré que le NTX et le α CTX étaient les marqueurs les plus sensibles pour détecter l'augmentation de la résorption osseuse chez des patients atteints de métastases osseuses d'origine prostatique, mammaire ou pulmonaire, alors que le β CTX et le ICTP étaient moins performants. La faible sensibilité du β CTX dans l'évaluation de l'ostéolyse maligne pourrait être liée en partie à des modifications du processus d'isomérisation du collagène comme discuté ci-dessus.

En résumé, la sensibilité des marqueurs osseux pris de manière individuelle reste insuffisante (de l'ordre de 50 à 60%) pour faire un diagnostic efficace de la présence de métastases osseuses et donc pour remplacer la scintigraphie osseuse. La combinaison de différents marqueurs pourrait permettre d'améliorer cette sensibilité (nous venons de montrer dans le cancer du sein que l'association de CTX, ICTP et TRAP5b permettait d'identifier correctement 85% des patients avec et sans métastases osseuses). Néanmoins, puisqu'ils sont plus spécifiques (souvent supérieure à 90%) des

atteintes osseuses que les marqueurs tumoraux, ils pourraient être utiles en combinaison avec ces derniers pour éviter la réalisation de scintigraphie osseuse, comme le suggèrent certaines données dans le cancer de la prostate.

Prédiction de la survenue d'événements osseux et de la survie

Les patients cancéreux dont le seul site métastatique est l'os ont une progression et une survie très hétérogène et il n'existe pas de critères efficaces pour prédire la progression de la maladie. Plusieurs analyses rétrospectives d'études prospectives récentes indiquent qu'une élévation des marqueurs biochimiques de la résorption osseuse, notamment le NTX urinaire et de la formation osseuse (PAL osseuse) pourrait être prédictive d'une progression plus rapide de la maladie et d'une survie réduite. Ainsi dans les groupes placebo des études de phase III de l'acide zolédronique, il a été montré que les patients avec cancer de la prostate ou du poumon qui avaient des taux de NTX supérieurs à 100 nmoL/mmol créatinine avaient un risque multiplié par 1.6 de subir un événement osseux et un risque 2.7 fois plus important de décès par rapport aux patients présentant des NTX plus faibles. Dans le cancer de la prostate uniquement, la PAL osseuse est un facteur pronostic de la survie indépendamment des autres facteurs de risque comme l'âge, le PSA, le taux d'hémoglobine ou le statut général du patient.

Suivi des traitements par les bisphosphonates

Les bisphosphonates constituent aujourd'hui le traitement standard chez les patients avec métastases osseuses pour prévenir la survenue d'événements osseux. Les bisphosphonates aux doses et protocoles d'administration actuels ne sont toutefois pas efficaces chez tous les patients et peuvent présenter des effets secondaires importants. Il est donc important de disposer de moyens sensibles pour suivre l'efficacité de ces médicaments à l'échelon individuel.

Comme dans l'ostéoporose postménopausique, plusieurs études en ouvert et randomisées contre placebo ont montré que les bisphosphonates, clodronate, pamidronate, ibandronate et zoledronate entraînaient une diminution importante et dose dépendante des marqueurs biochimiques de la résorption osseuse chez les patients avec métastases osseuses d'origine mammaire ou prostatique et dans le myélome. Dans une étude randomisée contre placebo testant l'effet d'une injection de

pamidronate 120 mg (sans traitement concomitant par chimio ou hormonothérapie) il a été montré que la diminution du NTX et de β CTX urinaire était associée à la réponse clinique évaluée par un indice de douleur osseuse après 6 mois. Plus récemment, il a été rapporté toujours dans les analyses rétrospectives des essais avec l'acide zolédronique que la normalisation des taux de NTX urinaire sous traitement par bisphosphonate s'accompagnait d'une réduction plus importante des événements osseux et d'une survie augmentée par rapport aux patients qui ne voyaient pas de normalisation de leur niveau de NTX. Ces résultats très intéressants suggèrent que les marqueurs de la résorption osseuse pourraient être utiles au suivi de l'efficacité thérapeutique et éventuellement permettre une individualisation (de dose ou de délai entre les différentes administrations) du traitement. En effet, un des problèmes rencontrés récemment par l'utilisation à forte dose des bisphosphonates chez des patients métastatiques est la survenue, quoique rare, d'ostéonécrose de la mâchoire. Si les marqueurs osseux pouvaient guider le traitement en permettant d'optimiser son efficacité sur la survenue d'évènements osseux tout en réduisant ses effets secondaires, cela serait très utile pour améliorer la qualité de vie des patients. Ces hypothèses sont actuellement testées dans des études prospectives.

En résumé, bien que prometteuses, les données actuellement disponibles sur l'utilisation des marqueurs osseux dans l'évaluation en routine des patients métastatiques restent exploratoires. Clairement, les marqueurs actuels ne peuvent être utilisés seuls pour le diagnostic de métastases osseuses. Les applications cliniques les plus prometteuses des marqueurs osseux sont pour prédire la progression de la maladie et pour suivre l'efficacité des traitements par bisphosphonates.

Pour en savoir plus

Plutôt que de vous présenter un texte avec des références bibliographiques exhaustives comme dans un article scientifique, nous avons choisi de vous proposer un certain nombre de lectures complémentaires avec, pour certaines d'entre elles, un court commentaire expliquant notre choix.

Ouvrages et articles généraux sur l'ostéoporose

- Ostéoporose, prévention et traitement. Roux C, Vellas B Eds. Serdi Poulisher, Paris 1998.
- Osteoporosis. Marcus R, Feldman D, Kelsey J Eds. San Diego, calif: Academic press. 1996.
- Seeman E, Delmas P. Bone quality – the material and structural basis of bone strength and fragility. N Engl J Med 2006; 354: 2250-2261.

Le remodelage osseux

- Mundy GR, et al. Bone remodeling. Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism. Fifth edition. American Society for bone and mineral research; 2003:46-58

Cette brève revue fait le point sur les facteurs de régulation locaux et systémique du remodelage osseux.

Recherche d'une cause d'ostéoporose secondaire

- Tannenbaum C et al. Yield of laboratory testing to identify secondary contributors of osteoporosis in otherwise healthy women. J Clin Endocrinol Metab 2002; 87: 4431-4437.

Une des seules études ayant tenté, avec une méthodologie correcte, de répondre à la question : "quel exploration biologique pour éliminer une cause d'ostéoporose secondaire ?". Les auteurs ont également pris en compte l'aspect économique d'une telle démarche.

- Wagnan R, Marcus R. Editorial : beyond bone mineral density – navigating the laboratory assessment of patients with osteoporosis. J Clin Endocrinol Metab 2002; 87: 4429-4430.
- Favus M. Editorial : postmenopausal osteoporosis and the detection of so-called secondary causes of low bone density. J Clin Endocrinol Metab 2005; 90 : 3800-3801.

Exploration du métabolisme phospho-calcique

Quelques ouvrages de référence :

- Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism. Favus M Ed. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphie. Fifth Edition 2003.

Edité sous l'égide de l'American Society of Bone and Mineral Research (ASBMR), un ouvrage très précieux.

- Physiologie rénale et désordres hydroélectrolytiques. Paillard M Ed. Hermann, éditeurs des sciences et des arts, Paris, 1992

- Maladies métaboliques osseuses de l'adulte. Kuntz D Ed. Médecine-Sciences Flammarion., Paris, 1996.

Excellent ouvrage en français. Prochaine édition actualisée prévue en 2007.

Quelques articles sur des sujets précis

- Feldman D. Vitamin D, parathyroid hormone, and calcium : a complex network. Am J Med 1999; 107: 637-639.

- Souberbielle JC et al. Practical consideration in PTH testing. Clin Chem Acta 2006;

Une revue récente de la littérature sur les aspects analytiques et cliniques des différentes générations de dosages de PTH.

- Lips P. Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly : consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications. Endocr Rev 2001; 22: 477-501.

Une excellente revue de la littérature sur les conséquences métaboliques du déficit en vitamine D. Egalement une discussion importante sur les valeurs de référence de la 25OHD.

- Dawson-Hughes B, et al. Estimates of optimal vitamin D status. Osteoporos Int 2005; 16 : 713-716.

L'article, co-signé par 6 spécialistes mondialement reconnus, qui vous permettra de justifier que la limite inférieure des valeurs souhaitables de 25OHD (c'est-à-dire la concentration circulante qu'il faut avoir au moins) est de 30 ng/mL (75 nmol/L).

- Souberbielle JC et al. J Clin Endocrinol Metab 2001 ; 86 : 3086-3090. et J Clin Endocrinol Metab 2003 ; 88 : 3501-3504.

Deux articles qui discutent de la prise en compte du statut vitaminique D dans l'établissement des valeurs de référence de PTH.

- Bilezikian J et al. Summary statement from a workshop group on asymptomatic primary hyperparathyroidism : a perspective for the 21st millenium. J Clin Endocrinol Metab 2002 ; 87 : 5353-5361.

Le résumé du dernier consensus sur la prise en charge de l'hyperparathyroïdie primitive (HPP) asymptomatique.

Grey A et al. Vitamin D repletion in patients with primary hyperparathyroidism and coexistent vitamin D insufficiency. J Clin Endocrinol Metab 2005; 90 : 2122-2126.

La démonstration que la correction (prudente) d'un déficit en vitamine D chez des patients HPP n'élève pas la calcémie.

- Jacobs T, Bilezikian J. Rare causes of hypercalcemia. J Clin Endocrinol metab 2005, 90 : 6316-6322.

Revue récente de la littérature. A utiliser lorsque, devant une hypercalcémie, aucun des diagnostics proposés dans le chapitre V de ce cahier Bioforma ne peut être posé.

- Imel E, Econs M. Fibroblast growth factor 23 : roles in health and disease. J Am Soc nephrol 2005; 16: 2565-2575.

Une revue sur le sujet (relativement) nouveau des phosphatonines.

Les marqueurs du remodelage osseux

- Garnero P, Delmas PD: Investigation of bone: bone turnover in Rheumatology, 4rd edition, Hochberg M.C., Silman A.J., Smolen J.S., Weinblatt M.E., Weisman M.H. (eds), Harcourt Health Sciences Ltd (London, UK Ltd (London, UK) Sous presse.

Une revue qui détaille les aspects analytiques et techniques des marqueurs osseux ainsi que leurs applications cliniques dans l'ostéoporose. Le livre contient aussi d'autres revues complètes écrites par des experts de renommée internationale sur différents domaines de la rhumatologie clinique.

- Garnero P et al. Les marqueurs biologiques du remodelage osseux : variations préanalytiques et recommandations pour leur utilisation. Ann Biol Clin (Paris). 2000;58:683-704

Une revue complète en français des aspects pré-analytiques et analytiques des dosages des marqueurs osseux. Les recommandations du groupe de travail de la SFBC.

- Garnero P., Delmas P.D. 2004. Contribution of Bone Mineral Density and Bone Turnover Markers to the estimation of Risk of Osteoporotic Fracture in Postmenopausal Women. J Musculoskel Neuron Interact, volume 4 n°1, pp:50-63.

Article détaillant les études qui ont analysées les relations entre marqueurs osseux, densité minérale osseuse et risque de fracture chez la femme ménopausée. L'utilisation combinée de ces deux paramètres avec les facteurs cliniques pour prédire le risque de fracture est discutée.

- Delmas P.D. 2000. Markers of bone turnover for monitoring treatment of osteoporosis with antiresorptive drugs. Osteoporos Int, suppl. 6:S66-S76 ; (2000)

Cette revue décrit l'effet des différents traitements de l'ostéoporose sur les marqueurs osseux

- Delmas P.D., et al 2000. The Use of Biochemical Markers of Bone Turnover in Osteoporosis. Osteoporos Int., 11, suppl. 6, S2-S17.

Cette revue propose une nomenclature des différents marqueurs osseux ainsi que des recommandations -adoptées par la fondation internationale contre l'ostéoporose - pour leur utilisation clinique dans l'ostéoporose. Il est important de noter que les recommandations de

cet article se basent sur les données disponibles en l'an 2000, c'est-à-dire essentiellement sur les relations entre changements de marqueurs osseux et changements de densité minérale osseuse sous traitement. Les recommandations restent valables pour l'utilisation des marqueurs dans l'aide à la décision thérapeutique, mais doivent être mises à jour pour le suivi des traitements en fonction des données plus récentes concernant les relations entre changements de marqueurs osseux et risque fracturaire sous traitements anti-résorbants.

- Eastell T, et al. Relationship of early changes in bone resorption to the reduction in fracture risk with risedronate J Bone Miner 2003; 18: 1051-1056.

Cet article montre que les changements de marqueurs après 3 à 6 mois de traitement antirésorbant (ici le risedronate oral) prédisent son efficacité anti-fracturaire après 1 à 3 ans. Les questions de seuil de diminution de marqueurs permettant d'obtenir une efficacité anti-fracturaire sont aussi abordées.

Sczulc P et al. Cross-sectional evaluation of bone metabolism in men. J Bone Miner Res 2001; 16:1642-1650

Une description détaillée des changements des marqueurs osseux avec l'âge dans une grande population française d'hommes de 30 à 90 ans

Meier C et al. Bone resorption and osteoporotic fractures in elderly men. J Bone Miner Res 2005; 20:579-587

La seule étude prospective actuelle sur les associations entre marqueurs osseux et risque de fracture chez l'homme

Orwoll E et al. Alendronate treatment of osteoporosis in men. N Engl J Med 2000; 343:604-610

Une étude randomisée contre placebo décrivant les effets de l'alendronate sur les marqueurs osseux et la densité minérale osseuse

- Coleman RE. The clinical use of bone resorption markers in patients with malignant bone disease. Cancer 2002;94:2521-33.

Cet article écrit par un expert dans le diagnostic et le traitement des métastases osseuses fait le point sur l'utilisation clinique des marqueurs osseux pour le suivi des patients souffrant de cette pathologie.

ISSN : 1293-2892
ISBN : 2-913633-50-1
EGOPRIM
45, rue de la Glacière 75013 Paris
Dépôt légal : Mars 2007



CAHIER DE **Formation** Biologie médicale

Cahiers de formation déjà parus

- | | |
|---|--|
| N° 1 : Hématologie | N° 22 : Syndrome des anti-phospholipides |
| N° 2 : Immunoanalyse | N° 23 : Parasites sanguins |
| N° 3 : Parasitologie | N° 24 : Biochimie pédiatrique |
| N° 4 : Bactériologie | N° 25 : Les moisissures d'intérêt médical |
| N° 5 : Hormonologie - Gazométrie | N° 26 : Immuno-hématologie et groupes sanguins |
| N° 6 : G.B.E.A | N° 27 : Les marqueurs cardiaques |
| N° 7 : Immuno-allergie (1) | N° 28 : Immunoglobulines monoclonales |
| N° 8 : Hémoglobines glyquées - Lipides | N° 29 : Mycobactéries - Mycobactérioses |
| N° 9 : Dosage des médicaments Tome I | N° 30 : Exploration de la fonction de reproduction - versant féminin |
| N° 10 : Hématologie Cas illustrés | N° 31 : Les dermatophytes |
| N° 11 : Amibes et flagellés intestinaux | N° 32 : Les marqueurs tumoraux sériques des tumeurs solides |
| N° 12 : Les maladies à Prions | N° 33 : Sport et Biologie |
| N° 13 : Autoimmunité et autoanticorps | N° 34 : Borréliose de Lyme |
| N° 14 : L'exploration de la thyroïde | N° 35 : L'Inflammation |
| N° 15 : Dépistage de la trisomie 21 | N° 36 : Le virus Epstein-Barr et les marqueurs de l'infection |
| N° 16 : Immuno-allergie (2) | N° 37 : Maladies auto-immunes du foie |
| N° 17 : Virus des hépatites A (VHA) et E (VHE) | N° 38 : Les vitamines |
| N° 18 : Dosage des médicaments Tome II | |
| N° 19 : Vaginites et vaginoses | |
| N° 20 : Hémostase et thrombose | |
| N° 21 : Virus des hépatites B (VHB), Delta (VDH), C (VHC), autres | |
-

BIOFORMA est la structure nationale qui gère et organise la formation continue conventionnelle des directeurs et directeurs adjoints de L.a.b.m privés.

Cette formation continue est financée par les trois Caisses Nationales de l'Assurance Maladie (C.N.A.M.T.S., C.C.M.S.A. et C.A.N.A.M.) dans le cadre de la convention passée entre elles et les trois syndicats de biologistes (S.d.B., S.N.M.B. et S.L.B.C.).

A ce titre, BIOFORMA édite des cahiers de formation comme celui-ci.

Ces ouvrages sont distribués à chaque laboratoire d'analyse de biologie médicale, privé ou hospitalier, aux inspecteurs des DRASS, aux pharmaciens et médecins conseils des CRAM, aux responsables de la DGS et du Ministère de la Santé. Les précédents numéros sont disponibles à la consultation sur le site Internet www.bioforma.net.

Ces livres ne sont pas en vente dans le commerce et le tirage est de 6500 exemplaires.

ISSN : 1293-2892
ISBN : 2-913633-50-1
Dépôt légal : MARS 2007