

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

N°151

par

Camille RAMIREZ

née le 2 septembre 1983 à Libourne

Présentée et soutenue publiquement le 22 octobre 2012

DIAGNOSTIC ET PRONOSTIC DES TROUBLES MINÉRAUX ET OSSEUX
ASSOCIÉS AUX MALADIES RÉNALES CHRONIQUES EN HÉMODIALYSE :
APPORT DE MARQUEURS CLINIQUES ET BIOLOGIQUES

Président : Monsieur le Professeur Jean-Marie BARD

Directeur de thèse : Madame le Docteur Kalyane BACH

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES ABRÉVIATIONS	5
LISTE DES FIGURES	7
LISTE DES TABLEAUX	9
INTRODUCTION	10
GÉNÉRALITÉS.....	12
I. LE MÉTABOLISME OSSEUX ET PHOSPHOCALCIQUE.....	12
1. <i>Le métabolisme osseux</i>	12
1.1. Le tissu osseux : composition et structure	12
1.2. Physiologie du remodelage osseux	14
1.3. Régulation du remodelage osseux : les régulateurs osseux	16
1.4. Marqueurs biologiques d'ostéoformation et de résorption.....	27
2. <i>Métabolisme phosphocalcique</i>	34
2.1. Homéostasie phosphocalcique et sa régulation.....	34
2.2. Exploration biologique du métabolisme phosphocalcique	35
II. LES TROUBLES MINÉRAUX ET OSSEUX ASSOCIÉS AUX MALADIES RENALES CHRONIQUES.....	38
1. <i>Définition des TMO-MRC</i>	38
2. <i>Anomalies biologiques</i>	39
3. <i>Ostéodystrophie rénale</i>	40
3.1. Physiopathologie	40
3.2. Formes cliniques.....	43
3.3. Épidémiologie.....	45
3.4. Biopsie osseuse	47
3.5. Utilité de la mesure de la densité minérale osseuse	48
3.6. Utilité des marqueurs biologiques osseux.....	49
4. <i>Fractures</i>	53
4.1. Épidémiologie.....	53
4.2. Facteurs de risque de fracture	55
4.3. Examens morphologiques	56
4.4. Utilité des marqueurs biologiques osseux.....	58
5. <i>Calcifications vasculaires</i>	58
5.1. Les différents types de calcifications vasculaires	58
5.2. Épidémiologie.....	59
5.3. Facteurs de risque cardiovasculaire	60
5.4. Physiopathologie	61
5.5. Progression des calcifications vasculaires	63
5.6. Évaluation radiologique.....	64

5.7. Marqueurs biologiques, calcifications vasculaires et risque cardiovasculaire.....	65
6. Relation os – système vasculaire	67
OBJECTIFS	69
PATIENTS ET MÉTHODES	70
I. SCHEMA DE L'ÉTUDE	70
II. POPULATION ETUDIÉE	70
1. Caractéristiques générales	70
2. Critères d'inclusion.....	70
3. Critères d'exclusion.....	71
4. Suivi.....	71
III. CALENDRIER DE L'ÉTUDE	71
IV. DONNÉES CLINIQUES.....	72
V. DENSITÉ MINÉRALE OSSEUSE	74
VI. DONNÉES BIOLOGIQUES	74
1. Prélèvements	74
2. Dosages biochimiques	75
2.1. Trousses de dosage utilisées	75
2.2. Particularités techniques.....	77
VII. FRACTURES VERTEBRALES	78
VIII. CALCIFICATIONS VASCULAIRES.....	78
IX. ANALYSES STATISTIQUES	79
RÉSULTATS	81
I. ANALYSE DESCRIPTIVE DE LA POPULATION DE PATIENTS HEMODIALYSES.....	81
1. Données épidémiologiques et cliniques.....	81
1.1. Caractéristiques générales	81
1.2. Facteurs de risque cardiovasculaire	82
1.3. Traitements	83
2. Données biologiques.....	84
2.1. Bilan phosphocalcique et remodelage osseux	84
2.2. Inflammation et dénutrition.....	92
3. Ostéodensitométrie	93
4. Fractures.....	96
5. Calcifications vasculaires	96
II. ÉTUDE TRANSVERSALE : ASSOCIATIONS ENTRE MARQUEURS CLINICO-BIOLOGIQUES ET RISQUE FRACTURAIRE OU SEVERITE DES CALCIFICATIONS VASCULAIRES.....	97
1. Fractures de fragilité.....	97
1.1. Fractures tous types confondus	97

1.2.	Fractures vertébrales	101
2.	<i>Calcifications vasculaires</i>	104
III.	ÉTUDE PROSPECTIVE : ROLE PREDICTIF DES MARQUEURS CLINICO-BIOLOGIQUES POUR LA SURVENUE DE FRACTURES, D'ÉVÉNEMENTS CARDIOVASCULAIRES ET POUR LA MORTALITE GLOBALE.....	108
1.	<i>Survenue de fractures</i>	108
1.1.	Incidence des fractures	108
1.2.	Rôle prédictif des marqueurs clinico-biologiques	108
2.	<i>Survenue d'événements cardio-vasculaires</i>	111
2.1.	Incidence des événements cardiovasculaires.....	111
2.2.	Rôle prédictif des marqueurs clinico-biologiques	112
3.	<i>Mortalité</i>	115
3.1.	Taux de mortalité et causes des décès	115
3.2.	Rôle prédictif des marqueurs clinico-biologiques	115
IV.	DONNEES MANQUANTES	119
V.	ÉVOLUTION DES PARAMETRES BIOLOGIQUES AU COURS DU SUIVI	119
	DISCUSSION	120
I.	CARACTERISTIQUES SOCIO-DEMOGRAPHIQUES DE LA POPULATION ETUDIEE	120
II.	BILAN PHOSPHOCALCIQUE, REMODELAGE OSSEUX ET OSTEODYSTROPHIE RENALE	121
1.	<i>Bilan phosphocalcique</i>	121
2.	<i>Intérêt des marqueurs biologiques pour l'estimation du remodelage osseux et de l'ostéodystrophie rénale</i>	122
III.	RISQUE FRACTURAIRE.....	126
1.	<i>Ostéodensitométrie et fracture</i>	126
2.	<i>Intérêt des marqueurs biologiques osseux</i>	128
IV.	CALCIFICATIONS VASCULAIRES, MORBIDITE CARDIOVASCULAIRE ET RELATION OS-SYSTEME VASCULAIRE	129
V.	MORTALITE	134
	CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	136
	BIBLIOGRAPHIE	138

LISTE DES ABRÉVIATIONS

β -CTx	Télopeptides β C-terminaux du collagène
Ca	Calcium
CRP	C-reactive protéine
CaSR	<i>Calcium sensing receptor</i>
CMLV	Cellules musculaires lisses vasculaires
CV	Calcifications vasculaires
DFG	Débit de filtration glomérulaire
DMO	Densité minérale osseuse
FGF23	<i>Fibroblast Growth Factor 23</i>
IRC	Insuffisance rénale chronique
IRC stade 5	Insuffisance rénale chronique stade 5
IRC stade 5D	Insuffisance rénale chronique stade 5 dialysée
IRC stade 5 HD	Insuffisance rénale chronique stade 5 hémodialysée
KDIGO	<i>Kidney Disease : Improving Global Outcomes</i>
MRC	Maladie rénale chronique
OPG	Ostéoprotégérine
P	Phosphate
P1NP	Propeptide N-terminal du collagène de type I
PAL	Phosphatases alcalines
PALos	Phosphatases alcalines osseuses

PTH	Hormone parathyroïdienne (parathormone)
iPTH	Hormone parathyroïdienne intacte
RANKL	<i>Receptor activator of nuclear factor NFκB ligand</i>
sRANKL	<i>Receptor activator of nuclear factor NFκB ligand soluble</i>
TMO-MRC	Troubles minéraux et osseux liés aux maladies rénales chroniques
TRAP5b	Phosphatase acide résistante au tartrate 5b
25 (OH) D	25-hydroxy vitamine D
1,25 (OH) ₂ D	1,25-dihydroxy vitamine D ou calcitriol
VDR	<i>Vitamin D receptor</i>

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Os trabéculaire/os cortical, exemple de l'extrémité supérieure du fémur.....	14
Figure 2 : Les étapes du remodelage osseux.....	15
Figure 3 : Les différentes formes de la molécule de PTH et les différents types de dosage.....	19
Figure 4 : Triade RANK/RANKL/OPG dans le contrôle du devenir des ostéoclastes et sa régulation	23
Figure 5 : Molécule de procollagène : triple hélice et propeptides associés	30
Figure 6 : Fragments du collagène de type I : marqueurs spécifiques de la résorption osseuse.....	32
Figure 7 : Concept des TMO-MRC (ou CKD-MBD <i>Chronic Kidney disease Mineral and Bone Disorders</i>) des KDIGO, 2006	39
Figure 8 : Principaux facteurs à l'origine des deux principales formes des troubles du remodelage osseux dans l'IRC	42
Figure 9 : Système de classification TMV pour l'histomorphométrie osseuse et sa corrélation avec les entités cliniques habituellement utilisées	45
Figure 10 : Prévalence des anomalies observées sur les biopsies osseuses des patients hémodialysés.....	46
Figure 11 : Difficultés d'interprétation de la DMO par DEXA chez les patients hémodialysés	49
Figure 12 : Lésions d'athérosclérose et lésions d'artériopathie urémique	59
Figure 13 : Proportion de patients par tranche d'âge et sexe ratio.....	82
Figure 14 : Bilan phosphocalcique et marqueurs du remodelage osseux des patients hémodialysés	85
Figure 15 : Corrélation entre les trousses de dosages Intact PTH de Roche Diagnostics™ et LIAISON® 1-84 PTH de DiaSorin™	87
Figure 16 : Comparaison des trousses de dosage Intact PTH de Roche Diagnostics® et LIAISON® 1-84 PTH de DiaSorin® selon la méthode de Bland-Altman	87
Figure 17 : Classement des patients hémodialysés en fonction de leurs concentrations moyennes annuelles de iPTH et de PALos	90
Figure 18 : Couplage entre formation osseuse et résorption osseuse chez les patients hémodialysés	91
Figure 19 : Albuminémie et dénutrition chez les patients hémodialysés	92
Figure 20 : Ostéodensitométrie osseuse (T-score) par site anatomique	93
Figure 21 : T-score minimal rachis/hanche/poignet selon le sexe.....	94
Figure 22 : Comparaison des patients « ostéoporotiques » et « non-ostéoporotiques » selon la concentration de sRANKL et le ratio sRANKL/OPG.....	95
Figure 23 : Exemple de calcifications aortiques sévères et schématisation du système de score antéro-postérieur de Kauppila.....	96
Figure 24 : Différences des DMO rachis/hanche et rachis/hanche/poignet entre le groupe de patients « Fracture + » et le groupe sans fracture (0 Fracture).....	100
Figure 25 : T-score minimal rachis/hanche et présence de fracture	100

Figure 26 : Sévérité des calcifications aortiques des patients non traités (calcimimétiques -) et des patients traités (calcimimétiques +) par calcimimétiques	107
Figure 27 : Taux de mortalité par tranche d'âge	117

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Facteurs influençant la sécrétion de RANKL et de l'OPG	26
Tableau 2 : Marqueurs biologiques osseux.....	28
Tableau 3 : Modalités de réalisation de la biopsie osseuse	47
Tableau 4 : Recommandations actuelles des KDIGO 2009 des dosages biochimiques pour l'IRC stade 5D	52
Tableau 5 : Incidence des fractures chez les hémodialysés	54
Tableau 6 : Prévalence des CV chez les dialysés	60
Tableau 7 : Calendrier de l'étude	72
Tableau 8 : Trousses de dosage utilisées	76
Tableau 9 : Données épidémiologiques et cliniques de la population de patients hémodialysés.....	81
Tableau 10 : Données biologiques de la population hémodialysée.....	84
Tableau 11 : Cohérence des marqueurs de formation osseuse entre eux et de résorption osseuse entre eux ..	88
Tableau 12 : Corrélation des marqueurs d'ostéoformation avec les marqueurs de résorption osseuse	88
Tableau 13 : Corrélations entre régulateurs osseux et marqueurs d'ostéoformation et de résorption osseuse chez les patients hémodialysés.....	89
Tableau 14 : T-scores par site anatomique et T-scores minimaux rachis/hanche et rachis/hanche/poignet des patients dialysés.....	94
Tableau 15 : Comparaison des patients « ostéoporotiques » et « non-ostéoporotiques ».....	95
Tableau 16 : Comparaison des paramètres épidémiologiques, cliniques, densitométriques et biologiques des patients avec et sans fracture	98
Tableau 17 : Comparaison des paramètres épidémiologiques, cliniques, densitométriques et biologiques des patients avec et sans fracture vertébrale (TV)	102
Tableau 18 : Comparaison des paramètres épidémiologiques, cliniques, densitométriques et biologiques des patients selon la sévérité des CV	105
Tableau 19 : Corrélation entre le score de Kauppila et les paramètres clinico-biologiques	106
Tableau 20 : Comparaison des paramètres épidémiologiques, cliniques, densitométriques et biologiques des patients fracturés et non fracturés	109
Tableau 21 : Modèle de régression logistique pour la survenue de fractures à 1an	111
Tableau 22 : Comparaison des paramètres épidémiologiques, cliniques, densitométriques et biologiques des patients avec événement cardiovasculaire (CV+) et sans événement cardiovasculaire (CV-).....	113
Tableau 23 : Modèle de régression logistique pour la survenue de d'événements cardiovasculaires à 1an	115
Tableau 24 : Comparaison des paramètres épidémiologiques, cliniques, densitométriques et biologiques des patients décédés versus patients vivants à 1 an	116
Tableau 25 : Modèle de régression logistique pour la mortalité à 1an	118

INTRODUCTION

L'insuffisance rénale chronique (IRC) s'accompagne d'une altération précoce de la régulation de l'homéostasie phosphocalcique. Le concept des « Troubles Minéraux et Osseux associés aux Maladies Rénales Chroniques », ou TMO-MRC, a été introduit en 2006 par la conférence de consensus *Kidney Disease : Improving Global Outcomes* (KDIGO) (Moe et al., 2006). L'acronyme TMO-MRC regroupe sous la même entité les anomalies biologiques du métabolisme phosphocalcique, les anomalies osseuses qualitatives et quantitatives, et les calcifications vasculaires. Ces perturbations constituent une complication au long terme de la maladie rénale chronique et sont quasi-constantes chez les patients hémodialysés. Elles apparaissent fortement associées à la morbidité des patients, notamment au risque de fractures de fragilité et aux complications cardiovasculaires, et ont un impact péjoratif sur la survie (Block et al., 2004).

La prise en charge des TMO-MRC apparaît essentielle mais s'avère complexe. Depuis les premières recommandations pour la pratique clinique élaborées par les *Kidney Disease Outcomes Quality Initiative* (K/DOQI) en 2003, un élan a été donné à la recherche clinique et à la réflexion autour du thème du métabolisme minéral et osseux chez les insuffisants rénaux chroniques. L'intérêt est croissant car de nouveaux médicaments à visée osseuse sont développés et la compréhension des mécanismes physiopathologiques s'améliore progressivement. De nouvelles données cliniques et épidémiologiques ont fait évoluer les connaissances et ont justifié la publication de nouvelles *Recommandations de Bonnes Pratiques Cliniques pour le Diagnostic, l'Évaluation, la Prévention et le Traitement des TMO-MRC* par les KDIGO en 2009 (KDIGO, 2009). Cependant, le niveau de preuve de la plupart de ces recommandations est faible. Une des premières difficultés à laquelle se heurtent les médecins est la difficulté d'établir un diagnostic précis de l'ostéodystrophie rénale. La biopsie osseuse reste à ce jour le « *gold standard* » indispensable. Mais cet acte est invasif, souvent difficilement praticable, et n'est pas recommandée en routine pour l'évaluation de l'atteinte osseuse.

Dans ce contexte, il semble important d'optimiser le diagnostic de l'atteinte osseuse par des méthodes non-invasives, en s'appuyant sur l'imagerie et la biologie. De plus,

l'identification de marqueurs du risque fracturaire ou du risque vasculaire pourrait permettre de faciliter la mise en œuvre d'essais thérapeutiques visant à réduire l'incidence des fractures et de la maladie vasculaire chez les patients en IRC. De nombreux marqueurs biologiques du remodelage osseux existent. Certains ont trouvé des applications dans les pathologies osseuses telles que l'ostéoporose, mais, dans le cadre de l'IRC en dialyse, le dosage de trois marqueurs est recommandé en pratique clinique par les KDIGO (la parathormone, les phosphatases alcalines et la vitamine D). Le métabolisme de parathormone, principal marqueur utilisé pour évaluer le remodelage osseux, est complexe chez les patients dialysés et n'est souvent pas suffisamment informatif, notamment en raison de la résistance osseuse à l'action de la PTH. De plus, l'interprétation du dosage est en réalité délicate (Souberbielle, 2006).

L'objectif initial de ce travail était d'évaluer l'apport des marqueurs biologiques osseux et de l'ostéodensitométrie au diagnostic de l'ostéodystrophie rénale dans une population de patients hémodialysés. Néanmoins, l'examen de référence (biopsie osseuse) n'ayant pu être réalisé, nous avons recentré ce travail sur l'évaluation des fractures et des calcifications vasculaires. Les nouveaux objectifs définis sont :

- ❖ Décrire les TMO-MRC à un instant donné à l'aide de méthodes non-invasives,
- ❖ Rechercher une association entre les perturbations des marqueurs clinico-biologiques et la présence de fractures et la sévérité des calcifications vasculaires,
- ❖ Identifier le rôle prédictif des marqueurs clinico-biologiques pour la survenue de fractures, d'événements cardiovasculaires et de décès dans l'année de suivi.

Ce travail s'inscrit dans le cadre du protocole de soins courants du service d'Hémodialyse du CHU de Nantes.

La première partie rassemble des généralités sur le métabolisme minéral et osseux, la régulation du remodelage osseux, la définition des TMO-MRC et les moyens diagnostiques. Nous ferons une revue des principaux marqueurs osseux potentiellement utiles à l'exploration biochimique des TMO-MRC.

Dans la seconde partie, nous aborderons la présentation du protocole et du travail réalisé, ainsi que les résultats et conclusions.

GÉNÉRALITÉS

I. LE MÉTABOLISME OSSEUX ET PHOSPHOCALCIQUE

1. Le métabolisme osseux

1.1. Le tissu osseux : composition et structure

Le tissu osseux est un tissu conjonctif spécialisé dont les fonctions sont d'assurer la mécanique de soutien et l'homéostasie minérale. Il est constitué de cellules spécialisées et d'une matrice extracellulaire composée d'une fraction organique sur laquelle se fixe une phase minérale. La fraction organique se compose de fibres de collagène de type I associées à des protéines non collagéniques (Gla-protéines, glycoprotéines, phosphoprotéines) et contient des cytokines et facteurs de croissance impliqués dans le remodelage osseux et la minéralisation. La phase minérale est formée de phosphate de calcium cristallisé sous forme d'hydroxyapatite. Elle confère à l'os sa rigidité et constitue une réserve minérale importante : 98 à 99 % du calcium et 85 % du phosphate de l'organisme sont incorporés dans les cristaux d'hydroxyapatite.

Il existe plusieurs types de cellules osseuses :

- *Les ostéoclastes*

Riches en enzymes lysosomales, ces cellules sont responsables de la résorption osseuse. Leurs précurseurs (les CFU-GM [*colony forming unit granulocyte-macrophage*]), d'origine hématopoïétique, se différencient sous l'action du M-CSF (*macrophage colony-stimulating factor*) et de RANKL (*receptor activator of nuclear factor NFκB ligand*) puis fusionnent pour donner des ostéoclastes matures multinucléés. La différenciation ostéoclastique est sous la dépendance des cellules pré-ostéoblastiques (Suda et al., 1999).

- *Les ostéoblastes*

Ces cellules, pourvues d'un cytoplasme riche en organites, assurent la synthèse des constituants de la matrice osseuse protéique et des facteurs de croissance. Elles régulent également la minéralisation. Elles se différencient à partir des cellules mésenchymateuses du stroma médullaire sous l'effet de nombreux facteurs (autocrines, paracrines et hormonaux). L'expression des facteurs de transcription Cbfa1/Runx2 (*Core-binding factor subunit alpha-1/Runt-related transcription factor 2*) et Osterix est essentielle à la différenciation ostéoblastique (Komori et al, 1997 ; Nakashima et al, 2002).

- *Les ostéocytes*

Ils jouent un rôle important dans l'homéostasie minérale et osseuse. Ils sont issus de la transformation de certains ostéoblastes emmurés dans la matrice osseuse. Ils possèdent de nombreux prolongements cytoplasmiques, créant un véritable réseau au sein de l'os, favorisant la transmission des signaux mécano-sensoriels et les échanges avec le microenvironnement osseux.

- *Les cellules bordantes*

Elles dérivent des ostéoblastes et recouvrent la surface osseuse quiescente. Elles sont impliquées dans la phase initiale du remodelage osseux.

La molécule de procollagène est formée d'une triple hélice de chaînes α dont la structure est stabilisée par des liaisons hydrogènes dépendantes des résidus d'hydroxyproline. Dans le milieu extracellulaire, la molécule de procollagène est convertie en molécule de collagène mature par clivage de ses propeptides. Les molécules de collagène s'assemblent par l'intermédiaire de liaisons covalentes pour former les fibrilles de collagène. Le regroupement des fibrilles en faisceaux constitue la fibre de collagène. Les fibres de collagène de type I sont disposées parallèlement au sein d'une même lamelle osseuse. La superposition de lamelles dont l'orientation des fibres de collagène diffère confère à l'os sa structure dite « lamellaire ». On distingue l'os cortical, retrouvé au niveau de la zone externe de la plupart des os et de la diaphyse des os longs, et l'os trabéculaire, siégeant essentiellement dans les os courts et plats et les épiphyses des os longs (figure 1). Le squelette est constitué de 80 % d'os cortical. Le col du fémur est formé d'environ 25 % d'os trabéculaire, le poignet est

constitué d'un mélange d'os cortical et trabéculaire tandis que les vertèbres sont riches en os trabéculaire (environ 50 %).

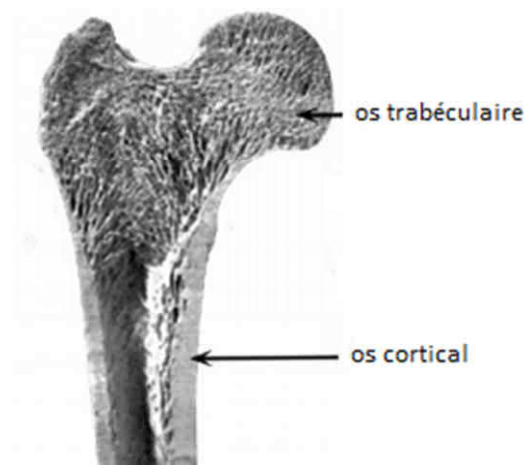


Figure1 : Os trabéculaire/os cortical, exemple de l'extrémité supérieure du fémur

1.2. Physiologie du remodelage osseux

L'os est un tissu vivant, en perpétuel remaniement au cours de la vie, de l'ordre de 10 % par an. Ce processus physiologique est indispensable au maintien de la quantité et de la qualité de l'os et intervient dans la cicatrisation des fractures. Lors de l'activité de remodelage, deux phases dynamiques opposées (résorption et formation osseuses) sont couplées dans le temps et l'espace au sein d'une unité de remodelage osseux (BMU, *Bone Multicellular Unit*). Le nombre de BMU activées par unité de temps reflète le niveau d'activité de remodelage. La durée moyenne d'une séquence de remodelage osseux est de quatre à six mois. Le renouvellement est plus rapide au niveau de l'os trabéculaire. Cinq étapes se succèdent selon une chronologie précise (Hill, 1998) (figure 2) :

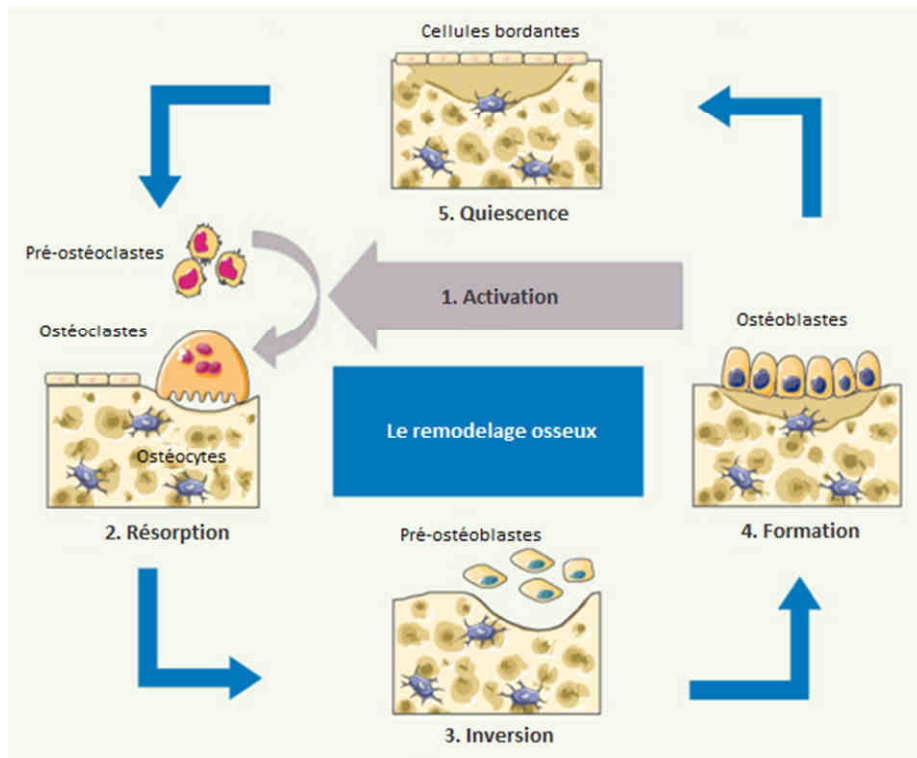


Figure 2 : Les étapes du remodelage osseux

(d'après P.Marie et P. Halbout, 2008)

1. L'activation débute en un point d'une surface osseuse quiescente recouverte par les cellules bordantes suite à un signal d'initiation hormonal, paracrine ou un stimulus mécanique (Turner et Pavalko, 1998).
2. La résorption est médiée par les ostéoclastes recrutés localement. Les ostéoclastes se lient à la matrice osseuse, créent un microenvironnement acide au sein d'une chambre de résorption permettant la dissolution de la matrice minérale, puis sécrètent les enzymes protéolytiques lysosomales dégradant la matrice protéique (Bossard et al., 1996). Cette étape se déroule sur un mois environ.
3. L'inversion représente la phase de transition entre résorption et formation. Au fond de la lacune de résorption, la surface osseuse est libérée par les ostéoclastes apoptotiques. De nombreux facteurs de croissance incorporés dans la matrice osseuse sont relargués durant la résorption et permettent de recruter et d'activer les ostéoblastes.
4. La formation osseuse est assurée par les ostéoblastes. Ils synthétisent une nouvelle matrice protéique (tissu ostéoïde) qui se minéralise à partir du quinzième jour par apposition

de cristaux d'hydroxyapatite. La durée de la minéralisation varie inversement à la fréquence du remodelage.

5. La phase de quiescence : les ostéoblastes se transforment ensuite en cellules bordantes, quiescentes jusqu'à une future activation focale du remodelage osseux, et en ostéocytes.

1.3. Régulation du remodelage osseux : les régulateurs osseux

La régulation du remodelage osseux repose sur un réseau complexe d'interactions entre cellules osseuses, hormones, facteurs de croissance et cytokines du microenvironnement. L'équilibre entre résorption et formation détermine la balance osseuse. Les ostéoblastes et leurs précurseurs semblent être les principaux chefs d'orchestre du remodelage via le système moléculaire RANK/RANKL/OPG (*Receptor activator of NFκB / Receptor activator of NFκB ligand / Osteoprotegerin*). La cible principale du système de régulation est le devenir des ostéoclastes.

1.3.1. Régulation hormonale

1.3.1.1. La parathormone

La parathormone (PTH) est une chaîne polypeptidique de 84 acides aminés (9500 Da) synthétisée et sécrétée par les parathyroïdes. Son rôle essentiel est d'assurer une homéostasie de la calcémie. La partie N-terminale de la molécule (les quatre premiers acides aminés) est porteuse des activités biologiques. La production de PTH est stimulée par l'hypocalcémie, l'hyperphosphatémie et la carence en calcitriol, et inhibée par l'hypercalcémie, les concentrations élevées en calcitriol et en FGF23 (*Fibroblast growth factor 23*) (Bacchetta et al., 2007). La magnésémie est également impliquée. La calcémie ionisée apparaît comme le régulateur majeur de la sécrétion de PTH. Les cellules parathyroïdiennes stockent l'hormone mature (PTH 1-84) dans des granules de sécrétion, soit seule, soit avec des protéases qui génèrent des fragments N- (amino) et C- (carboxy) terminaux (Friedman et Goodman, 2006). L'expression du récepteur sensible au calcium (CaSR) au niveau de la membrane cytoplasmique des cellules parathyroïdiennes permet d'adapter la sécrétion et la dégradation intracellulaire de la PTH 1-84 en fonction de la calcémie ionisée. En cas d'hypercalcémie, la dégradation intracellulaire de la PTH 1-84

augmente et sa concentration sérique diminue, tandis que la concentration des fragments N-tronqués s'accroît. En cas d'hypocalcémie, le mécanisme est inversé (D'Amour et al., 2006). La demi-vie de la PTH est courte (2-4 minutes). Elle est clivée en plusieurs fragments de dégradation, métabolisés par le rein et le foie. Leur demi-vie est plus longue que celle de l'hormone intacte (5 à 20 fois).

La PTH exerce son action sur l'os et le rein. Au niveau osseux, la PTH 1-84 a plusieurs effets. Elle augmente la résorption, notamment au niveau de l'os cortical (effet catabolique de la PTH), en stimulant l'expression de facteurs de différenciation des ostéoclastes. Elle possède également un rôle anabolique en stimulant la prolifération et la survie des ostéoblastes. L'action de la PTH s'exerce en réalité dans les deux cas sur l'activité des ostéoblastes et de leurs précurseurs par l'intermédiaire du récepteur membranaire PTH-R1 (Friedman et Goodman, 2006). La sécrétion de PTH est normalement oscillatoire. Il a été démontré que son effet sur l'os varie en fonction du mode d'administration : une administration chronique diminue la formation osseuse alors qu'une administration discontinue la stimule. Cette propriété est utilisée pour le traitement de l'ostéoporose avec le tériparatide (Forsteo®) (Neer et al., 2001).

Les fragments C-terminaux de la PTH sont nombreux et de longueurs variables. Le plus abondant est le fragment 7-84. Ils antagonisent les effets de l'hormone intacte sur la résorption osseuse (Nguyen-Yamamoto et al., 2001) et semblent agir par l'intermédiaire d'un autre récepteur de la PTH, le C-PTHr, plus spécifique de la partie C-terminale de la molécule.

Une forme moléculaire semblable à la PTH 1-84, dite amino-PTH (N-PTH), a été mise en évidence par chromatographie en phase liquide à haute performance. Sa structure semble légèrement différente de celle de la PTH 1-84 (modification en position 17). Son rôle biologique exact est encore inconnu. Ses concentrations apparaissent élevées en cas d'hyperparathyroïdie primaire ou secondaire (D'Amour et al., 2003).

Les techniques de dosage actuelles de la PTH reposent sur les immunodosages de type sandwich. Chez les patients urémiques, l'augmentation des formes tronquées de PTH et de la N-PTH peuvent être à l'origine de concentrations élevées de PTH en fonction des trousse d'immunodosage utilisées (réactivité croisée des anticorps) (Souberbielle et al., 2006). Les

dosages de 1^{ère} génération, qui reposaient sur une technique immunologique par compétition, sont désormais obsolètes et non commercialisés pour la pratique clinique. Les dosages de 2^e génération, dits de PTH « intacte » ont été développés afin d'optimiser la détection du peptide 1-84. Ils utilisent un anticorps de capture dirigé contre un épitope de la partie C-terminale et un anticorps de détection dirigé contre la partie N-terminale. Parmi les anticorps de détection, on distingue ceux reconnaissant un épitope proximal (ex : trousse Allegro Intact PTH® [Nichols Institute DiagnosticsTM] reconnaissant la partie 13-24 de la PTH) et ceux reconnaissant un épitope distal (ex : dosage PTH Roche Elecsys® [Roche DiagnosticsTM] reconnaissant la région 26-32). Cependant, ces kits présentent encore une réactivité croisée avec les grands fragments C-terminaux, essentiellement le fragment 7-84. Chez les patients en IRC, il a été démontré que ces fragments peuvent représenter plus de 50 % des dosages de PTH (contre 20 % dans la population générale [Tanno et al., 2003]). Les trousses de 2^e génération restent malgré tout encore largement utilisées dans la population générale et chez les insuffisants rénaux chroniques. Depuis 1999, des immunodosages de 3^e génération, dits de PTH « bio-intacte » (ou « *whole* » PTH), ont été développés, d'abord en technique radio-immunologique puis en technique « froide ». Ils utilisent des anticorps monoclonaux de détection dirigés contre les 4 premiers acides aminés de la partie N-terminale de l'hormone permettant de s'affranchir de l'interférence du fragment 7-84, et des anticorps de capture similaires à ceux des kits de 2^e génération. Les principes de dosage de 2^e et 3^e génération de la PTH sont illustrés dans la figure 3.

En pratique, on peut distinguer (Souberbielle et al., 2006) :

❖ Les dosages de 2^e génération

- o Avec anticorps de détection proximal, reconnaissant la PTH 1-84 et le fragment 7-84 (entre 50 et 100 %)
- o Avec anticorps de détection distal, reconnaissant la PTH 1-84, le fragment 7-84 et la N-PTH

❖ Les dosages de 3^e génération, reconnaissant la PTH 1-84 et la N-PTH

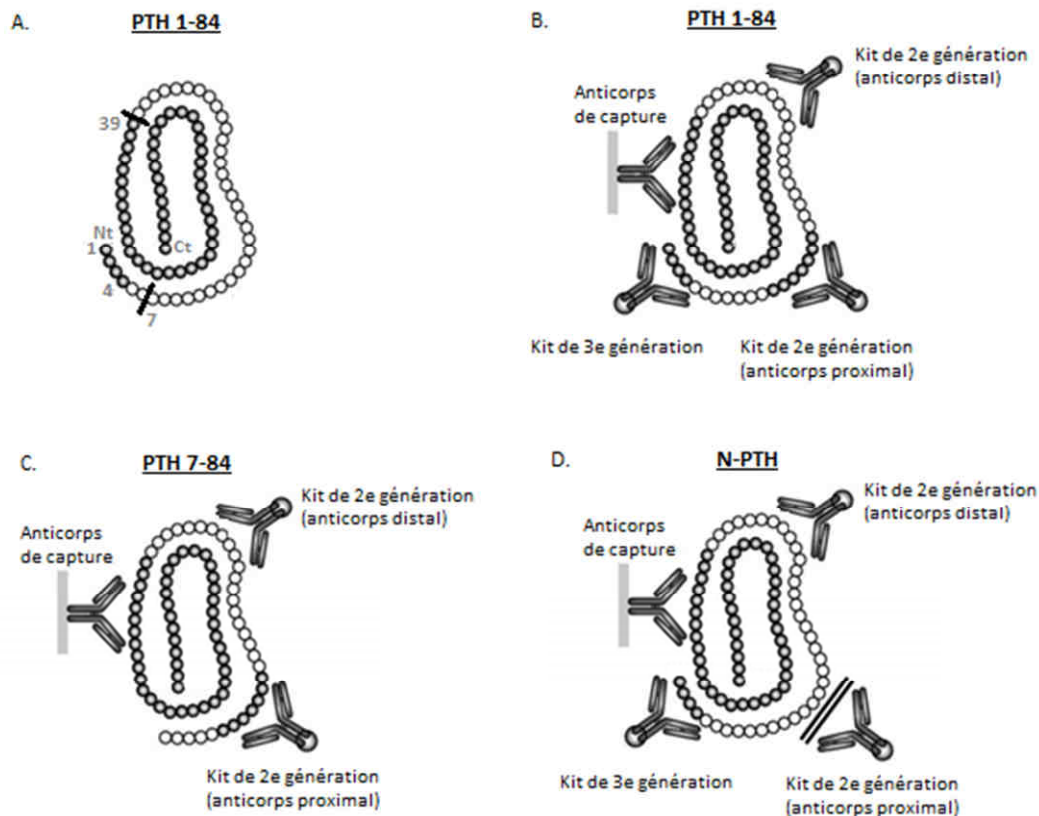


Figure 3 : Les différentes formes de la molécule de PTH et les différents types de dosage

A/La molécule de PTH 1-84 et les sites de clivage générant les fragments C-terminaux longs (tels que le 7-84) et courts (tels que le 39-84).B/ C/ D/Principes de dosage de 2^e et 3^e générationset la réactivité croisée avec le fragment 7-84 et la N-PTH (d'après Massart, 2011)

La complexité du dosage de PTH est responsable d'une grande variabilité inter-kits, d'autant plus qu'il n'existe pas de standard international actuellement (Souberbielle et al., 2006).

Concernant les conditions pré-analytiques, le sérum doit être rapidement décanté pour limiter la dégradation de la PTH par les protéases sériques. La moléculeest stable après décantation jusqu'à 8 heures à température ambiante et jusqu'à 2jours à + 4°C (sérum). Elle peut être congelée pendant plusieurs mois à – 20°C et à – 80 °C pour des périodes plus longues. Compte tenu de la fragilité de la PTH, les cycles de congélation/décongélation doivent être proscrits (Massart et Gauchez, 2012).

1.3.1.2. La vitamine D (Holick, 2007)

C'est une vitamine liposoluble ayant deux sources, alimentaire et endogène. Elle existe sous deux formes : vitamine D2 d'origine végétale et vitamine D3 d'origine animale.La

vitamine D3 endogène est formée à partir du 7-déhydrocholestérol par les cellules profondes de l'épiderme sous l'action des UV. Afin d'exercer son activité, la vitamine D doit subir deux hydroxylations successives en position 25, sous l'action de la 25-hydroxylase des microsomes hépatiques, et en position 1, sous l'action de la 1 α -hydroxylase du tube contourné distal. La 25(OH) D, liée à la DBP (*D-binding protein*), est la principale forme circulante de réserve (demi-vie de 20-29 jours), tandis que la 1,25-dihydroxyvitamine D (1,25(OH)₂ D ou calcitriol) est l'hormone biologiquement active (demi-vie de 4-6 heures). L'activité de la 1 α -hydroxylase est stimulée par la PTH et inhibée par rétrocontrôle négatif du calcitriol. Le catabolisme de la vitamine D est assuré par la 24-hydroxylase qui transforme la 25(OH) D et la 1,25(OH)₂ D en métabolites inactifs. Les deux formes du calcitriol, 1,25(OH)₂D₂ et 1,25(OH)₂D₃, possèdent une activité biologique semblable au niveau des tissus cibles exprimant le récepteur nucléaire VDR (*vitamin D receptor*). Le calcitriol joue un rôle fondamental dans l'homéostasie phosphocalcique et la minéralisation osseuse. Il participe au bon fonctionnement musculaire, immunitaire et neuronal et intervient dans la différenciation cellulaire. Au niveau de l'os, la 1,25(OH)₂D possède un rôle anabolique aux concentrations physiologiques. Elle active la différenciation et la maturation des ostéoblastes en présence de PTH, favorise la synthèse de la matrice osseuse et la minéralisation grâce à l'élévation de la concentration de calcium et de phosphate extracellulaires. Elle tend à faire diminuer la résorption osseuse en inhibant la synthèse et la sécrétion de PTH au niveau des parathyroïdes (Jones et al, 1998).

1.3.1.3. Autres hormones

La calcitonine est un peptide de 32 acides aminés synthétisé par les cellules C de la thyroïde. Elle inhibe directement l'activité des ostéoclastes et accélère leur apoptose (Zaidi et al., 2002). Son action anti-résorptive est utilisée dans des indications thérapeutiques restreintes. Sa durée d'action est courte.

L'hormone de croissance, synthétisée par les cellules somatotropes de l'antéhypophyse, favorise la formation osseuse en stimulant la synthèse d'IGF-1 (*Insulin-like Growth Factor-1*) par les ostéoblastes.

Les hormones thyroïdiennes augmentent la résorption osseuse.

Les estrogènes semblent avoir avant tout un rôle anti-résorptif. Leur mécanisme d'action principal est une diminution de la synthèse par les ostéoblastes de cytokines impliquées dans l'activation des ostéoclastes. La carence estrogénique qui s'installe à la ménopause se manifeste ainsi par une perte osseuse due à une accélération de la résorption, non équilibrée par une formation osseuse insuffisante (Gruber et al., 2002).

1.3.2. Facteurs de croissance et cytokines

Les facteurs de croissance et les cytokines sont essentiellement produits localement et possèdent une action paracrine ou autocrine sur les différents acteurs cellulaires du microenvironnement osseux.

1.3.2.1. Les facteurs de croissance

Les facteurs de croissance sont synthétisés par les cellules de la lignée ostéoblastique, sous dépendance hormonale, ou adsorbés sur les cristaux d'hydroxyapatite. La matrice osseuse constitue un réservoir important de facteurs de croissance. Ils sont liés aux protéoglycanes et ainsi protégés de la lyse enzymatique, puis relargués lors de la résorption osseuse. Ils agissent sur la prolifération, la différenciation et la survie ostéoblastiques et stimulent la formation de la matrice osseuse. Les principaux facteurs de croissance identifiés sont les suivants :

- ❖ Les *Insulin-like Growth Factors* (IGF-I, IGF-II). Leur action est modulée par les IGF binding proteins.
- ❖ Les *Fibroblast Growth Factors* (FGFs.)
- ❖ Les *Transforming Growth Factors β* (TGF β) stimulent la production de la matrice osseuse, diminuent sa dégradation en inhibant la production de collagénases et favorisent la minéralisation osseuse. Ils s'opposent à la prolifération ostéoclastique en augmentant la sécrétion d'OPG. Ils gouvernent l'activation de nombreux facteurs de transcription clefs dont Cbfa1/Runx2.
- ❖ Les *Bone Morphogenic Proteins* (BMPs) appartiennent à la superfamille des TGF β . BMP-2 et BMP-7 contrôlent la différenciation des cellules ostéoprogénitrices permettant le recrutement d'ostéoblastes matures, BMP-4 est impliqué dans la minéralisation osseuse.

1.3.2.2. *Les cytokines*

Les cytokines interleukine 6 et 11 (IL-6 et IL-11) jouent un rôle important dans le remodelage osseux. Leurs effets sont inverses : l'IL-6 active la résorption osseuse directement, en activant la différenciation des précurseurs ostéoblastiques et indirectement, en stimulant l'expression de facteurs de différenciation et de prolifération ostéoclastiques par les ostéoblastes. L'IL-11 stimule la différenciation et la prolifération ostéoblastiques par l'intermédiaire de l'action de BMP-2. Des cytokines inflammatoires sont synthétisées par les ostéoblastes. L'IL-1 et le TNF α inhibent la formation osseuse et stimulent la résorption ostéoclastique (Couret, 2004).

1.3.2.3. *Le complexe RANK/RANKL/OPG*

Cette triade moléculaire est désignée comme l'effecteur final des différents régulateurs (hormones, facteurs locaux) du remodelage osseux. Découvert à partir de 1997 (Simonet et al., 1997), ce système clef explique le couplage entre ostéoblastes et ostéoclastes. Le couple OPG/RANKL est le régulateur principal de l'ostéoclastogenèse et de la résorption osseuse, et le ratio OPG/RANKL détermine la balance entre formation et résorption osseuses. La compréhension de ce système s'est appuyée sur des travaux utilisant les lignées cellulaires et les modèles animaux transgéniques. La figure 4 résume les principaux régulateurs et les effets du système RANK/RANKL/OPG au niveau osseux.

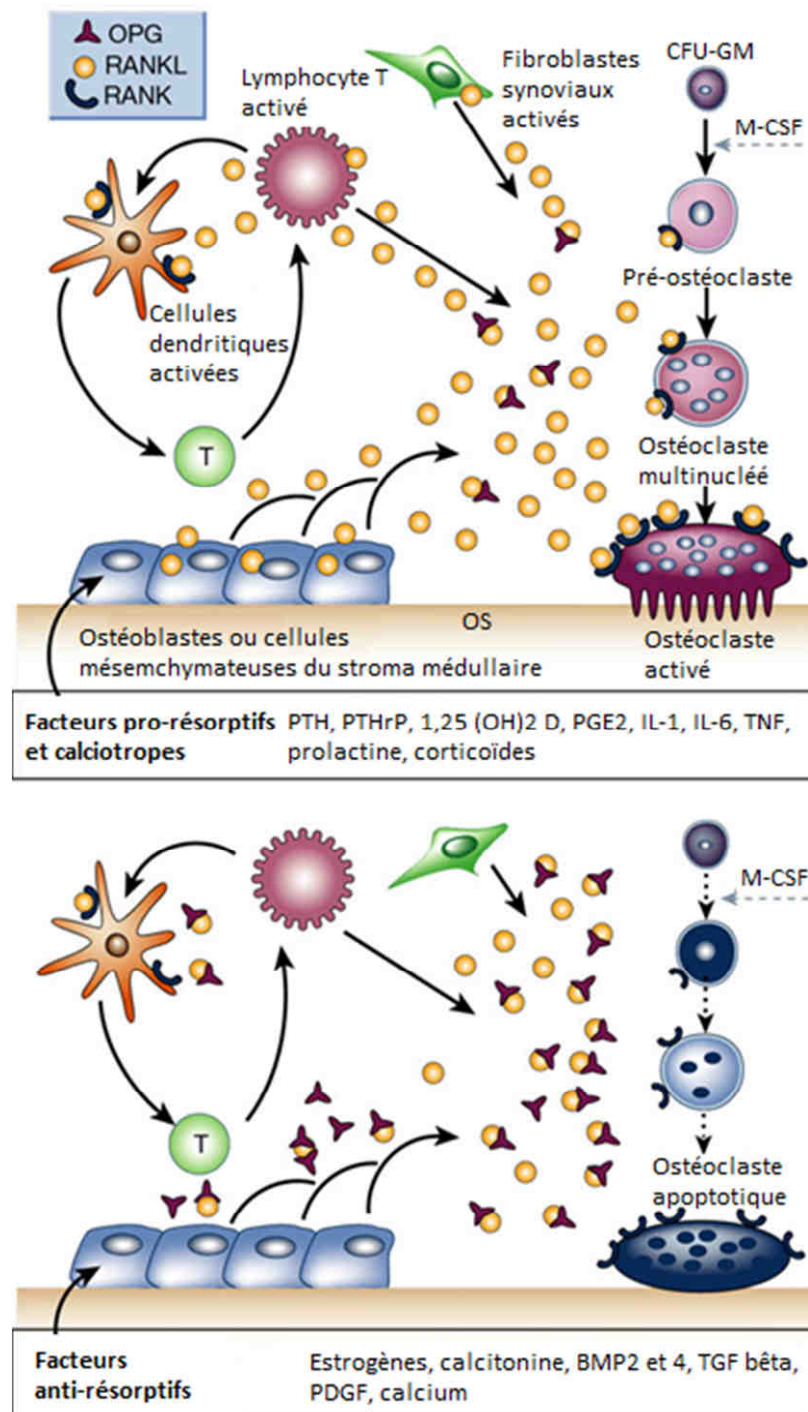


Figure 4 : Triade RANK/RANKL/OPG dans le contrôle du devenir des ostéoclastes et sa régulation

(PTHrP : *PTH related protein*, PGE₂ : prostaglandine E₂, PDGF : *Platelet-Derived Growth Factor*) (adapté de Boyle et al., 2003)

❖ RANKL

RANKL est un polypeptide de 316 acides aminés, membre de la famille du TNF, exprimé par le squelette (Lacey et al., 1998), le tissu lymphoïde et le système vasculaire (Collin-Osdoby et al., 2001). Il existe sous deux formes, membranaire et soluble (Lacey et al., 1998). La forme soluble de RANKL peut également être libérée par clivage de la forme transmembranaire. Au niveau de l'os, RANKL est exprimé par les cellules mésenchymateuses du stroma médullaire (à fort niveau) et par les ostéoblastes (à faible niveau).

RANKL exerce ses effets biologiques en interagissant avec le récepteur RANK, une protéine transmembranaire appartenant également à la famille du TNF, exprimée par les précurseurs ostéoclastiques et les ostéoclastes. La liaison de RANKL à RANK active de multiples voies de signalisation intracellulaires qui conduisent à l'augmentation de l'activité du facteur de transcription NF- κ B régulant l'expression de gènes impliqués dans la différenciation, l'activité et la survie de l'ostéoclaste. RANKL joue donc un rôle essentiel dans le processus de résorption osseuse en stimulant toutes les étapes du devenir de l'ostéoclaste. Les souris invalidées pour le gène codant pour RANKL développent une ostéopétrose sévère en l'absence totale d'ostéoclastogenèse (Kong et al., 1999). A l'inverse, les souris non transgéniques développent une ostéoporose après injection de RANKL. Les ostéoblastes coordonnent donc le remodelage osseux : en exprimant RANKL, ils stimulent les ostéoclastes. Ces derniers assurent la résorption osseuse et la libération de facteurs de croissance et de cytokines, qui vont ensuite activer l'ostéoformation par les ostéoblastes (Udagawa et al., 2000).

RANKL possède également un rôle important dans le fonctionnement du système immunitaire (Kong et al., 1999).

Les principaux facteurs influençant la synthèse de RANKL sont résumés dans le tableau 1. RANKL exerce un rétrocontrôle négatif sur sa propre sécrétion par les cellules mésenchymateuses du stroma médullaire et favorise la sécrétion d'OPG.

❖ OPG

L'OPG est une glycoprotéine de 380 acides aminés appartenant à la famille des récepteurs du TNF. Son expression est ubiquitaire. Elle est sécrétée sous forme

d'homodimère de 110 kDa soluble. Dans l'os, l'OPG est synthétisée par les cellules ostéoblastiques, d'autant plus que ces cellules sont matures.

L'OPG est le régulateur naturel du mécanisme RANKL-RANK. Elle fonctionne comme un « récepteur leurre » de RANKL : elle antagonise ses effets sur le devenir des ostéoclastes et limite la perte osseuse. *In vitro*, lorsque RANKL est neutralisé par l'OPG, les ostéoclastes ne peuvent ni se former, ni fonctionner (Fuller et al., 1998 ; Yasuda et al., 1998) et leur apoptose est accélérée (Lacey et al., 2000). *In vivo*, les souris surexprimant l'OPG développent une ostéopétrose sévère (Simonet et al., 1997) tandis que les souris déficientes en OPG présentent une ostéoporose sévère (Bucay et al., 1998). La modulation de l'activité de RANKL par l'OPG varie en fonction du stade de différenciation des ostéoblastes : les précurseurs ostéoblastiques, qui expriment RANKL à un niveau élevé, stimulent l'ostéoclastogenèse ; au fur et à mesure de la différenciation ostéoblastique, la sécrétion de RANKL baisse tandis que celle de l'OPG augmente, ce qui diminue le nombre d'ostéoclastes actifs.

Les principaux facteurs influençant la synthèse de l'OPG sont résumés dans Le tableau 1.

	RANKL	OPG
PTH	+	-
PTHrP	+	-
1,25(OH) ₂ D	+	+/-
Estrogènes	-	+
TNF α	+	+
IL-1	+	+
IL-6	+	+/-
IL-11	+	+/-
TGF β	-	+
IGF-1	-	-
Corticoïdes	+	-
PGE2	+	-
PDGF		+
Calcium		-

(+) augmentation de l'expression, (-) diminution de l'expression

Tableau 1 : Facteurs influençant la sécrétion de RANKL et de l'OPG

(d'après Theoleyre et al., 2004)

La compréhension du système RANK/RANKL/OPG a conduit au développement du denosumab, thérapeutique ciblée anti-RANKL (Prolia®, indiqué dans l'ostéoporose et Xgeva®, indiqué dans la prévention des complications osseuses des métastases osseuses) (Lacey et al., 2012).

Chez les insuffisants rénaux chroniques, la majorité des études rapportent des concentrations sériques d'OPG supérieures à celles de la population générale (Avbersek-Luznik et al., 2002 ; Doumouchsis et al., 2007). Elles augmentent avec l'âge et l'ancienneté de la dialyse et diminuent suite à la transplantation rénale. Les concentrations sériques de RANKL peuvent être normales (Albalade et al., 2006), diminuées (Doumouchsis et al., 2007) ou augmentées (Arbersek-Luznik et al., 2005). Le ratio RANKL soluble / OPG semble plus bas chez les hémodialysés par rapport à la population générale (Doumouchsis et al., 2007) mais avec des variations importantes.

1.3.3. La voie de signalisation *Wingless (Wnt)* / β -caténine

Les protéines Wnt sont des glycoprotéines essentielles à l'homéostasie des tissus adultes, notamment le tissu osseux. Elles possèdent une action essentiellement paracrine en se liant à leur récepteur membranaire *Frizzled*, associé à un corécepteur LRP5 ou 6 (*Low-density lipoprotein Receptor-related 5 ou 6*). La transduction du signal permet la déphosphorylation de la β -caténine cytoplasmique et entraîne la transcription des gènes cibles. Wnt est impliquée dans la différenciation, la prolifération, l'activité et la survie des ostéoblastes et réprime l'ostéoclastogenèse en augmentant le ratio OPG/RANKL. Cette protéine joue donc un rôle majeur dans la régulation de la masse osseuse (Krishnan et al., 2006). La régulation de cette voie est complexe. Deux facteurs exprimés par les ostéocytes inhibent la formation osseuse en bloquant la voie de Wnt : la sclérotine et Dickkopf-1.

1.4. Marqueurs biologiques d'ostéoformation et de résorption

L'ostéoformation et la résorption osseuse peuvent être explorées par différents dosages biochimiques sanguins permettant de mesurer le niveau d'activité d'une enzyme, produite par l'ostéoblaste ou par l'ostéoclaste mature et relarguée dans la circulation générale, et la quantité de certains composants de la matrice osseuse, libérés au cours des processus d'ostéoformation et de résorption osseuse. Ces marqueurs reflètent l'activité globale de chaque phase. Les principaux marqueurs utilisés sont listés dans le tableau 2.

Marqueurs de formation osseuse	Marqueurs de résorption osseuse
<u>Sérum</u>	<u>Sérum</u>
PAL totales et PAL osseuses	Télopeptides N- et C-terminaux du collagène de type I*
Ostéocalcine	TRAP5b
Propeptides N- et C-terminaux du collagène de type I*	Sialoprotéine osseuse
	<u>Urines</u>
	Télopeptides N- et C-terminaux du collagène de type I*
	Molécules de pontage du collagène : pyridinoline, déoxypyridinoline libres et totales*
	Hydroxyprolinurie
	Calciurie
	Glycosides de l'hydroxylysine
	Peptide hélicoïdal de la chaîne $\alpha 1$ du collagène de type I*
	Fragments de l'ostéocalcine

* Marqueurs collagéniques ; en gras : les marqueurs d'intérêt chez l'insuffisant rénal chronique

Tableau 2 : Marqueurs biologiques osseux

1.4.1. Marqueurs biologiques d'ostéoformation

1.4.1.1. Phosphatases alcalines osseuses (PALos)

Chez l'Homme, il existe plusieurs isoenzymes de PAL codées par quatre gènes : une PAL non spécifique s'exprimant principalement dans le foie, l'os, le rein et le placenta au troisième trimestre, et trois isoformes ayant une expression tissulaire plus spécifique (intestinale, placentaire, germinale). Les PALos et les PALhépatiques sont dérivées du même gène et possèdent la même structure primaire (protéine de 507 acides aminés). Leur différence structurale résulte de glycosylations post-traductionnelles spécifiques à l'isoenzyme osseuse. Ces deux isoformes représentent la quasi-totalité de l'activité sérique PAL chez un individu normal et sont retrouvées en quantité équivalente.

Les PALos sont exprimées au niveau de la membrane externe de l'ostéoblaste, fixées par l'intermédiaire d'une ancre GPI (glycosylphosphatidylinositol). L'enzyme semble jouer un rôle prépondérant dans le processus de minéralisation osseuse : elle hydrolyse les esters de phosphate, ainsi utilisables pour la minéralisation, et les pyrophosphates, puissants inhibiteurs de la minéralisation, dont l'inactivation stimule le dépôt minéral (Lomashvili et al, 2005). Les PALos sont libérées dans le sérum suite à l'action de phospholipases et circulent

sous forme d'homodimères. Leur demi-vie est relativement longue (1 à 2 jours), ce qui limite leur variabilité au cours de la journée. Elles possèdent une clairance hépatique et constituent un marqueur d'ostéof ormation intéressant en cas d'IRC.

Leur dosage est réalisé par technique immunologique. Il présente une réactivité croisée avec les PAL hépatiques de l'ordre de 15 à 20 %.

1.4.1.2. *Ostéocalcine*

L'ostéocalcine est une Gla-protéine (protéine vitamine-K dépendante comportant des résidus d'acide gamma-carboxyglutamique [en position 17, 21 et 24]), d'origine osseuse, de 49 acides aminés (5-8 kDa). Elle est synthétisée et sécrétée par l'ostéoblaste et représente la protéine non collagénique majoritaire de la matrice osseuse. Son rôle biologique est encore incertain ; elle participerait à la minéralisation osseuse par l'intermédiaire des résidus Gla liant le calcium et interviendrait dans la régulation de la fonction ostéoblastique (Ducy et al., 1996). Une fraction de l'ostéocalcine sécrétée passe dans la circulation générale. Sa demi-vie est courte. Elle est dégradée par le rein et le foie. Les concentrations sériques d'ostéocalcine sont bien corrélées à la vitesse de renouvellement osseux. La molécule est dosée par immunodosage. On distingue les dosages reconnaissant la molécule intacte (1-49) des dosages reconnaissant la molécule intacte et son fragment de dégradation majoritaire, le fragment N-terminal Mid (1-43). L'instabilité de la molécule intacte impose une prise en charge rapide du prélèvement (congélation dans les 4 heures). L'hétérogénéité des formes circulantes et l'instabilité de la molécule après le prélèvement sont responsables d'une variabilité importante des dosages (le dosage le plus robuste est celui de la molécule intacte et du fragment N-terminal Mid). L'élimination rénale de la molécule complique son interprétation en cas d'IRC.

1.4.1.3. *Propeptide du collagène de type I (P1NP)*

Le P1NP est un peptide de 35 kDa spécifique du dépôt de collagène. Lors de la conversion du procollagène en collagène, des protéases extracellulaires clivent les domaines N- et C-terminaux (P1NP et P1CP) (figure 5). Le P1NP et le P1CP joueraient un rôle dans la constitution des fibrilles de collagène. Le P1NP, libéré dans le milieu extracellulaire, circule dans le sang sous deux formes intactes (trimère et monomère) et sous forme de fragments

de dégradation. Il est catabolisé par le foie et éliminé par voie urinaire. Les concentrations sériques de P1NP augmentent donc dans l'IRC. Les méthodes de dosage actuelles correspondent à des immunodosages reconnaissant le P1NP intact.

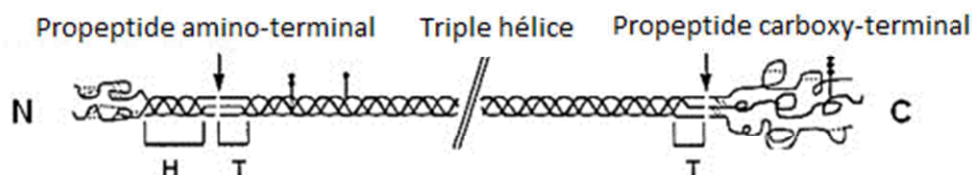


Figure 5 : Molécule de procollagène : triple hélice et propeptides associés

(Koivula et al., 2012)

1.4.2. Les marqueurs biologiques de résorption osseuse

1.4.2.1. Phosphatase acide résistante au tartrate 5b (TRAP5b)

Chez l'homme, différentes isoenzymes de phosphatase acide existent dans l'os, la prostate, la rate, les plaquettes et les hématies. Elles ont été différenciées en fonction de la résistance au tartrate et de leur mobilité électrophorétique. La TRAP correspond à l'isoenzyme 5 ; elle est d'origine monocyttaire, synthétisée par les macrophages, les cellules dendritiques et les ostéoclastes. L'isoforme TRAP5b (glycoprotéine de 35-37 kDa) est spécifique des ostéoclastes. L'expression de son gène *Apc5*, dont la régulation est complexe, est notamment stimulée par des facteurs de transcription activés par RANKL. C'est une métalloprotéase dont le site actif contient un centre diferrique. Elle agit en déphosphorylant ses substrats dans un environnement acide (optimum à pH 5,8-6). Ses fonctions au niveau de l'os sont encore hypothétiques. Certaines protéines de la matrice organique étant phosphorylées sur des résidus tyrosine, il a été suggéré qu'elles pourraient constituer des substrats pour la TRAP5b. Deux modèles d'action ont été proposés (Janckila et Yam, 2009) :

- ❖ La TRAP5b serait activée par protéolyse par la cathepsine K au niveau de son site d'action. Sa sécrétion par l'ostéoclaste dans la chambre de résorption au contact de la matrice osseuse permettrait la déphosphorylation des protéines non collagéniques de la matrice organique, qui servent de point d'ancrage à l'ostéoclaste. La TRAP5b permettrait ainsi le détachement de l'ostéoclaste de la surface osseuse et sa migration.

- ❖ Une autre hypothèse suggère que la TRAP5b pourrait être impliquée dans le processus de dégradation de la matrice osseuse. Les vésicules intracytoplasmiques de l'ostéoclaste contenant la TRAP5b fusionneraient avec des vésicules d'endocytose contenant les résidus de la matrice protéique afin de permettre leur dégradation complète grâce à la formation de dérivés oxygénés. La TRAP5b serait ensuite excrétée dans le milieu extracellulaire.

Dans les deux cas, la TRAP5b gagne la circulation générale. Son expression augmente parallèlement à l'activité ostéoclastique. Des concentrations sériques élevées traduisent donc l'intensité de la résorption osseuse. Elle est particulièrement intéressante pour l'exploration des pathologies osseuses et présente un intérêt certain comme marqueur du remodelage osseux en cas d'IRC car son élimination est indépendante de la fonction rénale (Shidara, 2008). Les kits actuels utilisent le principe d'immunocapture et mesurent soit l'activité TRAP, soit la protéine. Les difficultés du dosage sont liées à l'interférence de la TRAP5a, proche structuralement, et des fragments sériques de TRAP. Le développement d'anticorps monoclonaux spécifiques de l'isoforme 5b devrait permettre d'augmenter les performances analytiques.

1.4.2.2. *Télopeptides du collagène de type I : NTX (N-télopeptide du collagène de type I) et CTX (C-télopeptide du collagène de type I)*

Au cours de la résorption osseuse, les protéases sécrétées par les ostéoclastes dégradent la molécule de collagène de type I en plusieurs fragments peptidiques : télopeptides NTX et CTX, région hélicoïdale du collagène et molécules de pontage du collagène, libérées sous forme libre ou liée aux télopeptides. Ces fragments passent dans le sang, sont dégradés et excrétés par le rein. Les molécules issues de la dégradation du collagène dosables dans le sang et l'urine sont la pyridinoline libre, la désoxypyridinoline libre, les peptides NTX, CTX et hélicoïdaux (figure 6). Le collagène osseux présente la particularité de subir des transformations conformationnelles au cours du vieillissement tissulaire (isomérisation de la forme native α en forme β et racémisation de la forme native lévogyre en forme dextrogyre). La distinction entre ces différentes formes des télopeptides du collagène a été rendue possible grâce au développement d'immunodosages spécifiques qui permettent d'apprécier quantitativement l'intensité du remodelage (concentrations sérique et urinaire) et qualitativement la structure osseuse (ratio des différentes formes). La forme isomérisée β du

CTX est ainsi hautement spécifique de l'activité ostéoclastique de résorption du collagène de type I de l'os. Le test CrossLaps® permet le dosage sérique du β -CTX indépendamment de la molécule de pontage (β -CTX $_{cross-linked}$). Il a montré son intérêt dans le diagnostic des maladies osseuses se manifestant par une augmentation de la résorption ainsi que dans le suivi de l'efficacité des traitements anti-résorptifs. Son intérêt est toutefois limité en cas d'IRC en raison de la diminution de la clairance de la molécule.

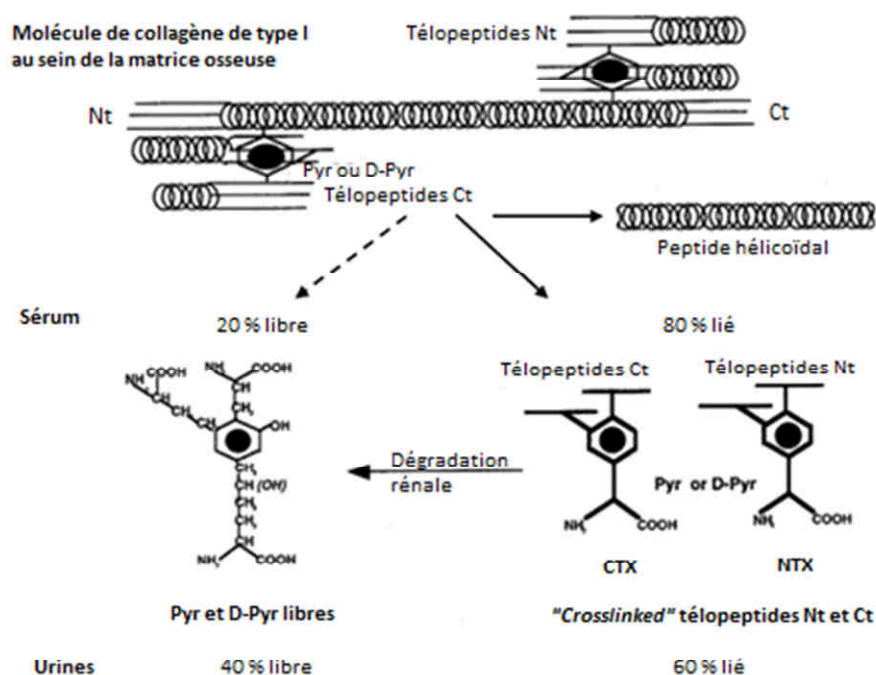


Figure 6 : Fragments du collagène de type I : marqueurs spécifiques de la résorption osseuse

(d'après Garnero et al. 1998)

1.4.2.3. Les marqueurs urinaires de résorption

Ils n'ont pas d'intérêt chez les patients insuffisants rénaux chroniques dialysés, souvent anuriques.

1.4.3. Variabilité analytique des marqueurs biologiques osseux

La plupart de ces marqueurs sont influencés par des paramètres pré-analytiques non contrôlables (âge, sexe, ethnie, grossesse, ménopause, immobilisation prolongée, certains traitements [corticoïdes, estrogènes...]) ou contrôlables (état nutritionnel, activité physique, rythme circadien ou saisonnier, cycle menstruel). L'amplitude du rythme circadien est

surtout importante pour les marqueurs de résorption et dépend en grande partie de l'alimentation. Certaines pathologies affectent également les concentrations sériques des marqueurs :

- ❖ Les pathologies osseuses (maladie de Paget, métastases osseuses,...), le diabète, les dysthyroïdies, responsables de troubles du remodelage,
- ❖ La réparation d'une fracture s'accompagne d'une élévation de la concentration des marqueurs de formation et de résorption durant plusieurs mois,
- ❖ L'IRC est responsable d'une augmentation des concentrations sériques de l'ostéocalcine et des télépeptides du collagène par diminution de leur clairance,
- ❖ En cas d'insuffisance hépatique sévère, il existe une augmentation des concentrations sériques des PALosen raison de la réactivité croisée des immunodosages avec les PAL hépatiques, et une augmentation des marqueurs collagéniques liés au métabolisme du collagène hépatique.

Le groupe de travail de la Société Française de Biologie Clinique « Marqueurs biochimiques du remodelage osseux » (Garnero et al., 2000) recommande de standardiser les conditions de prélèvement des marqueurs osseux (de préférence, sérum recueilli à jeun avant 9 heures [indispensable pour les β -CTx]) et la conservation des échantillons (+ 4°C si le dosage est effectué le jour même, congélation dans l'heure suivant le prélèvement pour l'ostéocalcine et dans les 4 heures pour les autres marqueurs si le dosage est différé, conservation à – 20°C pendant 4 mois et à – 80°C pour les périodes plus longues).

Malgré leur variabilité intra-individuelle, l'utilisation en routine clinique de certains marqueurs est toutefois possible. Dans le cadre de l'ostéoporose primitive, les applications principales validées pour les marqueurs osseux sont l'aide à la décision thérapeutique (β -CTx) et le suivi de l'efficacité des traitements anti-résorptifs (β -CTx, P1NP, ostéocalcine, PALos). Dans le cadre de l'IRC, l'utilisation des PALos est recommandée pour l'appréciation du remodelage (KDIGO, 2009).

2. Métabolisme phosphocalcique

2.1. Homéostasie phosphocalcique et sa régulation

2.1.1. Le calcium (Houiller, 2007 ; Courbebaisse et Souberbielle, 2010)

L'organisme contient environ 1 gramme de calcium, 98 à 99 % contenu dans l'os, 1 % dans les tissus mous et moins de 1 % dans le secteur extracellulaire (plasma et secteur interstitiel).

Le calcium sérique total circule dans le sang sous plusieurs formes : 40 % du calcium est lié aux protéines, principalement l'albumine, 10 % du calcium est complexé aux anions et 50 % du calcium est sous forme ionisée. La liaison aux protéines est sensible aux variations de pH et aux variations quantitatives des protéines. Les formes complexée et ionisée représentent la fraction ultrafiltrable du calcium. Le calcium ionisé extracellulaire constitue la fraction biologiquement active et est soumise à une régulation hormonale fine permettant le maintien des concentrations dans des limites strictes.

La régulation du pool calcique fait intervenir essentiellement l'intestin (absorption) et le rein (excrétion) et permet de maintenir un bilan calcique nul. Le tissu osseux participe au maintien de la calcémie grâce à un mécanisme de mobilisation rapide du calcium osseux médié par les ostéocytes. Par contre, le remodelage osseux, en raison de la lenteur du processus, n'est pas capable de répondre aux besoins de variations rapides de la calcémie. La PTH et le calcitriol sont les deux hormones responsables de la régulation du pool calcique (hormones calciotropes) et sont hypercalcémiantes. Au niveau du tube digestif, le calcitriol augmente l'absorption de calcium. Au niveau rénal, la PTH stimule la réabsorption tubulaire du calcium et la synthèse de calcitriol. Au niveau de l'os, la PTH stimule la libération osseuse de calcium par l'ostéolyse ostéocytaire. La calcémie est peu ou pas influencée par la stimulation de la résorption osseuse tant que la résorption reste couplée à la formation osseuse (normalement, le remodelage osseux mobilise 400 mg de calcium, dont 200 mg libérés au cours de la résorption et 200 mg servant à la minéralisation de la matrice). L'administration chronique de PTH tend à augmenter la calcémie par découplage entre résorption et formation. La calcémie ionisée intervient enfin elle-même dans le système de régulation par l'intermédiaire du CaSR des cellules parathyroïdiennes.

2.1.2. *Le phosphate (Houiller, 2007 ; Courbebaisse et Souberbielle, 2011)*

85 % du phosphate de l'organisme est contenu dans les cristaux d'hydroxyapatite de l'os, 14 % dans les tissus mous où il exerce son rôle biologique (régulation des activités enzymatiques, synthèse d'ATP...) et 1 % dans le secteur extracellulaire (plasma, secteur interstitiel). Il circule sous forme inorganique (Pi), potentiellement complexable au calcium, et sous forme organique.

La régulation du pool de phosphate fait intervenir l'intestin (absorption) mais est essentiellement sous la dépendance du rein par l'intermédiaire d'un processus de filtration-réabsorption saturable. La $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$ favorise l'absorption intestinale de phosphate et est hyperphosphatémiant. La PTH, le FGF23 et l'apport en phosphate sont les principaux facteurs régulant la réabsorption rénale. La PTH inhibe la réabsorption rénale en diminuant le nombre de transporteurs exprimés par la membrane apicale des cellules du tube contourné proximal (Npt 2a et 2c). Le FGF23 diminue également ces transporteurs et inhibe la synthèse de $1,25 (\text{OH})_2 \text{D}$. Ces hormones sont donc hyperphosphaturiantes et hypophosphatémiantes. L'absorption intestinale de phosphate produit une adaptation très rapide de la réabsorption tubulaire (diminution du transport) de l'ordre de quelques minutes par le biais d'une voie encore inconnue, puis produit un signal osseux responsable de la sécrétion de FGF23 et un signal au niveau des parathyroïdes induisant la sécrétion de PTH.

2.2. **Exploration biologique du métabolisme phosphocalcique**

2.2.1. *Calcium sanguin*

La calcémie totale doit être prélevée le matin à jeun. Les formules de correction sont approximatives et ignorent l'influence du pH sur la liaison calcium-albumine. La calcémie ionisée est plus juste à condition de respecter une anaérobiose stricte du prélèvement.

2.2.2. *Calcium urinaire*

La calciurie des 24 heures reflète l'absorption intestinale. Le calcium des urines du matin à jeun (2^e miction) vient théoriquement de la dégradation osseuse.

2.2.3. *Phosphate sanguin*

La mesure des phosphates inorganiques s'effectue sur un prélèvement à jeun non hémolysé. Il existe un rythme circadien plus large que celui de la calcémie. Chez les dialysés, la phosphatémie est souvent plus basse en milieu de période hebdomadaire de dialyse (Jean, 2010).

2.2.4. *Phosphate urinaire*

La mesure de la phosphaturie permet le calcul du taux de réabsorption des phosphates (fraction réabsorbée par rapport à la quantité filtrée par le rein) et du TmPi/DFG (capacité maximale de réabsorption des phosphates) permettant de chercher une fuite rénale de phosphate.

2.2.5. *PTH*

Le dosage de la PTH a été détaillé dans la régulation du métabolisme osseux (partie I. 1.3.1.).

2.2.6. *Vitamine D*

Le dosage de la 25(OH) D permet d'apprécier le statut vitaminique D. Les techniques de référence pour le dosage de la 25(OH) D (chromatographie liquide haute performance, spectrométrie de masse) sont lourdes et coûteuses. Les immunodosages par compétition sont à privilégier ; ils doivent doser de manière équitable la 25(OH) D2 et la 25(OH) D3 afin de ne pas sous-estimer les concentrations de 25(OH) D chez les patients traités par vitamine D2. Le kit de DiaSorin® est celui utilisé dans la majorité des études cliniques chez les dialysés.

Le dosage de la 1,25(OH)₂ D n'est pas recommandé chez les patients insuffisants rénaux chroniques en l'absence de réelle utilité clinique.

2.2.7. *FGF23*

Le FGF23 est un peptide de 251 aa (32 KDa) essentiellement sécrété par les ostéocytes (Mirams et al, 2004). Il se distingue des autres FGFs par son rôle d'hormone, impliquée dans la régulation de la phosphatémie (phosphatonine) et du métabolisme de la vitamine D. Son site d'action est essentiellement rénal : il favorise l'excrétion urinaire de

phosphate au niveau du tube contourné proximal et diminue la synthèse de calcitriol en inhibant la 1- α hydroxylase et en stimulant la 24-hydroxylase. Il agit également au niveau des parathyroïdes en diminuant la synthèse et la sécrétion de PTH (Nakai et al., 2010). Le FGF23 exerce son action sur les tissus cibles en se liant à son récepteur (*FGFreceptor* [FGF-R]) en présence de Klotho, une protéine de membrane (Urakawa et al., 2006). La régulation de la sécrétion du FGF23 n'est pas encore totalement comprise. Il a été suggéré que l'absorption intestinale de phosphoate constitue le système de régulation de la sécrétion de FGF23 par l'intermédiaire d'un médiateur encore inconnu. La 1,25 (OH)₂ D et les estrogènes stimulent la production de FGF23.

II. Les troubles minéraux et osseux associés aux maladies rénales chroniques

Le rein assure trois types de fonctions :

- L'élimination de toxines, notamment les toxines dérivées du catabolisme azoté
- L'homéostasie, grâce à la régulation du bilan hydroélectrolytique et de l'équilibre acido-basique
- Une fonction endocrine (calcitriol, rénine, érythropoïétine)

L'insuffisance rénale chronique se définit par la diminution progressive et irréversible de la filtration glomérulaire suite à la réduction néphronique causée par des lésions glomérulaires, interstitielles ou vasculaires. La maladie rénale chronique se divise en plusieurs stades (1 à 5) en fonction du débit de filtration glomérulaire (DFG, estimé selon la formule de Cockcroft et Gault). Le stade 5 correspond à l'insuffisance rénale terminale avec un DFG inférieur à 15 ml/min/1.73 m² et nécessite un traitement de suppléance (dialyse ou greffe rénale). Le stade 5D classe un patient dialysé (5HD : hémodialysé).

Les fonctions du rein sont assurées tant que le débit de filtration glomérulaire reste supérieur ou égal à 60 ml/min/1.73 m². La progression de l'IRC se manifeste par de multiples complications : cardio-vasculaires et hypertension artérielle, troubles du métabolisme phosphocalcique et osseux, acidose métabolique, rétention hydrosodée et hyperkaliémie, anémie arégénérative, dénutrition, perturbations du métabolisme lipidique, carence hormonale, état inflammatoire.

1. Définition des TMO-MRC

Les troubles minéraux et osseux associés aux maladies rénales chroniques (TMO-MRC) se manifestent par une anomalie ou une association d'anomalies parmi les suivantes (figure 7, KDIGO, 2009) :

- ❖ Anomalies biologiques du métabolisme du calcium, du phosphate, de la PTH ou de la vitamine D (*Laboratory abnormalities*)

- ❖ Anomalies du remodelage osseux, de la minéralisation, du volume osseux, de la croissance ou de la résistance osseuses (*Bone abnormalities*)
- ❖ Calcifications vasculaires (*Vascular calcifications*) et calcifications des tissus mous
- ❖ Cette classification des TMO-MRC est plus descriptive que pronostique. Son intérêt réside essentiellement dans l'effort de structuration des troubles du métabolisme minéral offrant un cadre consensuel autour duquel peut se développer la recherche.

Cette classification est avant tout descriptive. Elle est à limiter aux patients insuffisants rénaux chroniques dont le DFG est inférieur ou égal à 60 ml/min/1,73 m². Il est maintenant clairement établi que les perturbations du métabolisme minéral, l'atteinte osseuse et les calcifications extra-squelettiques, notamment cardiovasculaires, sont étroitement liées chez le patient insuffisant rénal chronique et constituent une cause majeure de morbi-mortalité.

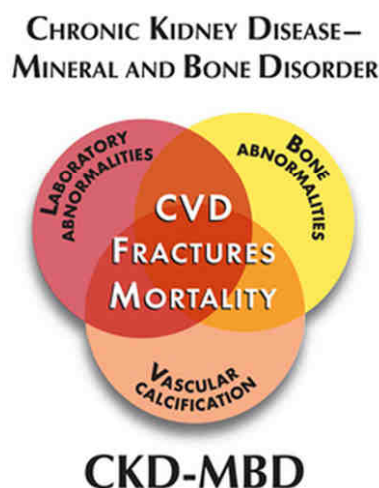


Figure 7 : Concept des TMO-MRC (ou CKD-MBD *Chronic Kidney disease Mineral and Bone Disorders*) des KDIGO, 2006

2. Anomalies biologiques

A partir du stade 3 de la MRC (DFG < 60 ml/min/1,73m²) apparaissent progressivement des perturbations du métabolisme phosphocalcique et de sa régulation hormonale. L'élimination urinaire des phosphates diminue et une tendance à l'hyperphosphatémie s'installe. Elle stimule la synthèse de PTH et de FGF23 de façon précoce (Juppner, 2010) qui contribuent à maintenir pendant longtemps une phosphatémie quasi-normale en limitant la réabsorption tubulaire de phosphate.

Plusieurs mécanismes concourent au développement de l'hypocalcémie. La synthèse de calcitriol est perturbée suite à l'altération du parenchyme rénal et à l'inhibition de la 1α -hydroxylase (par la synthèse excessive de FGF23 et l'hyperphosphatémie). De plus, le FGF23 accélère le catabolisme du calcitriol résiduel par la 24-hydroxylase. Il en résulte une diminution de l'absorption intestinale de calcium. En outre, la complexation du calcium au phosphate en excès, l'acidose métabolique responsable d'une décalcification osseuse, et l'action du fragment 7-84 de la PTH au niveau rénal (internalisation du PTH-R1 et inhibition de la réabsorption de calcium [Friedman et Goodman, 2006]) participent également à la négativation de la balance calcique.

Afin de maintenir l'homéostasie phosphocalcique, une hyperparathyroïdie secondaire hyperplasique se développe. L'augmentation de la production de PTH favorise l'excrétion urinaire de phosphate, stimule la production de calcitriol, et active la résorption osseuse et la libération de calcium osseux. La régulation de la sécrétion de PTH s'altère progressivement. Dans les zones d'hyperplasie nodulaire, les cellules parathyroïdiennes présentent une diminution de l'expression du CaSR (Gogusev et al., 1997) et du VDR. Le rétrocontrôle négatif normalement exercé par le calcium et le calcitriol sur la sécrétion de PTH se perd, entretenant ainsi l'hypersécrétion de PTH. A un stade ultime, les parathyroïdes peuvent s'autonomiser, créant une hyperparathyroïdie tertiaire hypercalcémique. Les mécanismes de compensation qui assuraient l'équilibre phosphocalcique sont progressivement dépassés, le rein devient incapable de répondre de manière adéquate à l'augmentation de la PTH et du FGF23. L'hypocalcémie et l'hyperphosphatémie, qui sont des manifestations de l'IRC avancée, s'installent.

3. Ostéodystrophie rénale

3.1. Physiopathologie

Les anomalies osseuses sont présentes chez la majorité des insuffisants rénaux aux stades 3-5 et constantes chez les insuffisants rénaux dialysés. Ces lésions sont complexes et associent plusieurs mécanismes.

Le tissu osseux est soumis à des concentrations élevées de PTH, stimulant son remodelage. Il existe également une augmentation des fragments C-terminaux de la PTH, en particulier le fragment 7-84, pouvant s'expliquer par une diminution de leur clairance et par une sécrétion accrue par les cellules parathyroïdiennes (Bacchetta et al., 2007). L'os développe progressivement une résistance à l'action de la PTH 1-84, impliquant notamment l'augmentation du fragment 7-84 (Slatopolsky et al., 2000). Le fragment 7-84 est un antagoniste compétitif de la PTH 1-84 sur le PTH-R1 (Friedman et Goodman, 2006) ; en se liant au C-PTHrP, il induit l'apoptose des ostéocytes (Divieti et al., 2001) et inhibe la résorption osseuse en altérant la différenciation de l'ostéoclaste (Divieti et al., 2002). D'autres mécanismes sont potentiellement impliqués dans la physiopathologie de l'ostéodystrophie rénale tels que l'altération de la sécrétion oscillatoire de la PTH, un déséquilibre des signaux cytokiniques du remodelage, de leurs récepteurs et/ou antagonistes.

Outre les perturbations du remodelage osseux et de la minéralisation, d'autres facteurs peuvent s'ajouter : l'accumulation de bêta 2 microglobuline, l'acidose métabolique, les troubles nutritionnels, les phénomènes inflammatoires, le vieillissement, l'immobilité, la carence hormonale, le diabète ainsi que la iatrogénie (corticoïdes, qualité de la dialyse, traitements de l'hyperparathyroïdie...).

La figure 8 résume les principaux facteurs à l'origine des deux principales formes de troubles du remodelage observés dans l'IRC (hyperparathyroïdie secondaire et ostéopathie adynamique).

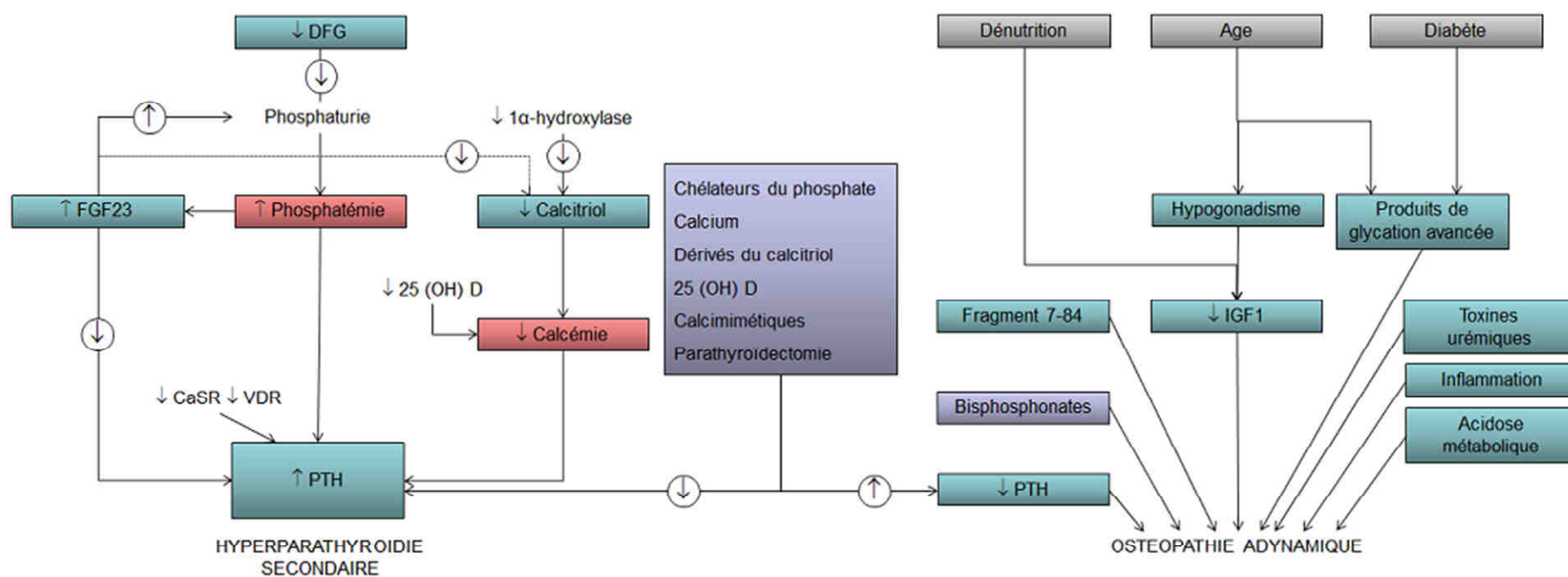


Figure 8 : Principaux facteurs à l'origine des deux principales formes des troubles du remodelage osseux dans l'IRC

(adapté de Jean, 2010)

3.2. Formes cliniques

On distingue habituellement l'hyperparathyroïdie modérée, l'ostéite fibreuse, l'ostéopathie adynamique, l'ostéomalacie et l'ostéopathie mixte.

L'hyperparathyroïdie modérée et l'ostéite fibreuse réalisent un continuum. Elles apparaissent tôt dans l'histoire naturelle de l'IRC en raison de l'exposition de l'os à des concentrations élevées de PTH. L'effet de la PTH diffère selon le compartiment osseux : action catabolique sur l'os cortical et action anabolique sur l'os trabéculaire. Ces lésions se caractérisent par un haut niveau de remodelage, une augmentation du volume osseux trabéculaire accompagnée d'une perte corticale (augmentation de la porosité et diminution de l'épaisseur de l'os cortical). La minéralisation est légèrement diminuée en raison de l'accélération des cycles de remodelage (Sprague, 2010).

L'os adynamique se définit par un niveau de remodelage faible, caractérisé à l'histomorphométrie par une absence de formation - ou une faible formation - osseuse avec raréfaction des ostéoclastes et des ostéoblastes, une minéralisation préservée et une diminution du volume trabéculaire (Sprague, 2010). Trois situations semblent plus particulièrement associées à une diminution de la formation osseuse : l'âge, le diabète et une balance calcique positive (Andress, 2008). De nombreux facteurs sont incriminés dans l'inhibition du remodelage osseux : hypogonadisme, dénutrition, stress oxydatif, accumulation des produits de glycation avancée, carence en calcitriol, toxines urémiques, déséquilibre en facteurs de croissance, intoxication aluminique, traitements intensifs de l'hyperparathyroïdie secondaire, utilisation de chélateurs du phosphate à base de calcium. Les mécanismes en jeu ne sont pas entièrement compris mais font probablement intervenir une inhibition de l'action des ostéoblastes et une accélération de leur apoptose, ainsi qu'une baisse des concentrations de PTH1-84 ou une résistance osseuse à l'action de la PTH. Cette forme d'ostéodystrophie est souvent associée à une hypercalcémie réfractaire, des calcifications extra-osseuses sévères et une mauvaise réparation des micro-fractures. Les experts conseillent de maintenir des concentrations sériques de PTH suffisamment élevées pour prévenir l'ostéopathie adynamique (Barreto et al., 2008 ; KDIGO 2009).

L'ostéomalacie est un trouble de la minéralisation caractérisé par une augmentation de la surface ostéoïde et du volume ostéoïde, un allongement de la durée de dépôt minéral et un remodelage diminué. Elle est secondaire au déficit en vitamine D active (Kanis, 1981). La tendance à la déminéralisation n'est pas toujours associée à une ostéomalacie vraie.

L'ostéopathie mixte présente les caractéristiques de l'hyperparathyroïdie accompagnées de troubles francs de la minéralisation. Elle est associée à des concentrations basses en calcium et une carence en vitamine D.

Le terme d'ostéodystrophie rénale a fait l'objet d'une redéfinition par la conférence KDIGO (2006), le réservant désormais exclusivement à la pathologie osseuse de l'IRC. Il décrit les altérations morphologiques de l'os mais n'inclut plus les anomalies cliniques, biologiques ou radiologiques. Son diagnostic repose sur l'étude histomorphométrique d'une biopsie osseuse avec double marquage à la tétracycline. La classification TMV a été adoptée afin de standardiser l'interprétation des biopsies (Moe et al., 2006) : elle évalue le remodelage (T pour turnover), la minéralisation (M) et le volume osseux (V) à l'aide de paramètres histomorphométriques de formation (à la fois statiques et dynamiques), de résorption et de masse osseuse inscrits à la nomenclature internationale. Cette classification se veut plus pragmatique que les entités cliniques habituellement utilisées (figure 9) : elle décrit les anomalies cliniquement pertinentes utiles à la compréhension de la physiopathologie de l'atteinte osseuse et à la décision thérapeutique.

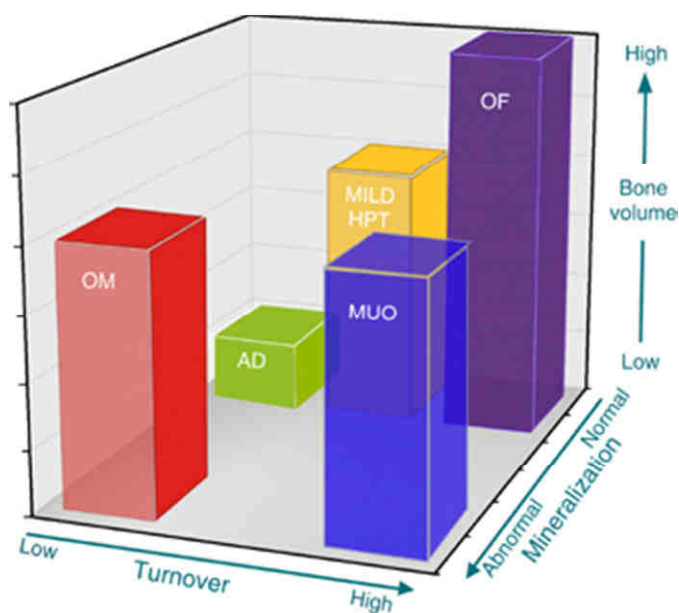


Figure 9 : Système de classification TMV pour l'histomorphométrie osseuse et sa corrélation avec les entités cliniques habituellement utilisées

(OF, osteitis fibrosa : ostéite fibreuse ou hyperparathyroïdie avancée ; MILD HPT, Mild hyperparathyroidid-related bone disease : hyperparathyroïdie modérée ; AD, adynamic bone disease : ostéopathie adynamique ; OM, osteomalacia : ostéomalacie ; MUO, mixed uremic osteodystrophy : ostéopathie mixte [Moe et al., 2006])

Le remodelage osseux peut être normal, bas ou augmenté. Les anomalies du remodelage sont associées à des perturbations de l'homéostasie minérale et à un risque accru de fracture. La minéralisation peut être normale ou diminuée. Un défaut de minéralisation entraîne douleurs osseuses et/ou fractures. Les volumes osseux trabéculaire et cortical peuvent être normaux, augmentés (ostéosclérose) ou diminués (ostéoporose) en fonction de la balance entre formation et résorption.

3.3. Épidémiologie

Une revue systématique de la littérature effectuée entre 1983 et 2006 par les auteurs des KDIGO rapporte une prédominance de l'ostéite fibreuse et de l'ostéopathie mixte chez les hémodialysés (figure 10).

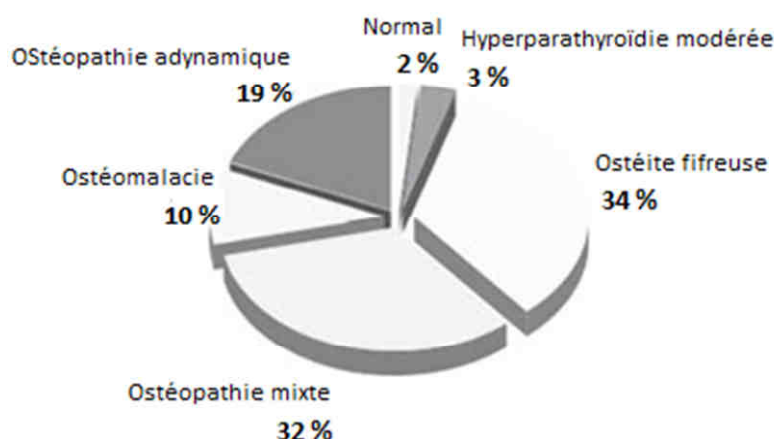


Figure 10 : Prévalence des anomalies observées sur les biopsies osseuses des patients hémodialysés
(revue systématique de la littérature entre 1983 et 2006, KDIGO, 2009)

Les études plus récentes constatent plutôt une prédominance de l'ostéopathie adynamique par rapport aux autres formes d'ostéodystrophie. En réalité, la prévalence des types d'ostéodystrophie rénale chez les hémodialysés a varié au fil du temps. Elle s'est vraisemblablement modifiée en fonction des caractéristiques des patients et des habitudes et évolutions thérapeutiques (la majorité des thérapeutiques récentes ont pour objectif de freiner l'hyperparathyroïdie secondaire). Malluche *et al* ont utilisé le système TMV pour étudier 630 biopsies osseuses de patients en IRC stade 5, réalisées entre 2003 et 2008 aux États-Unis et en Europe (Malluche *et al.*, 2010). Ils constatent, à l'instar d'autres études, que le niveau de remodelage osseux faible et le volume osseux bas sont devenus les anomalies les plus fréquentes : 62 % des patients caucasiens présentent un remodelage faible et 21 % un remodelage élevé. Les troubles de la minéralisation sont devenus rares (3 % des patients). Toutefois, d'importantes différences ethniques semblent exister puisque 68 % des patients noirs présentent un remodelage élevé, une porosité corticale élevée et un volume trabéculaire élevé. L'ostéoporose semble particulièrement prévalente dans la population d'hémodialysés. Dans une étude de Barreto *et al*, sa fréquence, déterminée grâce à l'étude histomorphométrique, atteint 46 % des patients et est surtout associée à l'ostéopathie adynamique (Barreto *et al.*, 2006).

3.4. Biopsie osseuse

La biopsie osseuse transiliaque avec double marquage à la tétracycline constitue l'examen de référence pour l'évaluation de l'ostéodystrophie rénale (tableau 3).

Biopsie osseuse transiliaque (à l'aide d'un trocart de Meunier)	
Double marquage	Hydrochloride de tétracycline 2× 500 mg/j pendant 2 j ou hydrochloryde de déméclocycline 2 × 300 mg/j pendant 2 j
	Intervalle libre 12 j
	Hydrochloride de tétracycline 2× 500 mg/j pendant 3 j ou hydrochloryde de déméclocycline 2 × 300 mg/j pendant 3 j
	Biopsie : 3-7 jours après
Localisation	2 cm en arrière de l'épine iliaque antéro-supérieure, sous la crête iliaque

Tableau 3 : Modalités de réalisation de la biopsie osseuse

Sa réalisation systématique n'est toutefois pas recommandée en routine pour l'évaluation des TMO-MRC et son indication est à discuter individuellement selon le bénéfice qu'apporte le diagnostic précis de la maladie osseuse à la prise en charge du patient. Les indications principales sont (KDIGO, 2009) :

- ❖ L'existence d'une divergence entre les paramètres biochimiques rendant impossible l'interprétation du remodelage sous-jacent,
- ❖ Une fracture ou douleur osseuse inexpliquée,
- ❖ Une hypercalcémie inexpliquée,
- ❖ Une suspicion d'intoxication aluminique,
- ❖ Avant parathyroïdectomie, s'il y a eu exposition à l'aluminium ou si les paramètres biochimiques ne sont pas cohérents avec une hyperparathyroïdie secondaire ou tertiaire avancée,
- ❖ Avant l'introduction d'un traitement par bisphosphonates,
- ❖ Elle peut être utile après transplantation rénale car les marqueurs biologiques sont plus difficilement interprétables en raison de l'utilisation de corticoïdes, d'immunosuppresseurs et de l'amélioration de la fonction rénale.

Ses principales complications (la douleur, les hémorragies et les infections locales) sont peu fréquentes. Le suivi de l'efficacité d'un traitement peut éventuellement nécessiter de répéter le geste. L'appréhension des patients est la limite principale à la réalisation de la biopsie. Elle reste globalement sous-utilisée par la majorité des néphrologues avec le risque de perdre les compétences de réalisation technique et d'interprétation anatomopathologique.

3.5. Utilité de la mesure de la densité minérale osseuse

Dans la population générale, la densité minérale osseuse (DMO), mesurée par ostéodensitométrie ou absorptiométrie biphotonique à rayons X (DEXA) (technique décrite dans la partie Patients et méthodes V.), est utilisée pour définir l'ostéoporose (T -score inférieur à $-2,5$ DS). La plupart des études menées chez les dialysés ont utilisé l'ostéodensitométrie pour évaluer la DMO. Cette technique ne permet pas la distinction entre l'os trabéculaire et l'os cortical. Hors les deux compartiments histologiques sont affectés différemment au cours de l'IRC. L'interprétation de la DMO doit donc prendre en compte la composition du site anatomique étudié. Les sites les plus étudiés chez les dialysés sont le rachis lombaire, la hanche, le radius moyen, le poignet et le corps entier. Comme l'atteinte osseuse de l'hyperparathyroïdie prédomine sur l'os cortical, certains auteurs ont recommandé l'utilisation de l'extrémité distale du radius riche en os cortical (Yamaguchi et al. 1996 ; Stein et al. 1996).

Gerakis *et al* ont rapporté une diminution de la DMO de l'avant-bras plus marquée en cas d'ostéite fibreuse qu'en cas d'os adynamique, une DMO du rachis plus élevée chez les patients atteints d'ostéopathie mixte que ceux atteints d'ostéite fibreuse, mais avec de larges variations (Gerakis et al., 2000). Selon d'autres études, la DEXA ne permet pas une distinction satisfaisante des différents types d'ostéodystrophie rénale (Hutchison et al., 1993 ; Fletcher et al., 1997 ; Haas et al., 2002 ; Andrade et al., 2007). En réalité, une DMO basse peut correspondre à un niveau de remodelage bas, normal ou haut, à une minéralisation normale ou diminuée et couvre toutes les formes d'ostéodystrophie rénale (figure 11). Elle peut également témoigner d'une ostéoporose « vraie » primaire ou secondaire, indépendante de la MRC. L'interprétation de la DMO mesurée par DEXA est

donc particulièrement difficile chez l'insuffisant rénal et sa contribution au diagnostic de l'ostéodystrophie rénale n'est pas admise par les experts (Moe et al., 2006).

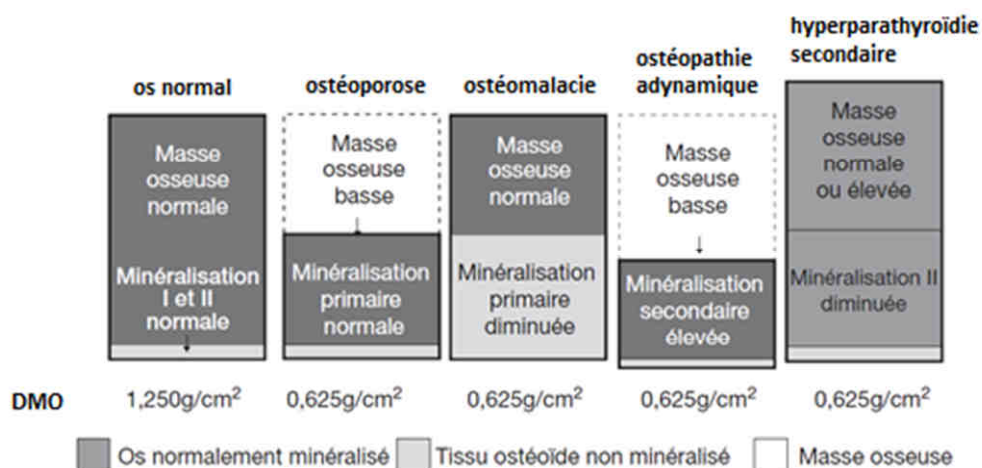


Figure 11 : Difficultés d'interprétation de la DMO par DEXA chez les patients hémodialysés

(d'après Lafage-Proust, 2009)

D'autres techniques d'imagerie plus sophistiquées sont en cours d'évaluation pour le diagnostic de l'ostéodystrophie rénale. Elles présentent l'avantage de mesurer la DMO volumique, de distinguer l'os cortical de l'os trabéculaire et de s'affranchir de l'interférence des calcifications vasculaires et des lésions osseuses dégénératives. La tomodensitométrie quantitative (QCT) haute résolution (Nickolas et al., 2010) et l'imagerie par résonance magnétique (IRM) haute résolution (Wehrli et al., 2004) renseignent sur les anomalies de la microarchitecture osseuse corticale et trabéculaire. Leur rôle discriminatif fait l'objet de recherches.

3.6. Utilité des marqueurs biologiques osseux

3.6.1. Remodelage osseux

3.6.1.1. PTH

La plupart des études ont été effectuées avec les kits de dosage de PTH intacte (iPTH). La corrélation entre les concentrations sériques de iPTH et les paramètres histologiques du

remodelage est variable (Coen et al., 1998 ; Gal-Moscovici et al., 2005). Certains auteurs ont tenté de proposer des valeurs seuils de iPTH en deçà et au-delà desquelles le remodelage osseux est anormalement bas ou élevé (Torres et al., 1995 ; Barreto et al., 2008). Cependant les résultats sont hétérogènes comme le montre la revue de la littérature effectuée par les auteurs des KDIGO. Pour des concentrations moyennes de iPTH (globalement entre 100 et 500 pg/mL avec les trousse de dosage de 2^e génération), tous les types de remodelage peuvent être observés (Barreto et al., 2008). Il est simplement admis que lorsque les concentrations sériques de iPTH se situent dans les extrêmes, la probabilité de niveaux de remodelage faible ou excessif augmente. Plusieurs facteurs limitent le pouvoir prédictif de la iPTH :

- ❖ La variabilité inter-kits de iPTH en l'absence de standardisation (Souberbielle et al., 2006),
- ❖ La variabilité de la population de référence choisie pour établir les valeurs normales (l'exclusion des sujets carencés en vitamine D fait baisser de 25 à 35 % la limite supérieure des valeurs de référence [Souberbielle et al., 2010]),
- ❖ La résistance osseuse à l'action de la PTH 1-84 et l'interférence du fragment 7-84 avec les dosages, variant d'un patient à un autre, et responsables d'un découplage entre remodelage osseux et iPTH (remodelage osseux plus faible que ne le laisserait penser les concentrations de iPTH) (Brossard et al., 2000).

Ceci a conduit les KDIGO à proposer des valeurs cibles flexibles selon la trousse de dosage de 2^e génération utilisée : de 2 à 9 fois la normale supérieure de la trousse.

Dans ce contexte, les kits de dosage de PTH de 3^e génération offrent un avantage analytique certain (meilleur reproductibilité) et un avantage clinique probable en étant mieux corrélés à l'activité physiologique de la PTH. Quelques études ont comparé le dosage de la PTH bio-intacte aux données de l'histomorphométrie chez les patients en IRC stade 5 mais sont plutôt décevantes (Coen et al., 2002 ; Lehmann et al., 2005). Actuellement, l'absence de preuve de meilleure valeur prédictive de la PTH bio-intacte pour le diagnostic de l'atteinte osseuse est le frein principal à son utilisation en routine. Des investigations supplémentaires seraient souhaitables, y compris afin de préciser l'éventuel rôle diagnostique du ratio fragment 7-84 / PTH 1-84 (Moe et al., 2006).

3.6.1.2. *Marqueurs biologiques d'ostéoformation*

Selon Ureña *et al*, les PALos présentent une meilleure corrélation avec les paramètres histomorphométriques de formation osseuse que la iPTH ou les PAL totales (Ureña *et al*, 1996). Avec la trousse d'immunodosage Tandem-R Ostase® d'Hybritech™, les concentrations de PALos supérieures à 20 ng/mL chez les patients en IRC stade 5 possèdent une bonne valeur prédictive positive pour le diagnostic d'un remodelage augmenté ainsi qu'une forte spécificité permettant d'exclure un remodelage normal ou diminué. Il est plus difficile en revanche de donner une valeur de PALos en dessous de laquelle il existe une forte probabilité d'ostéopathie adynamique. Son dosage se révèle informatif dans le diagnostic d'un haut niveau de remodelage, notamment lorsque les concentrations de iPTH ne sont pas discriminantes.

Dans une étude de Gerakis *et al* menée chez des hémodialysés, les concentrations d'ostéocalcine (dosage Cis Diagnostics®, reconnaissant la molécule intacte et ses fragments) sont positivement corrélées aux indices histologiques de formation et de minéralisation osseuses (Gerakis *et al*, 1996). Les concentrations sériques élevées présentent une forte sensibilité pour le diagnostic de l'atteinte osseuse liée à l'hyperparathyroïdie secondaire mais une faible spécificité.

3.6.1.3. *Marqueurs biologiques de résorption*

Parmi les marqueurs de résorption, la TRAP5b sérique présente une forte corrélation positive avec les indices histologiques ostéoclastiques, plus fiable que la iPTH et ses concentrations sériques semblent augmentées en cas d'hyperparathyroïdie secondaire (Chu *et al*, 2003). Des concentrations élevées de l'enzyme sont également corrélées à la perte osseuse corticale (Shidara *et al*, 2008).

3.6.1.4. *OPG et RANKL*

Il apparaît peu clair si RANKL est bas, normal ou haut chez les hémodialysés alors que l'OPG est constamment élevée. Le rôle diagnostique de ces marqueurs pour distinguer les différentes formes d'ostéodystrophie rénale a surtout été évalué pour l'OPG. Les études de corrélation entre les concentrations sériques d'OPG et le remodelage osseux sont contradictoires. Coen *et al* ont trouvé une corrélation inverse entre les concentrations

sériques d'OPG et les paramètres histomorphométriques de résorption et de formation, suggérant que l'OPG pourrait s'avérer utile pour discriminer les patients présentant un os adynamique des patients atteints d'hyperparathyroïdie ou d'ostéomalacie, lorsque les concentrations sériques de iPTH ≤ 300 pg/mL (iPTH dosée avec une trousse de Nichols Institute Diagnostics™) (Coen et al., 2002). A l'inverse, Haas *et al* ont constaté des concentrations d'OPG plus basses en cas d'hyper-remodelage (Haas et al., 2002).

3.6.2. Volume osseux

Ni les marqueurs de formation, ni les marqueurs de résorption, ni la iPTH n'apparaissent corrélés au volume osseux (Coen et al., 1998). Une étude rapporte l'existence d'une corrélation négative entre le ratio OPG/sRANKL et le volume osseux, et des concentrations d'OPG plus élevées chez les patients avec un volume osseux bas. Ces données apparemment paradoxales pourraient suggérer que l'augmentation du ratio OPG/RANKL et des concentrations d'OPG reflètent un mécanisme de compensation en réponse à la perte osseuse (Barreto et al., 2006).

3.6.3. Recommandations actuelles

Les recommandations actuelles des KDIGO 2009 restent fondées sur les marqueurs classiques (tableau 4).

Paramètre	Fréquence de dosage	Objectif
Calcium, phosphate	1 à 3 mois	Valeurs normales du laboratoire
iPTH	3 à 6 mois	2-9 fois la normale supérieure de la trousse de 2 ^e génération utilisée
PAL totales*	Au moins 1 fois par an ou plus si iPTH élevée	
25 (OH) D	Dosage répété, comme dans la population générale	Entre 30-60 ng/mL

* ou PAL osseuses en cas d'anomalies hépatiques

Tableau 4 : Recommandations actuelles des KDIGO 2009 des dosages biochimiques pour l'IRC stade 5D

Les marqueurs biologiques osseux servent essentiellement à évaluer le remodelage osseux sous-jacent. La concentration sérique de iPTH restepour l'instant le meilleur indicateur du remodelage osseux (Moe et al., 2006). Afin d'évaluer le remodelage et d'adapter les traitements de l'hyperparathyroïdie, l'interprétation des concentrations sériques de iPTH doit tenir compte de la calcémie concomitante et de la cinétique des dosages. Une mesure isolée de iPTH (dont la cinétique est rapide [quelques minutes]) ne reflète pas forcément bien le remodelage osseux qui se déroule sur une échelle de temps plus longue (semaines/mois voire années) (Souberbielle et al., 2010).

Au final, les marqueurs biochimiques, seuls ou en combinaison, s'avèrent utiles pour identifier les patients à haut niveau de remodelage mais sont moins performants pour discriminer ceux à remodelage normal et faible. En raison de leur indépendance vis-à-vis de la fonction rénale, les PAL osseuses et la TRAP5b représentent les marqueurs les plus intéressants pour l'évaluation du remodelage chez les hémodialysés.

4. Fractures

4.1. Épidémiologie

4.1.1. Incidence

Le risque relatif de fracture, notamment spontanée ou secondaire à un traumatisme minime, chez les patients en IRC stade 5D est supérieur à celui de la population générale (3 à 5 fois plus élevé chez les femmes et 3 à 10 fois plus élevé chez les hommes [Lafage-Proust, 2011]). Ce risque est d'autant plus élevé que les patients sont jeunes et se rapproche de celui de la population générale pour les patients les plus âgés. Ainsi, pour la tranche d'âge 60-65 ans, l'incidence des fractures de hanche des patients hémodialysés est comparable à celle observée dans la population non urémique âgée de 10 à 20 ans de plus (Jadoul et al., 2006).

Deux études épidémiologiques à grande échelle ont étudié l'incidence annuelle des fractures chez les patients dialysés (tableau 5).

	Population n =	Incidence des fractures de hanche (pour 1000 patients/année)	Incidence des fractures (tous types confondus) (pour 1000 patients/année)
USRDS, Alem <i>et al</i>, 2000	300 000 (caucasienne)	10 (femmes 13,6 – hommes 7,4)	
DOPPS II, Jadoul <i>et al</i>, 2006	13 000 (internationale)	8,9	25,6

USRDS : United States Renal Data System ; DOPPS II : Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study II

Tableau 5 : Incidence des fractures chez les hémodialysés

4.1.2. Prévalence

La prévalence des fractures chez les patients hémodialysés varie selon l'âge, le sexe et le site anatomique. Les sites les plus fragiles sont les côtes, le poignet, les vertèbres et le col du fémur. La prévalence des fractures peut atteindre jusqu'à 52 % pour une population âgée de plus de 50 ans (Jamal *et al.*, 2002). Les fractures vertébrales, dont la prévalence varie de 7 à 33 % (Ureña *et al.*, 2003 ; Atsumi *et al.*, 1999 ; Jamal *et al.*, 2002), sont souvent paucis ou asymptomatiques. Les fractures de hanche, dont la prévalence est de 2.6 (Jadoul *et al.*, 2006) à 7.6 % (Kaji *et al.*, 2002), représentent la majorité des fractures périphériques (Kaneko *et al.*, 2007).

4.1.3. Mortalité

La survenue d'une fracture chez les dialysés est responsable d'une sur-morbidité et d'une surmortalité. Le risque relatif de décès par rapport aux dialysés indemnes de fracture est 1,99 fois plus élevé pour les fractures de hanche (Mittalhenkle *et al.*, 2004). Le risque relatif de décès des dialysés par rapport à la population générale est 2,5 fois plus élevé dans l'année suivant une fracture de hanche (Coco *et al.*, 2000) et 4,8 fois plus élevé suite à une fracture vertébrale (Rodriguez-Garcia *et al.*, 2009). La prise en charge des fractures chez les dialysés est responsable d'un surcoût important pour le système de santé (Danese *et al.*, 2006).

4.2. Facteurs de risque de fracture

Les facteurs de risque indépendants de la survenue de fracture identifiés chez les patients insuffisants rénaux chroniques dialysés par les études épidémiologiques longitudinales sont les suivants :

- ❖ Les facteurs de risque identiques à ceux de la population générale : âge, sexe féminin, dénutrition, ethnie caucasienne, artériopathie périphérique responsable d'une mauvaise perfusion osseuse (Stehman-Breen et al., 2000), antécédent de fracture (Jamal et al., 2007)
- ❖ Des facteurs de risque spécifiques :
 - o Ancienneté de la dialyse (Stehman-Breen et al., 2000)
 - o Antécédent de transplantation rénale (risque maximal dans les trois premières années suivant la greffe, Ball et al., 2002)
 - o Hypo-albuminémie (Jadoul et al., 2006)
 - o Hyperparathyroïdie (Jadoul et al., 2006) et hypoparathyroïdie (Atsumi et al., 1999 ; Coco et Rush, 2000 ; Danese et al., 2006)
 - o Concentrations sériques élevées de PAL totales (Blayney et al., 2008)
 - o Médicaments : corticoïdes et traitement psychotrope (probablement par augmentation du risque de chute) (Jadoul et al., 2006)

Les données sont contradictoires concernant le rôle du diabète (Stehman-Breen et al., 2000).

L'augmentation du risque fracturaire des patients hémodialysés s'explique donc par la conjonction de deux mécanismes :

- ❖ Une fragilisation osseuse par altération quantitative et qualitative : ostéodystrophie rénale, amylose, acidose métabolique et ostéoporose
- ❖ Une augmentation de la propension aux chutes : hypotension (dialyse et traitements anti-hypertenseurs), traitements psychotropes, polyneuropathie et rétinopathie diabétiques, artériopathie périphérique, dénutrition

Des études prospectives testant les médicaments utilisés pour diminuer le risque fracturaire dans la population générale sont nécessaires chez les dialysés mais sont difficiles à mettre en œuvre.

4.3. Examens morphologiques

4.3.1. Radiologie standard

La radiologie standard constitue l'examen de base pour explorer une douleur osseuse localisée (fissure, fracture). Une radiographie du rachis dorso-lombaire de profil permet d'évaluer les fractures vertébrales déjà présentes, parfois passées inaperçues, et pourrait constituer un indicateur du risque fracturaire.

4.3.2. Ostéodensitométrie

La prévalence de la diminution de la DMO est influencée par l'âge, le sexe, l'ethnie, l'ancienneté moyenne de la dialyse et les sites du squelette utilisés pour définir l'ostéoporose. Une revue de la littérature chez les patients en IRC stade 5D montre qu'en général les DMO du radius et de la hanche sont basses alors que la DMO du rachis semble plus proche des normes pour l'âge et le sexe (Ott, 2009).

Contrairement à la population générale, le rôle prédictif du risque fracturaire de l'ostéodensitométrie chez les patients en IRC stade 5D n'est pas établi et fait l'objet de controverses. Dans une méta-analyse de Jamal *et al*, les patients dialysés avec fracture ont une DMO significativement plus basse au niveau du rachis et de l'extrémité distale du radius, mais pas au niveau de la hanche, par rapport aux patients dialysés sans fracture (Jamal *et al*, 2007). A l'inverse, Elder *et al* rapportent une association entre une DMO basse au niveau du col fémoral et une prévalence accrue de fractures de fragilité tous sites confondus (Elder *et al*, 2006). Atsumi *et al* ont constaté une association entre fracture vertébrale et baisse de la DMO au niveau du rachis lombaire (risque relatif 2 fois plus élevé pour une diminution d'une déviation standard [DS] de la DMO) ou au niveau du corps entier (risque relatif 1,6 fois plus élevé pour une diminution d'une DS de la DMO) (Atsumi *et al*, 1999). D'autres études ne montrent aucune association significative entre fractures et DMO basse (Jamal *et al*, 2002 ; Ureña *et al*, 2003). Il apparaît que le site étudié ne prédit pas forcément le risque de

fracture de ce site en particulier. D'autre part, les performances de l'ostéodensitométrie chez les patients en IRC stade 5 sont limitées en raison :

- ❖ Des artéfacts de mesure du rachis lombaire (calcifications extra-osseuses)
- ❖ Des anomalies de l'os liées à l'ostéodystrophie rénale.

Dans la population générale, la DMO peut être assimilée à la masse osseuse et le risque fracturaire, qui dépend de la perte osseuse, est associée à la diminution de la DMO. Chez les patients en IRC stade 5D, les anomalies à la fois qualitatives et quantitatives spécifiques de l'ostéodystrophie rénale qui affectent la solidité de l'os sont susceptibles de modifier la DMO. La relation directe entre DMO et masse osseuse n'est donc plus superposable à celle de la population générale.

- ❖ De la variabilité du ratio os cortical/os trabéculaire selon le site étudié.

La DMO d'un site est plus ou moins affectée en fonction de ses proportions en os cortical et trabéculaire, du type d'ostéodystrophie rénale et de la présence éventuelle d'une ostéoporose. Les divergences entre les études qui ont évalué la relation DMO/risque fracturaire chez les hémodialysés s'expliquent peut-être par le choix du site et la prévalence variable des atteintes osseuses de leur population.

En l'absence de preuves suffisamment solides, la mesure de la DMO dans le but de prédire le risque fracturaire n'est pas recommandée par les KDIGO chez les patients atteints d'IRC stade 3-5D. L'absence de moyen efficace pour évaluer le risque fracturaire pose un problème majeur car cela limite la possibilité de mettre en œuvre des études évaluant les mesures de prévention des fractures.

4.3.3. Tomodensitométrie quantitative, microtomodensitométrie, IRM haute résolution

Ces techniques sont en cours d'évaluation. La DMO corticale du radius mesurée par QCT s'est montrée associée aux fractures tous types confondus (Jamal et al., 2006) et la DMO corticale lombaire aux fractures vertébrales (Mares et al., 2009). Des études prospectives sont nécessaires pour connaître le rôle prédictif des fractures de ces techniques.

4.4. Utilité des marqueurs biologiques osseux

Les études transversales et prospectives ne sont pas concluantes aux yeux des experts des KDIGO (2009) et donnent même des résultats paradoxaux.

Les concentrations extrêmes de iPTH sont associées à un risque majoré de fractures.

Dans la population générale, certains marqueurs de formation et de résorption sont associés aux fractures chez les femmes ménopausées mais leur utilité à titre individuel n'est pas démontrée. Leur dosage est en revanche indiqué pour l'évaluation de la réponse aux traitements anti-résorptifs. Chez les insuffisants rénaux chroniques stade 5, les marqueurs de résorption, β -CTx (Okuno et al., 2005) et TRAP5b (Shidara et al., 2008), sont négativement corrélés à la DMO du 1/3 distal du radius et à la perte osseuse corticale au bout de 2 ans. Cependant cela ne correspond pas pour autant à une augmentation du risque fracturaire chez les dialysés (Ureña et al. 2003). Les données sont également contradictoires pour l'association entre PAL et risque fracturaire entre les études (Ureña et al., 2003 ; Blayney et al., 2008).

5. Calcifications vasculaires

5.1. Les différents types de calcifications vasculaires

On distingue deux types de calcifications artérielles selon la localisation du vaisseau, la pathogenèse et les conséquences cliniques : l'athérosclérose et l'artériosclérose (Amman et al., 2008) (figure 12). Ces deux types de calcifications sont souvent associés au stade d'IRC terminale.

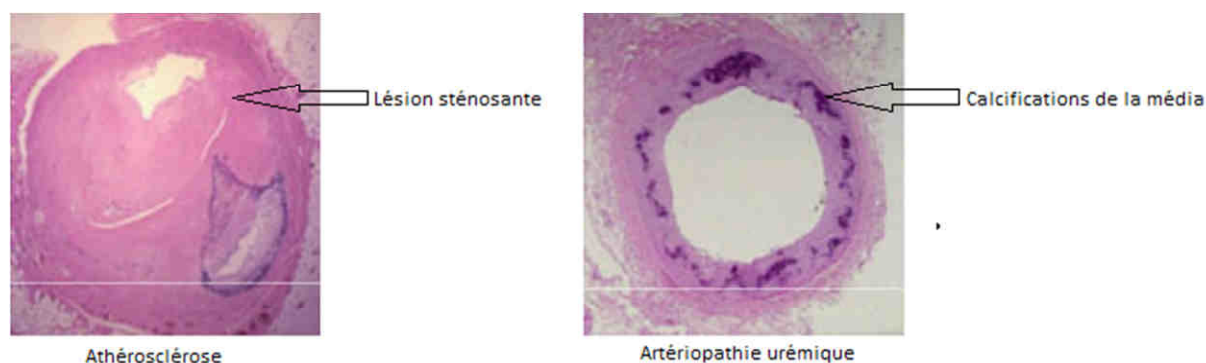


Figure 12 : Lésions d'athérosclérose et lésions d'artériopathie urémique

(d'après Bellasi,)

L'athérosclérose se développe aux dépens de l'intima des artères élastiques de gros et moyen calibre (dont les artères coronaires). Les calcifications apparaissent à un stade tardif de l'évolution des plaques athéromateuses (stade V de l'*American Heart Association*). Ces lésions sont sténosantes. Elles ne sont pas spécifiques de l'IRC, mais sont plus sévèrement calcifiées chez les patients dialysés.

L'artériosclérose correspond à des calcifications de la média des artères musculaires périphériques, particulièrement fréquentes chez les patients en hémodialyse. Ces lésions sont indépendantes de l'athérosclérose et sans lésion intimale sténosante. Elles sont essentiellement responsables d'une augmentation de la rigidité artérielle, favorisent l'HTA et l'hypertrophie ventriculaire gauche. La calciphylaxie ou artériopathie urémique calcifiante est une forme rare mais sévère de calcifications de la média des artères cutanées, responsables d'ischémies et fortement associée aux perturbations du métabolisme minéral de l'IRC.

Les calcifications peuvent également atteindre les valves cardiaques.

5.2. Épidémiologie

5.2.1. Incidence et prévalence

L'incidence et la sévérité des calcifications vasculaires (CV) augmentent au fur et à mesure du déclin de la fonction rénale. Ces calcifications sont plus fréquentes, plus sévères et plus rapidement évolutives chez les dialysés que dans la population générale (KDIGO, 2009). La prévalence varie selon les études en fonction du site et des techniques d'imagerie

utilisées (tableau 6). Au stade 5D, plus de 50 % des patients présentent des calcifications vasculaires.

Calcifications	Prévalence %	Références
Coronaires	81.7 – 92.5	Chertow 2002, Raggi 2004, Nitta 2004, Matsuoka 2004
Valvulaires	23.3 - 47	Chertow 2002, Raggi 2004, Pannuccio 2004, Varma 2005
Aortiques	79– 81	Chertow 2002, Raggi 2004, Honkanen 2008, Rodriguez-Garcia 2009

Tableau 6 : Prévalence des CV chez les dialysés

Selon l'étude de Rodriguez-Garcia *et al*, la prévalence des calcifications aortiques est de 79 % chez les hémodialysés contre 37,5 % dans une population appariée selon l'âge (Rodriguez-Garcia *et al.*, 2009). Les calcifications vasculaires affectent également les enfants et les adultes jeunes en dialyse (Goodman *et al.*, 2000).

5.2.2. Mortalité cardiovasculaire

Les maladies cardiovasculaires sont plus fréquentes chez les patients en IRC que dans la population générale. Selon le rapport 2010 du REIN (Réseau Épidémiologie et Information en Néphrologie), plus d'un malade sur deux a au moins une comorbidité cardiovasculaire à l'instauration du traitement de suppléance. Les maladies cardiovasculaires représentent la première cause de décès quelque soit le stade de la MRC. Dans le rapport 2010 du REIN, la mortalité cardiovasculaire représente 27 % des décès d'une cohorte de 53436 patients insuffisants rénaux en traitement de suppléance, suivis entre 2002 et 2010. La mortalité cardiovasculaire des patients dialysés est 10 à 20 fois plus élevée que dans la population générale (Foley *et al*, 1998). Selon de Jager *et al*, la mortalité cardiovasculaire des patients débutant la dialyse est 8.8 fois supérieure à celle de la population générale après normalisation selon l'âge (de Jager *et al.*, 2009).

5.3. Facteurs de risque cardiovasculaire

Les facteurs de risque cardiovasculaire et promoteurs de la CV chez les patients en IRC stade 5D sont (Sarnak *et al.* 2003, Román-García *et al.* 2010) :

- ❖ Les facteurs de risque traditionnels (décrits dans l'étude de Framingham): âge, sexe masculin, hypertension artérielle, LDL-cholestérol, diabète, tabac, sédentarité, ménopause, antécédents familiaux,
- ❖ Des facteurs de risque spécifiques : hypoalbuminémie, hyperhomocystéinémie, lipoprotéine (a) et apolipoprotéine a, anémie, anomalies du métabolisme phosphocalcique (hyperphosphorémie, hypercalcémie, augmentation du produit $\text{Ca} \times \text{P}$), surcharge hydro-sodée, stress oxydatif (mesurables par le dosage des superoxydes dismutases, des LDL-oxydés, de la vitamine E,...), inflammation chronique (CRP, IL-1, IL-6, $\text{TNF}\alpha$), dénutrition, facteurs thrombogènes, dysfonction endothéliale (monoxyde d'azote), apnées du sommeil, produits de glycation avancée

La présence et la sévérité des CV sont des facteurs prédictifs indépendants de morbidité et de mortalité cardiovasculaires chez les hémodialysés (Okuno et al., 2007, Verbeke et al., 2011). Plus spécifiquement, la présence de calcifications artérielles de la média est un marqueur pronostique de la mortalité cardiovasculaire et de la mortalité globale, indépendamment des autres facteurs de risque cardiovasculaire (London et al., 2003).

5.4. Physiopathologie

La physiopathologie des CV de l'IRC est extrêmement complexe. Les études *in vitro* et les modèles animaux urémiques permettent d'élucider peu à peu les mécanismes moléculaires mis en jeu. Le modèle retenu est qu'un phénomène semblable à une ostéogenèse se produit au sein du tissu vasculaire (Moe et Chen, 2008). Mais, alors que la minéralisation du squelette est finement régulée, la calcification vasculaire apparaît comme un processus pathologique survenant secondairement à des signaux environnementaux inappropriés. Elle semble résulter d'un processus actif à médiation cellulaire, et non d'une simple précipitation du calcium et du phosphate au niveau des parois artérielles.

- ❖ Les cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV), dérivant des cellules souches mésenchymateuses, sont capables d'acquérir un phénotype de type ostéoblaste (Giachelli, 2004) ou de type chondrocyte (Neven et al., 2010) sous l'action de divers stimuli : forces de cisaillement (synthèse locale de $\text{TGF-}\beta$), LDL-oxydés, facteurs de

croissance et cytokines inflammatoires circulants ou sécrétés par les péricytes, toxines urémiques, phosphatémie élevée, calcémie élevée. *In vitro*, un déséquilibre minéral induit l'apoptose des CMLV et la libération de vésicules formant un point de départ à la nucléation du minéral d'hydroxyapatite (Reynolds et al., 2004). Les complexes de nucléation pourraient également être libérés à partir de l'os (Giachelli, 2004). Le phosphate semble jouer un rôle clef dans la genèse des CV par l'intermédiaire du co-transporteur sodium-phosphate Pit1 exprimé par les CMLV (Li et al., 2006).

- ❖ Les CMLV transformées synthétisent et sécrètent des protéines de la matrice osseuse au sein même de la paroi vasculaire. L'identification de l'expression de facteurs de transcription clefs de différenciation ostéoblastique (Cbfa1) et chondrogénique (Sox9) et de leurs gènes cibles (protéines de la matrice osseuse) dans des prélèvements artériels humains calcifiés (Tyson et al., 2003) et dans les artères épigastriques inférieures calcifiées de patients en IRC prélevées lors de transplantations rénales (Moe et al., 2003) témoignent de l'existence d'une ostéoformation. Towler *et al* ont également démontré que la voie de signalisation de Wnt était activée dans les lésions calcifiées (Towler et al., 2006). Les cellules dendritiques et les monocytes qui ont la capacité de se différencier en cellules de type ostéoclastique interviennent également peut-être dans la genèse des calcifications ectopiques.
- ❖ La minéralisation survient secondairement sous le contrôle des protéines matricielles et des CMLV transformées. Elle est accélérée par sursaturation sérique en phosphate et par une balance calcique positive (suite à un traitement par carbonate de calcium ou à une supplémentation excessive en calcitriol), responsables d'un dépassement de la solubilité du produit $\text{Ca} \times \text{P}$.

La CV est favorisée par l'existence d'un déséquilibre entre promoteurs et inhibiteurs systémiques (sérum urémique) et locaux (paroi vasculaire) de la calcification (Chen et Moe, 2004 ; Ketteler et al., 2006 ; Shroff et al., 2007 ; Hruska et al., 2009) :

- o Facteurs accélérant la transformation phénotypique des CMLV et la minéralisation : phosphate, calcium, 25 (OH) D, PTH 7-34, cytokines

inflammatoires, LDL oxydés, BMP-2, leptine, stimulation de la voie de signalisation de Wnt,...

- o Déficit en inhibiteurs naturels de la calcification, potentiellement liés à l'état inflammatoire
 - Inhibiteurs systémiques (fétuine-A, PTH 1-34) et dysrégulation de l'OPG
 - Inhibiteurs locaux (Gla-protéines matricielles [Murshed et al., 2004], BMP-7, pyrophosphates)

L'importance relative de ces facteurs n'est pas claire, il est probable que certains jouent un rôle plus important dans la progression de la calcification des tissus mous plutôt que dans son initiation.

5.5. Progression des calcifications vasculaires

La progression et la sévérité des CV sont favorisées par des facteurs épidémiologiques (âge, ancienneté de la dialyse, antécédents cardiovasculaires, sexe masculin, type caucasien [Honkanen et al., 2008 ; KDIGO, 2009]) et les facteurs biologiques cités précédemment. L'ancienneté de la dialyse et l'hyperphosphatémie sont les facteurs de risque les plus fortement associés aux CV et à la mortalité.

Certains traitements sont susceptibles d'influencer l'évolution des CV. Le traitement de l'hyperphosphatémie repose sur des modifications diététiques, l'utilisation de chélateurs du phosphate et la dialyse. Chez les dialysés, il a été montré que le traitement par sevelamer ralentissait la progression des calcifications aortiques, coronaires et valvulaires (Chertow et al., 2002 ; Raggi et al., 2004). A l'inverse, l'utilisation de chélateurs de phosphate à base de calcium est associée à une progression des CV malgré un contrôle satisfaisant des paramètres phosphocalciques (Asmus et al., 2005, Block et al., 2005). Il est probable que le carbonate de calcium entraîne lors de son absorption des épisodes transitoires d'hypercalcémie favorisant les CV dans un contexte d'hyperphosphorémie et de PTH basse. A l'inverse, le sevelamer chélate les acides biliaires et permet de réduire les concentrations sériques de LDL-cholestérol. Cette action bénéfique du sevelamer est confortée par une étude prospective comparant sevelamer versus acétate de calcium associé à un contrôle strict du LDL-

cholestérol par l'atorvastatine : il n'a pas été observé de différence de progression des calcifications coronaires entre les deux groupes de l'étude (Qunibi et al., 2008).

Le traitement médicamenteux de l'hyperparathyroïdie secondaire fait appel au calcium et aux dérivés du calcitriol, puis aux calcimimétiques (cinacalcet Mimpara®, calcimimétique de type II) lorsque l'hyperparathyroïdie secondaire est résistante au traitement conventionnel. Le cinacalcet est un activateur allostérique du CaSR, récepteur dérégulé dans l'IRC, et permet d'abaisser les concentrations sériques de PTH sans augmenter la calcémie ou la phosphatémie, inconvénient majeur des traitements par calcium et dérivés du calcitriol (Block et al., 2004). Un modèle animal d'IRC a montré que le traitement par calcimimétiques seuls (R-568 ou AMG 641) n'entraînait pas de calcifications extra-osseuses (à la différence des dérivés du calcitriol) et permettait de prévenir les CV et de réduire la mortalité lorsqu'ils étaient utilisés en association avec du calcitriol (Lopez et al., 2008 ; Rodríguez et al., 2008). Afin de confirmer ces résultats, un essai clinique a été mené chez les hémodialysés présentant une hyperparathyroïdie secondaire modérée à sévère (étude ADVANCE). L'objectif était de comparer la progression des CV selon le traitement : cinacalcet associé à de faibles doses d'analogues du calcitriol versus doses variables de calcitriol seul. La progression annuelle des CV et valvulaires a été moindre dans le groupe « cinacalcet », sans pour autant être significative ($p=0,073$; Raggi et al., 2011). L'étude se poursuit actuellement afin de confirmer ou non cette tendance et d'évaluer la morbi-mortalité associée.

Le rôle de la parathyroïdectomie sur la progression des CV n'a pas été étudié dans des études prospectives chez les hémodialysés.

5.6. Évaluation radiologique

Plusieurs techniques d'imagerie permettent l'étude des calcifications artérielles, la tomodensitométrie étant considérée comme l'examen de référence quelle que soit la localisation des calcifications.

Les calcifications coronaires s'évaluent au scanner par le score d'Agatston (Agatston et al., 1990), basé sur l'extension et la sévérité des lésions. Initialement identifié comme une information pronostique supplémentaire aux facteurs de risque cardiovasculaire classiques

dans la population générale (Shaw et al., 2003), ce score s'est également révélé prédictif de la mortalité globale des patients hémodialysés (Matsuoka et al., 2004 ; Watanabe et al., 2010). Cependant le scanner reste une technique coûteuse et irradiante.

Le score de calcifications aortiques de Kauppila réalisé à partir d'une simple radiographie standard du rachis lombaire (décrit dans la partie Patients et Méthodes VIII.) est plus simple à mettre en œuvre (Kauppila et al., 1997). Il s'est révélé fortement corrélé au score d'Agatston (Bellasi et al., 2006) et constitue également un bon facteur pronostique de morbidité et de mortalité chez les dialysés (Verbeke et al., 2011). La présence de calcifications valvulaires mitrales ou aortiques à l'échographie est également un bon indicateur de la présence de calcifications coronariennes (Bellasi et al., 2006).

Ces études permettent de penser que la radiographie abdominale de profil (pour la recherche de calcifications aortiques) et l'échographie cardiaque (pour la recherche de calcifications valvulaires) constituent des alternatives raisonnables au scanner afin d'évaluer le risque cardiovasculaire des patients hémodialysés en raison de leur sensibilité satisfaisante, de la moindre irradiation, du moindre coût et de leur mise en œuvre plus aisée en ambulatoire. Les KDIGO recommandent d'utiliser ces techniques chez les patients en IRC stades 3-5D, le scanner étant plutôt réservé à la recherche clinique. Aucune de ces techniques ne permet toutefois de distinguer les lésions intimes des lésions de la média.

5.7. Marqueurs biologiques, calcifications vasculaires et risque cardiovasculaire

Plusieurs marqueurs biologiques ont été identifiés comme étant associés à la morbidité et la mortalité cardiovasculaire des patients en IRC stade 5 :

- ❖ L'élévation de la CRP, multifactorielle chez les dialysés (Zimmermann et al., 1999),
- ❖ Les concentrations élevées de phosphate ($> 1,6$ mmol/L) et de calcium sont associées à une mortalité cardiovasculaire ou globale accrue (Block et al., 2004),
- ❖ La carence en vitamine D est associée à un risque majoré d'événement cardiovasculaire, de mort subite et de mortalité globale (Drechsler et al., 2010),
- ❖ L'augmentation des PAL sériques (Blayney et al., 2008 ; Regidor et al., 2008),
- ❖ L'augmentation des PALos et la diminution de la TRAP5b auraient un rôle prédictif de la survenue d'événements cardiovasculaires (Fahrleitner-Pammer et al., 2008),

- ❖ Les concentrations élevées de FGF23 constituent un facteur de risque indépendant de mortalité chez les patients en IRC stade 5 (Isakova et al., 2011) et stade 5HD (Gutiérrez et al., 2008,) et sont associés à l'inflammation (Mendoza et al., 2012).

D'autres marqueurs n'apparaissent en revanche ni associés, ni prédictifs de la morbi-mortalité cardiovasculaire dans les études menées jusqu'à présent. Fahrleitner-Pammer et al. (2008) ont suivi 135 patients insuffisants rénaux chroniques stades 1-5 sans autre facteur de risque cardiovasculaire. La iPTH et les CTX n'apparaissent pas prédictifs des événements cardiovasculaires après ajustement selon le stade d'IRC.

RANKL et OPG ont une implication peu claire. Des concentrations sériques basses de RANKL ont été associées au risque coronarien dans une population masculine (Schoppet et al., 2003). Mais chez les hémodialysés, une diminution de RANKL apparaît comme facteur protecteur de la mortalité (Morena et al., 2006 ; Kiechl et al., 2007). Dans les modèles animaux, l'OPG est protectrice contre les calcifications artérielles (Bucay et al., 1998). Paradoxalement, l'OPG a été identifiée comme facteur de risque indépendant de maladies cardiovasculaires : des concentrations sériques élevées d'OPG sont associées à l'athérosclérose, l'atteinte coronaire et la mortalité cardiovasculaire chez l'homme (Kiechl et al., 2006 ; Papadopouli et al., 2008). Chez les hémodialysés, des concentrations sériques élevées apparaissent prédictives de la progression des CV (Nitta et al., 2004), de la résistance artérielle, du risque cardiovasculaire associé (Speer et al., 2008) et de la mortalité globale (Morena et al., 2006). L'OPG pourrait être impliquée dans la progression des CV ou constituer un marqueur de l'atteinte vasculaire ou encore être un mécanisme compensatoire dans le but de limiter la progression des CV (Van Campenhout et Golledge, 2009).

Les concentrations sériques des formes décarboxylées des Gla-protéines matricielles sont inversement corrélées à la sévérité des calcifications artérielles (Hermans et al., 2007 ; Cranenburg et al., 2009).

La fétuine-A (*alpha 2-Heremans-Schmid glycoprotein*) est une protéine d'origine hépatique qui circule dans le sang et inhibe la précipitation du complexe calcium-phosphore. Sa synthèse est réduite par l'inflammation. Chez les insuffisants rénaux chroniques, des concentrations sériques basses de fétuine-A ont été observées (Ketteler et al., 2003) ;

elles sont associées à d'importantes calcifications coronaires (Moe et al., 2005) et à un risque de mortalité cardiovasculaire augmenté (Ketteler et al., 2003).

6. Relation os – système vasculaire

Le concept d'axe os-système vasculaire (Hamerman, 2005 ; London, 2009) a émergé suite à l'observation de l'existence paradoxale des perturbations du métabolisme osseux et des calcifications artérielles. Chez les femmes ménopausées, une association fréquente entre l'ostéoporose et les CV a été identifiée (Schulz et al., 2004 ; Tanko et al., 2005). Dans l'étude de Schulz *et al*, il apparaît que la progression des calcifications aortiques est proportionnelle à la perte osseuse. La présence de CV est également directement liée au risque de fracture. Ce lien entre pathologies osseuse et vasculaire existe également dans l'IRC comme en témoigne le regroupement des perturbations du métabolisme minéral, de l'ostéodystrophie rénale et des CV au sein d'un même syndrome (TMO-MRC). Plusieurs études chez les patients insuffisants rénaux stade 5 ont rapporté une association entre la présence de calcifications artérielles et une diminution du volume osseux ou un niveau de remodelage osseux faible à l'histomorphométrie (London et al., 2004, Barreto et al., 2005, Adragao et al. 2009). Rodríguez-García *et al* ont confirmé l'association entre CV, fractures et mortalité chez les hémodialysés (Rodríguez-García et al., 2009).

Ces observations cliniques et épidémiologiques sont renforcées par les données expérimentales qui suggèrent des similitudes entre l'ostéofragmentation et le processus de CV. Les mécanismes sous-jacents ne sont pas bien compris. Cette association pourrait résulter soit d'une relation de causalité, soit de mécanismes physiopathologiques communs (Demer et Tintut, 2010). Plusieurs facteurs pourraient être impliqués : le vieillissement, des facteurs de risque communs (diabète, stress oxydatif, dyslipidémie notamment), les perturbations systémiques du métabolisme minéral et le rôle endocrine du tissu osseux influençant la physiologie vasculaire, ou encore une diminution de la perfusion osseuse en aval des lésions artérielles (London, 2009).

Dans l'IRC, le phosphate pourrait constituer la base de l'interaction os/vaisseaux. Dans le modèle de l'os adynamique de Hruska *et al*, la diminution du remodelage osseux entraînerait une perte de la capacité de l'os à absorber le calcium et le phosphate circulants pour sa minéralisation, ce qui favoriserait, dans le contexte urémique, les calcifications

ectopiques/vasculaires (Hruska et al., 2009). A la fois en cas d'hyperparathyroïdie secondaire et d'ostéopathie adynamique, il se produit donc une libération excessive de phosphate dans la circulation promouvant fortement la calcification. Ainsi, la correction d'un remodelage trop élevé ou trop bas protégerait contre la progression des CV.

OBJECTIFS

Ce travail, effectué dans une population de sujets hémodialysés, repose sur deux parties.

❖ Une étude transversale

L'objectif est de déterminer la valeur diagnostique d'un ensemble de marqueurs cliniques et biologiques pour l'identification de la fragilité osseuse, responsable de fractures, et de la sévérité des calcifications vasculaires (TMO-MRC).

Parmi les fractures de fragilité, nous avons individualisé les fractures vertébrales des fractures périphériques. Ceci nous a permis d'étudier l'association entre les marqueurs cliniques et biologiques et les fractures de fragilité tous types confondus d'une part, puis plus spécifiquement les fractures vertébrales d'autre part.

❖ Une étude longitudinale

L'objectif est de déterminer la valeur prédictive de ces mêmes marqueurs pour la survenue de fracture de fragilité, la survenue d'événements cardiovasculaires et le risque de décès.

PATIENTS ET MÉTHODES

I. Schéma de l'étude

Il s'agit d'une étude épidémiologique, monocentrique, transversale puis prospective.

Les données recueillies au cours de l'étude ont été conservées dans un fichier informatique. Chaque patient inclus a été anonymisé par un système de codage. Le protocole a été déclaré à la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL).

Cette étude s'inscrit dans le cadre de la recherche clinique non interventionnelle et a reçu l'approbation du Groupe Nantais d'Ethique dans le Domaine de la Santé (GNEDS). Une biocollection a été constituée grâce aux échantillons sanguins prélevés de manière anonyme. Elle a été déclarée et stockée au sein du laboratoire de Biochimie du CHU de Nantes.

II. Population étudiée

1. Caractéristiques générales

68 patients insuffisants rénaux chroniques hémodialisés (36 femmes et 32 hommes) du service de Néphrologie-Hémodialyse du CHU de Nantes ont été recrutés en mai 2011 parmi les patients dialysés dans ce centre à cette date. Tous les patients ont été informés oralement par l'investigateur de l'étude. Chaque participant inclus a donné son consentement écrit et éclairé. Les séances d'hémodialyse se déroulent 3 fois par semaine le matin ou l'après-midi sur une durée de 4 heures. Les concentrations en calcium du dialysat se situent entre 1,25 et 1,5 mmol/L et sont adaptées selon la iPTH et/ou la calcémie.

2. Critères d'inclusion

L'insuffisance rénale chronique en stade terminal nécessitant un traitement de suppléance par hémodialyse et l'adhésion au protocole étaient les critères nécessaires et suffisants pour l'inclusion.

3. Critères d'exclusion

Les patients dialysés la nuit (n=7) ainsi qu'une patiente atteinte d'un myélome à chaînes légères avec tubulopathie d'emblée au stade de dialyse ont été exclus. Quatre patients ont refusé de participer à l'étude.

Les critères d'arrêt prématuré de la participation à l'étude étaient : le décès, le changement de centre de dialyse, le retrait de consentement à l'exploitation des données, la transplantation rénale.

4. Suivi

Les patients ont été suivis pendant 1 an et 4 mois. Leur prise en charge médicale concernant les TMO-MRC au sein du service d'Hémodialyse est guidée par les recommandations des KDIGO 2009 et n'est pas modifiée par l'inclusion dans le protocole. Les changements de thérapeutiques et les adaptations posologiques entraînent dans le cadre des soins courants.

III. Calendrier de l'étude

L'étude comporte trois temps d'évaluation : inclusion (J0), 6 mois et 1 an. Les différentes actions menées chez les patients au cours de l'étude se sont déroulées selon le calendrier suivant (tableau 7) :

Actions	J-30	J0	6 mois	1 an
Information du patient	×			
Recueil des antécédents	×			
Ostéodensitométrie		×		
Radiographies du rachis lombaire (fractures vertébrales et CV)		×	×	×
Survenue de fractures autres que vertébrales (interrogatoire)			×	×
Calcémie		×	×	×
Albuminémie		×	×	×
Phosphorémie		×	×	×
CRP		×		
iPTH		×	×	×
PTH bio-intacte		×	×	×
25 (OH) D		×	×	×
OPG		×	×	×
sRANKL		×	×	×
PALos		×	×	×
P1NP		×		
Ostéocalcine		×		
TRAP5b		×	×	×
β-CTx		×		

sRANKL : RANKL soluble

Tableau 7 : Calendrier de l'étude

IV. Données cliniques

Les données cliniques ont été collectées grâce aux dossiers informatiques des patients, en collaboration avec les médecins néphrologues et rhumatologues impliqués dans la prise en charge médicale des patients.

Les données cliniques recueillies à l'inclusion (01/05/2011) sont les suivantes :

- ❖ Date de naissance et âge en années
- ❖ Sexe
- ❖ Indice de masse corporelle (IMC) en kg/m²

- ❖ Étiologie de l'insuffisance rénale
- ❖ Durée totale de dialyse en mois
- ❖ Antécédent et date de greffe rénale
- ❖ Antécédent de parathyroïdectomie
- ❖ Antécédents de fracture
- ❖ Facteurs de risque cardiovasculaire : tabac, dyslipidémie, diabète de type I ou II, hypertension artérielle
- ❖ Cardiopathie ischémique
- ❖ Traitements :
 - o Du métabolisme phosphocalcique, en cours au moment de l'inclusion : calcium, chélateurs du potassium à base de calcium, chélateurs de phosphate calcique (carbonate de calcium) et non calciques (carbonate de lanthane, sévélamer chlorydrate), vitamine D, calcitriol, calcimimétique
 - o Corticothérapie au long cours en cours ou ancienne (entre 01/01/2006 et 01/05/2011)
 - o Traitement par L-thyroxine en cours et équilibre thyroïdien

Les données cliniques recueillies au cours du suivi sont les suivantes :

- ❖ Décès, date et cause du décès
- ❖ Greffe rénale et date de greffe
- ❖ Survenue de fractures de fragilité, tous types confondus
- ❖ Survenue d'un événement cardiovasculaire (syndrome coronarien aigu, troubles du rythme dans le cadre d'une cardiopathie ischémique, nécessité d'une angioplastie dans le cadre de la prise en charge d'une cardiopathie ischémique, accident vasculaire cérébral ischémique, artériopathie périphérique, progression des calcifications aortiques)
- ❖ Instauration d'un traitement par corticoïdes ou par L-thyroxine
- ❖ Exclusion de l'étude

V. Densité minérale osseuse

La technique de référence pour l'évaluation de la DMO est l'absorptiométrie biphotonique à rayon X (DEXA) ou ostéodensitométrie. Cette technique utilise la mesure de l'atténuation des radiations dans une région osseuse pour permettre d'évaluer la quantité d'os minéralisé (masse de minéral rapportée à une surface osseuse). Cette densité surfacique se mesure dans une position standard et s'exprime en g/cm^2 . L'appareil utilisé est un densitomètre Lunar Prodigy AdvanceTM (Lunar CorporationTM, Madison, Wisconsin, USA).

Les mesures ont été effectuées une fois au cours de l'étude au moment de l'inclusion des patients. Les sites examinés sont le rachis, les deux hanches (col fémoral, trochanter, hanche totale) et l'avant-bras (radius entier, radius 33 %, radius ultra-distal). La présence de calcifications vasculaires avancées de l'aorte abdominale chez certains patients, pouvant faire surestimer la densité minérale osseuse lombaire, a contraint à exclure du recueil de données les mesures obtenues au niveau du rachis lombaire chez ces patients. Les valeurs absolues des mesures de DMO sont converties pour chaque site en *T*-score (nombre d'écarts-types par rapport à la DMO moyenne d'une population d'adultes jeunes en bonne santé), utilisé pour la définition de l'ostéopénie (*T*-score entre -1 et -2,5 DS) et de l'ostéoporose (*T*-score inférieur à -2,5 DS) (définition de l'Organisation Mondiale de la Santé). Les valeurs retenues pour chaque patient pour l'analyse statistique sont :

- ❖ Le *T*-score le plus bas parmi les *T*-scores obtenus sur les sites rachis, hanches, poignet (*T*-score minimal R/H/P) et le *T*-score le plus bas parmi les *T*-scores obtenus sur les sites rachis ou hanches (*T*-score minimal R/H).
- ❖ L'existence ou non d'un *T*-score < -2,5 DS quel que soit le site analysé (rachis/hanches/poignet) et l'existence ou non d'un *T*-score < -2,5 DS au niveau du rachis ou d'une des hanches.

VI. Données biologiques

1. Prélèvements

Les prélèvements ont été réalisés à trois temps différents de l'étude : à l'inclusion (mai 2011), à 6 mois (novembre 2011) et à 1 an (mai-juin 2012). Les analyses suivantes entraient

dans le cadre des soins courants : calcémie, albuminémie, phosphorémie, C-reactive protein (CRP), 25-OH vitamine D, PTH intacte, PAL osseuses et β -CTX. Un tube sec supplémentaire de 5 mL, identifié de manière codée, a été prélevé afin de constituer une biocollection pour les analyses ne faisant pas partie des soins courants : PTH bio-intacte, OPG, RANKL soluble (sRANKL), TRAP5b, P1NP et ostéocalcine.

Les échantillons sanguins ont été recueillis juste avant la séance de dialyse, le matin ou l'après-midi.

2. Dosages biochimiques

Les échantillons de la biocollection ont été conservés à -20°C pendant 2 mois puis congelés à -80°C . Les dosages ont été effectués lors du premier ou du deuxième cycle de décongélation, conformément aux recommandations techniques des fournisseurs.

Les analyses ont été réalisées aux laboratoires de biochimie générale, de biochimie spécialisée et d'hormonologie du CHU de Nantes, ainsi qu'au Laboratoire de Physiopathologie de la Résorption Osseuse et Thérapie des Tumeurs Osseuses Primitives (INSERM, UMR 957) de l'Université de Nantes.

2.1. Trousses de dosage utilisées

Les trousse de dosage utilisées ainsi que les valeurs de référence sont citées dans le tableau 8.

Paramètre	Trousse de dosage	Unités	Valeurs de référence
Calcémie	CA2 - Roche Diagnostics ^{TM*}	mmol/L	2,20–2,60
Phosphatémie	PHOS2 - Roche Diagnostics ^{TM*}	mmol/L	0,80-1,30
CRP	CRPL3 - Roche Diagnostics ^{TM*}	mg/L	< 5
Albuminémie	ALBT2 - Roche Diagnostics ^{TM*}	g/L	38-42
PTH intacte	Intact PTH® - Roche Diagnostics ^{TM*}	pg/mL	Population générale : 15-65 ; Population non carencée en vitamine D : 13-46 ; Intervalle choisi pour les hémodialysés : 130-500
PTH bio-intacte	LIAISON® 1-84 PTH® - DiaSorin ^{TM§}	pg/mL	Population générale : 4,6-58,1 ; Population non carencée en vitamine D : 4,6-38,4
25 (OH) D	LIAISON® 25 OH vitamine D total® - DiaSorin ^{TM§}	ng/mL	30–60
OPG	Osteoprotegerin BI-20402® - Biomedica Medizinprodukte TM	pmol/L	2,53-3,74 (Saldana Chaparro, 2008)
sRANKL	HUMAN RANKL Single Plex KIT HBN51K1RANKL MILLIPEX TM MAP - MILLIPORE ^{TM†}	pg/mL	Non connues
PALos	LIAISON® BAP OSTASE® - DiaSorin ^{TM§}	µg/L	Hommes : 16,1-25,2 ; Femmes pré-ménopausées : 16,9-26,6 ; Femmes post-ménopausées : 17,8-25,0 (Cavalier et al., 2010)
P1NP	Total P1NP® - Roche Diagnostics ^{TM*}	µg/L	Femmes pré-ménopausées : 15,1-58,6 ; Femmes post-ménopausées : 16,3-73,9
Ostéocalcine	LIAISON® Osteocalcin® - Diasorin ^{TM§}	ng/mL	Hommes : 4,6-65,4 ; Femmes pré- ménopausées : 6,5-42,3 ; Femmes post-ménopausées : 5,4-59,1
TRAP5b	Microvue TRAP5b® – Microvue Bone Health - Quidel ^{TMΔ}	U/L	Hommes : 2,6-4,4 ; Femmes pré-ménopausées : 1,5-4,3 ; Femmes post-ménopausées : 2,8-5,8
β-CTx	β-CrossLaps/serum® - Roche Diagnostics ^{TM*}	pg/mL	Hommes (30 à 50 ans) < 584 ; Hommes (> 50 à 70 ans) < 704 ; Hommes (> 70 ans) < 854 ; Femmes pré-ménopausées < 573 ; Femmes post-ménopausées < 1008

* Roche DiagnosticsTM GmbH, Mannheim, Allemagne ; § DiaSorinTM, Stillwater, Minnesota, USA ; † Biomedica MedizinprodukteTM, Vienne, Autriche ; ‡ Millipore CorporationTM, Billerica, Massachusetts, USA ; Δ Quidel CorporationTM, San Diego, California, USA

Tableau 8 : Trousses de dosage utilisées

2.2. Particularités techniques

La calcémie a été corrigée par la concentration d'albumine selon la formule suivante recommandée par les KDIGO :

$$\text{Calcium corrigé (mmol/L)} = \text{calcium mesuré (mmol/L)} + 0,025 \times (40 - \text{albumine [g/L]}).$$

Le seuil d'hypoalbuminémie significative est fixé à 35 g/L pour notre population.

Concernant le dosage de la PTH :

- La trousse Intact PTH (Roche Diagnostics™) est un dosage de 2^e génération. Le fabricant signale l'absence de réactivité croisée avec le fragment 1-37 mais ne précise pas la réactivité croisée avec le fragment 7-84. Selon les recommandations des KDIGO et les pratiques du service d'Hémodialyse du CHU de Nantes, nous avons choisi les valeurs cibles suivantes pour les hémodialisés : 130-500 pg/mL.
- La trousse LIAISON® 1-84 PTH (DiaSorin™) est un dosage de 3^e génération. Le fabricant signale l'absence de réactivité croisée avec les fragments de PTH humaine suivants : hPTH 7-84, hPTH 1-34, hPTH 13-34, hPTH 39-68, hPTH 44-68, hPTH 39-84, hPTH 53-84.
- La différence entre iPTH intacte et PTH bio-intacte permet d'avoir une approximation de la PTH non 1-84 (majoritairement le fragment 7-84).
- Le ratio PTH non 1-84 / PTH 1-84 est estimé selon la formule suivante :

$$(\text{iPTH} - \text{PTH bio-intacte}) / \text{PTH bio-intacte}$$

La trousse LIAISON® 25 OH vitamine D TOTAL (DiaSorin™) permet la quantification de la 25 (OH) D3 et de la 25 (OH) D2.

La trousseLIAISON® BAP OSTASE® (DiaSorin™) présente une réactivité croisée avec les PAL hépatiques qui est responsable d'une élévation des résultats du dosage en cas de concentrations élevées de PAL hépatiques. Cette réactivité croisée est comparable à celle d'une méthode de référence ($r=0,967$).

La trousse LIAISON® Osteocalcin (DiaSorin™) reconnaît la molécule intacte d'ostéocalcine et son fragment N-terminal Mid (100%).

La trousse Total P1NP (Roche Diagnostics™) détecte les deux isoformes de la molécule intacte présents dans le sang (trimère et monomère).

Le kit Microvue TRAP5b – Microvue Bone Health (Quidel Corporation™) utilise deux anticorps monoclonaux de capture, l'un fixant la TRAP5b active (Trk62), l'autre hautement spécifique des fragments inactifs de la TRAP5b (Trk49) permettant de s'affranchir de leur interférence lors du dosage de TRAP5b.

Le kit HUMAN RANKL Single Plex KIT HBN51K1RANKL MILLIPEX™ MAPde MILLIPORE™ permet le dosage de RANKL soluble total.

VII. Fractures vertébrales

Des radiographies standard du rachis dorso-lombaire (face et profil) ont été réalisées pour chaque patient et interprétées par les médecins du service de Rhumatologie (trois lecteurs). La recherche de fracture s'effectue selon la méthode semi-quantitative de Genant qui consiste à classer chaque vertèbre en fonction du degré de perte de hauteur et du type de déformation. Les lectures initialement discordantes ont fait l'objet d'une relecture consensuelle. L'information relevée à l'inclusion est la présence ou l'absence de fracture. Les radiographies ont été répétées à 6 mois et à 1 an environ (août 2012) afin d'évaluer l'apparition de nouvelles fractures.

VIII. Calcifications vasculaires

Des radiographies de l'abdomen de profil ont été réalisées pour chaque patient et interprétées par les médecins du service de Néphrologie-Hémodialyse (deux lecteurs) afin de déterminer un score semi-quantitatif de CV de l'aorte abdominale selon la méthode décrite par Kauppila *et al* (Kauppila et al., 1997) (score antéro-postérieur). Les dépôts calciques des parois antérieure et postérieure de l'aorte abdominale, en regard des 4 premières vertèbres lombaires, sont analysés. Chaque segment de l'aorte est délimité par le milieu des espaces intervertébraux supérieur et inférieur de la vertèbre en regard. Un score de 0 à 3 est attribué respectivement à la partie antérieure et la partie postérieure de chaque segment en fonction de la sévérité des lésions observées (0, aucune calcification ; 1, petites calcifications dispersées sur moins du 1/3 du segment longitudinal aortique ; 2, calcifications occupant ≥

1/3 et moins de 2/3 du segment longitudinal aortique ; 3, calcifications occupant $\geq 2/3$ du segment longitudinal aortique). La somme des scores affectés aux quatre segments définit un index de sévérité des calcifications de l'aorte abdominale : le score total antéro-postérieur (0-24). Cette méthode standardisée est validée pour l'évaluation des calcifications de l'aorte abdominale. Les lectures initialement discordantes ont fait l'objet d'une relecture consensuelle.

Pour l'étude, nous avons relevé à l'inclusion la présence ou l'absence de CV ainsi que leur sévérité, déterminée par le score antéro-postérieur de Kauppila.

En l'absence de valeurs seuils définies et en raison du nombre de patients, deux sous-groupes ont été identifiés pour les analyses statistiques en fonction de la sévérité des CV :

- ❖ Score ≤ 8 : score de CV faible
- ❖ Score de 9 à 24 : score de CV élevé

Les radiographies ont été répétées à 6 mois (novembre 2011) et 1 an environ (août 2012) afin d'évaluer la progression des calcifications aortiques. La progression est jugée significative lorsque le score est incrémenté de + 3.

IX. Analyses statistiques

Les données ont été saisies et codées sur Excel 2003©.

Les données qualitatives sont présentées en nombre de patients et pourcentage du nombre total. Les données quantitatives sont présentées en moyenne, écart-type, intervalle (minimum-maximum) et/ou distribution en classes.

La corrélation entre les techniques de dosage de la PTH utilise le coefficient de corrélation de Pearson. Les techniques sont comparées par la méthode de Bland-Altman.

L'évaluation statistique a été réalisée avec les logiciels GraphPad Prism5 (GraphPad Software Inc, La Jolla, California, USA) et R Project version 2.12.0 (R Development Core Team, 2009). Les corrélations entre variables cliniques et biologiques ont été effectuées avec le test non paramétrique de Spearman. L'évaluation des fractures et de la sévérité des calcifications vasculaires à J0, la prédiction de la survenue de fractures, d'événements

cardiovasculaires et de la mortalité à 1 an, ont été réalisées par des analyses bivariées. Nous avons utilisé les tests non paramétriques de Mann-Whitney et Wilcoxon ainsi que le test de Kruskal-Wallis pour la comparaison des moyennes des variables quantitatives, et le test exact de Fisher pour les variables qualitatives. Le modèle choisi repose sur un seuil de signification statistique à 0,05 en situation bilatérale. L'identification des facteurs prédictifs de la survenue de fractures, d'événements cardiovasculaires et de la mortalité à 1 an, a également été réalisée par des analyses multivariées. Le modèle de régression logistique choisi utilise une méthode progressive de type ascendante et descendante, avec le critère d'AIC (*Akaike Information Criterion*) pour la sélection du modèle final. L'odds ratio (OR) est calculé pour chaque variable avec un intervalle de confiance à 95 %.

RÉSULTATS

I. Analyse descriptive de la population de patients hémodialysés

1. Données épidémiologiques et cliniques

1.1. Caractéristiques générales

Parmi les 68 patients initialement inclus, seules les données de 59 patients ont pu être exploitées pour l'évaluation des fractures et des calcifications vasculaires. Le tableau 9 résume leurs principales caractéristiques épidémiologiques et cliniques.

Paramètres	n=59
Ratio hommes/femmes	0,8 (26/33)
Age (années)	70 ± 14 [31-89]
Ancienneté de dialyse (mois)	64 ± 77 [2-389]
Étiologie de l'IRC :	
Néphropathie vasculaire et hypertensive	28,8 % (n=17)
Néphropathie diabétique	25,4 % (n=15)
Glomérulonéphrite	13,6 % (n=8)
NTIC	10,2 % (n=6)
Néphropathie mixte	6,8 % (n=4)
Autre	16,9 % (n=10)
Au moins un facteur de risque cardiovasculaire :	88,1 % (n=52)
Dont le diabète	47,5 % (n=28)
Antécédent de pathologie coronarienne	22,0 % (n=13)
IMC (kg/m ²)	26,7 ± 5,8 [16,4-39,9]
Antécédent de greffe rénale	25,4 % (n=15)
Antécédent de parathyroïdectomie	6,8 % (n=4)
NTIC (néphropathie tubulointerstitielle chronique)	

Tableau 9 : Données épidémiologiques et cliniques de la population de patients hémodialysés

Les variables quantitatives sont exprimées en moyenne ± écart-type et intervalle ; les variables qualitatives sont exprimées en pourcentage et en nombre total de patients.

L'âge médian des patients est de 73 ans. Les proportions de patients par tranche d'âge sont détaillées dans la figure 13. La médiane de l'ancienneté de dialyse est de 38 mois. 45,8 % des patients ont une ancienneté de dialyse inférieure à 3 ans. Un quart des patients a un ou plusieurs antécédents de greffe rénale, causant des interruptions dans les périodes de dialyse. L'ancienneté moyenne de dialyse pour les patients aux antécédents de greffe rénale est de 137 ± 120 mois (9 à 389 mois). Ils sont repris l'hémodialyse depuis environ 77 ± 96 mois (9 à 360 mois) depuis leur dernière greffe.

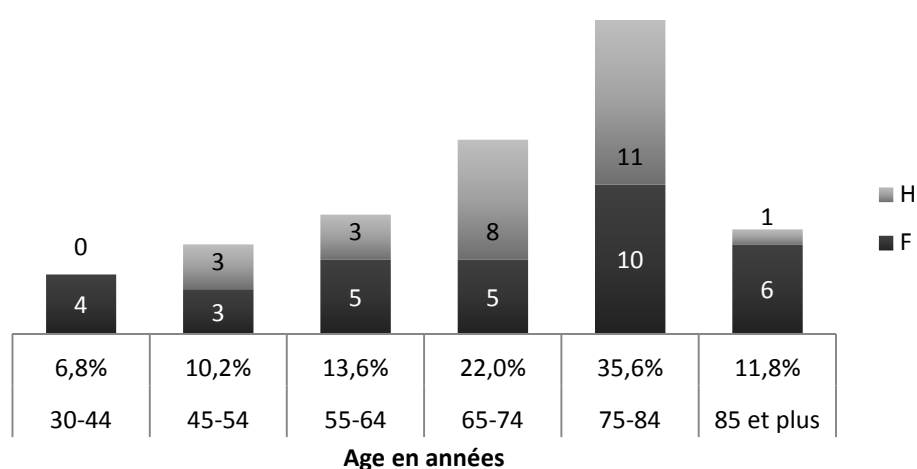


Figure 13 : Proportion de patients par tranche d'âge et sexe ratio

(H : hommes ; F : femmes)

1.2. Facteurs de risque cardiovasculaire

L'âge représente le premier facteur de risque cardiovasculaire puisque 75,8 % des femmes ($n=25$) ont plus de 60 ans et 96,2 % des hommes ($n=25$) ont plus de 50 ans. La prévalence des facteurs de risque cardiovasculaire traditionnels est élevée. 88,1 % des patients présentent au moins un facteur de risque parmi les suivants : HTA (81,4 %), dyslipidémie (23,7 %), tabac (5,1 %), diabète (47,5 %). 22,0 % des patients ont un antécédent de pathologie coronarienne.

La surcharge pondérale ($\text{IMC} > 25 \text{ kg/m}^2$) et l'obésité ($\text{IMC} > 30 \text{ kg/m}^2$) concernent 61,0 % des patients.

1.3. Traitements

96,6 % des patients sont supplémentés en vitamine D. En effet, bien que le niveau d'évidence soit faible, la correction de la carence en 25 (OH) D est conseillée, notamment dans la stratégie thérapeutique de l'hyperparathyroïdie.

32,2 % des patients reçoivent du calcitriol et 25,4 % reçoivent une supplémentation en calcium. Les chélateurs de phosphate non calciques sont majoritairement utilisés : chlorydrate de sevelamer (74,6 %) ou carbonate de lanthane (15,3 %). 25,4 % des patients sont traités par calcimimétiques.

Parmi les traitements susceptibles d'influencer le remodelage osseux, 9 patients ont reçu ou reçoivent une corticothérapie systémique au long cours. 10 patients sont substitués par L-thyroxine pour dysthyroïdie, dont 8 patients avec un équilibre correct de la TSH et 2 avec des épisodes d'hypothyroïdie récurrents. Aucun patient ne présente d'hyperthyroïdie dans les mois précédant l'inclusion dans l'étude.

2. Données biologiques

Les données biologiques des patients à J0 sont résumées dans le tableau 10.

Paramètre	Moyenne $\pm$ écart-type	Intervalle
Phosphatémie (mmol/L)	1,50 $\pm$ 0,41	0,71-2,65
Calcémie corrigée (mmol/L)	2,34 $\pm$ 0,17	1,94-2,82
Albuminémie (g/L)	33,4 $\pm$ 4,7	22,4-43,4
CRP (mg/L)	26,6 $\pm$ 63,1	<3-397,1
25-OH vitamine D (ng/mL)	36,6 $\pm$ 8,0	22,2-56,3
iPTH (pg/mL)	334,7 $\pm$ 226,1	41,1-910,9
PTH bio-intacte (pg/mL)	173,9 $\pm$ 118,4	18,6-432,0
PTH non 1-84 (pg/mL)	161,0 $\pm$ 124,6	22,5-512,9
Ratio PTH non 1-84/PTH 1-84	1,03 $\pm$ 0,58	0,30-4,17
OPG (pmol/L)	11,37 $\pm$ 5,27	3,82-24,93
sRANKL (pg/mL)	34,83 $\pm$ 148,13	0-1124,43
Ratio sRANKL/OPG	2,82 $\pm$ 9,35	0-70,81
PALos (μ g/L)	18,8 $\pm$ 12,3	5,6-65,3
Ostéocalcine (ng/mL)	173,0 $\pm$ 92,0	32,1->300
P1NP (μ g/L)	362,2 $\pm$ 285,0	71,8-1200
TRAP5b (U/L)	4,71 $\pm$ 2,71	1,39-15,27
β -CTx (pg/mL)	2154 $\pm$ 1131	733-5753

Tableau 10 : Données biologiques de la population hémodialysée

2.1. Bilan phosphocalcique et remodelage osseux

2.1.1. Bilan phosphocalcique

En raison des cibles sévères de la phosphatémie adoptées par les KDIGO (tendre vers des valeurs normales pour le stade d'IRC 5D), nous constatons que la majorité des patients présente une hyperphosphatémie (70,9 %). Ceci est à pondérer par le fait que la phosphatémie reste $<$ à 1,50 mmol/L dans la moitié des cas (52,7 %). Par ailleurs, 5,5 % des patients ont une hypophosphatémie avant dialyse. Les calcémies mesurées sont le plus souvent basses mais lorsque les valeurs sont corrigées en fonction de l'albuminémie, la calcémie devient « physiologique » dans 76,3 % des cas, reste basse dans 15,2 % des cas ; 8,5

% des patients ont une hypercalcémie. Les concentrations en 25 (OH) D sont majoritairement dans les normes conseillées (figure 14).

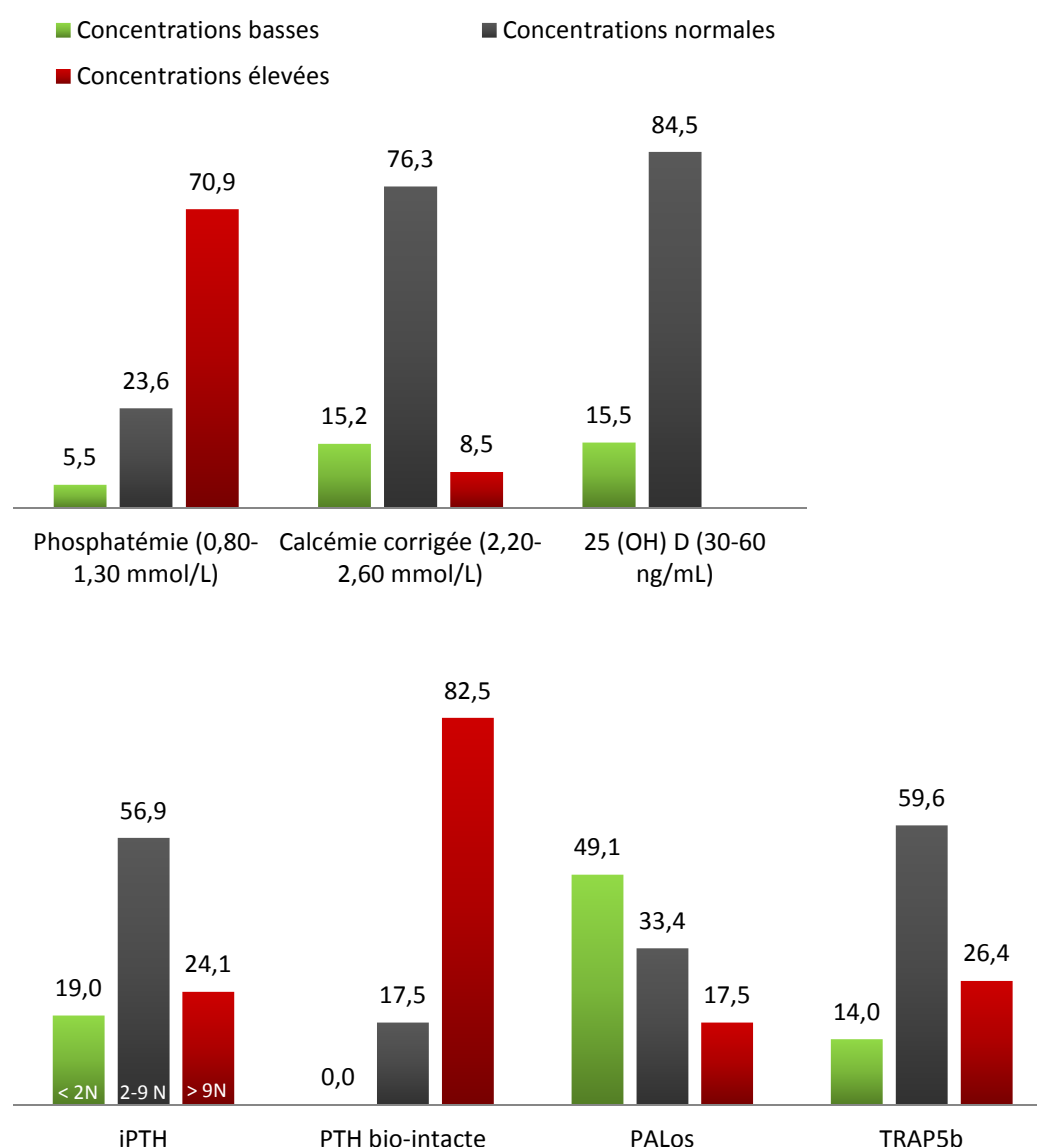


Figure 14 : Bilan phosphocalcique et marqueurs du remodelage osseux des patients hémodialysés

(en pourcentage) (< 2N : inférieures à 130 pg/mL; 2-9N : entre 130-500 pg/mL ; > 9N : supérieures à 500 pg/mL)

2.1.2. Régulateurs osseux et marqueurs d'ostéoformation et de résorption osseuse

Afin d'estimer le remodelage osseux, les patients sont classés en fonction de leurs concentrations sériques de iPTH conformément aux recommandations des KDIGO. 56,9 % des patients se situent dans les valeurs cibles (130-500 pg/mL), 19,0 % sont considérés comme ayant un remodelage faible et 24,1 % comme ayant un remodelage excessif (figure 14). Lorsque les valeurs des PALos sont prises en compte, 25,0 % des patients dont les

concentrations de iPTH sont dans les cibles basculent en remodelage osseux accéléré. Cette constatation souligne l'intérêt de l'introduction du dosage d'un marqueur de l'activité osseuse dans le bilan classique des patients dialysés.

Les concentrations de PTH bio-intacte sont plus basses que celles de la iPTH (en moyenne 2 fois inférieures). Chez les sujets hémodialysés, les valeurs cibles du dosage de la PTH bio-intacte ne devraient pas être très différentes de celles de la population générale car la trousse s'affranchit théoriquement des interférences des fragments de dégradation de la PTH. Nous avons donc appliqué les valeurs normales du fournisseur (4,6-58,1 pg/mL). Le classement des patients montre alors que 82,5 % d'entre eux ont des concentrations de PTH bio-intacte élevées. Aucun patient n'a de PTH bio-intacte basse (figure 14). L'estimation de la PTH non 1-84 représenterait en moyenne $48,1 \pm 10,7$ % du dosage de iPTH, avec de larges variations selon les patients (de 22,9 à 80,7 %).

Comme attendu dans une population de patients hémodialysés chroniques, les concentrations sériques des marqueurs à clairance rénale (ostéocalcine, P1NP et β -CTX) sont élevées par rapport aux valeurs de référence de la population générale. 17,5 % des patients ont des PALos élevées et 26,4 % des patients ont une augmentation de la TRAP5b (figure 14).

Les concentrations sériques d'OPG sont élevées pour tous les patients. Elles augmentent significativement avec l'âge ($r=0,4869$, $p=0,0001$) mais ne sont pas corrélées à l'ancienneté de l'hémodialyse dans notre étude. Les concentrations sériques de sRANKL sont variables. Elles ne sont pas plus élevées dans le groupe de patients sous corticoïdes.

2.1.3. *Corrélation entre marqueurs biologiques*

Il existe des corrélations inverses entre la calcémie et la iPTH d'une part ($r=-0,3609$, $p=0,0029$) et entre la calcémie et la PTH bio-intacte d'autre part ($r=-0,3836$, $p=0,0015$), cohérentes avec la physiopathologie de l'IRC.

Les trousses de dosage de iPTH et de PTH bio-intacte sont corrélées entre elles ($r=0,9417$, $R^2=0,8868$, $p<0,0001$) (figure 15). Cependant une dispersion importante est observée pour les valeurs hautes. La comparaison des deux techniques par la méthode de Bland-Altman (diagramme des différences) montre l'existence d'un biais proportionnel ($148,6 \pm 121,3$ pg/mL) (figure 16). Ce biais est probablement dû à la présence

des différents types de fragments de dégradation de la PTH, s'accumulant avec l'augmentation de la sécrétion de PTH et dosés seulement avec le kit de 2^e génération. Ceci confirme le fait que les trousse de dosage de PTH de 2^e et 3^e générations ne dosent pas les mêmes formes de la molécule et que les dosages ne sont pas équivalents.

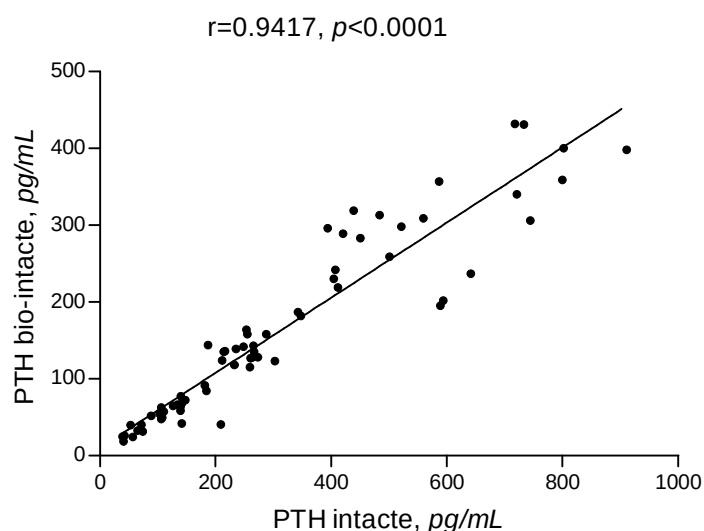


Figure 15 : Corrélation entre les trousse de dosages Intact PTH de Roche DiagnosticsTM et LIAISON® 1-84 PTH de DiaSorinTM

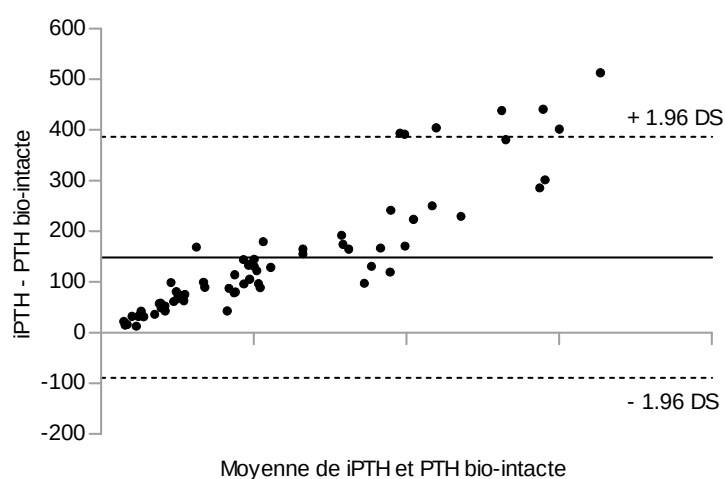


Figure 16 : Comparaison des trousse de dosage Intact PTH de Roche DiagnosticsTM et LIAISON® 1-84 PTH de DiaSorinTM selon la méthode de Bland-Altman

Le diagramme des différences met en évidence l'existence d'un biais proportionnel ($148,6 \pm 121,3$ pg/mL).

Les marqueurs de formation osseuse sont positivement corrélés entre eux. Il en est de même pour les marqueurs de résorption, ceci bien que certains aient des concentrations sériques plus élevées du fait de l'IRC (tableau 11). Pour la formation osseuse, l'ostéocalcine et le P1NP sont corrélés aux PALOS. Pour la résorption osseuse, les β -CTx sériques sont corrélés à la TRAP5b.

Paramètres	r	P
PALos-ostéocalcine	0,3137	0,005
PALos-P1NP	0,4381	0,0002
Ostéocalcine-P1NP	0,3871	0,001
TRAP5b-βCTx	0,5566	<0,0001

Tableau 11 : Cohérence des marqueurs de formation osseuse entre eux et de résorption osseuse entre eux

De la même façon, les marqueurs de formation osseuse sont positivement corrélés aux marqueurs de résorption, quelle que soit leur voie d'élimination (tableau 12).

	PALos	Ostéocalcine	P1NP
TRAP5b	$r=0,4279$; $p=0,0003$	$r=0,4746$; $p<0,0001$	$r=0,5075$; $p<0,0001$
β-CTx	$r=0,4587$; $p=0,0001$	$r=0,6086$; $p<0,0001$	$r=0,6186$; $p<0,0001$

Tableau 12 : Corrélation des marqueurs d'ostéoformation avec les marqueurs de résorption osseuse

Les concentrations sériques de iPTH, de PTH bio-intacte et de PTH non 1-84 sont corrélées positivement aux marqueurs osseux de formation et de résorption (tableau 13). Hormis la corrélation positive et significative entre OPG et TRAP5b ($r=0,3034$; $p=0,013$), ni OPG, ni sRANKL, ni le ratio sRANKL/OPG ne sont corrélés aux autres paramètres biologiques (tableau 13).

	PALos	Ostéocalcine	P1NP	TRAP5b	β-CTx
iPTH	$r=0,2483$, $p=0,044^*$	$r=0,6723$, $p<0,0001^*$	$r=0,2293$, $p=0,064$	$r=0,3107$, $p=0,011^*$	$r=0,4413$, $p=0,0002^*$
PTH bio-intacte	$r=0,2484$, $p=0,044^*$	$r=0,6550$, $p<0,0001^*$	$r=0,2107$, $p=0,089$	$r=0,3131$, $p=0,011^*$	$r=0,4323$, $p=0,0003^*$
PTH non 1-84	$r=0,2303$, $p=0,063$	$r=0,6212$, $p<0,0001^*$	$r=0,2375$, $p=0,055$	$r=0,2819$, $p=0,022^*$	$r=0,4255$, $p=0,0004^*$
OPG	NS	NS	NS	$r=0,3034$, $p=0,013^*$	NS
sRANKL			NS		
sRANKL/OPG			NS		

* p significatif ; NS : p non significatif

Tableau 13 : Corrélations entre régulateurs osseux et marqueurs d'ostéoformation et de résorption osseuse chez les patients hémodialysés

2.1.4. Estimation du remodelage osseux

Afin d'estimer le remodelage osseux, et notamment pour permettre de préciser le remodelage lorsque la iPTH se situe dans les cibles 2-9N, les patients ont été classés en combinant leurs concentrations moyennes annuelles de iPTH et de PALos. La normale supérieure des PALos est fixée à 25 µg/mL. L'utilisation d'une limite basse n'est pas recommandée par les experts ; toutefois, nous avons appliqué la limite basse de la trousse (fixée à 16µg/mL). Six à neuf groupes de patients peuvent ainsi être individualisés (figure 17).

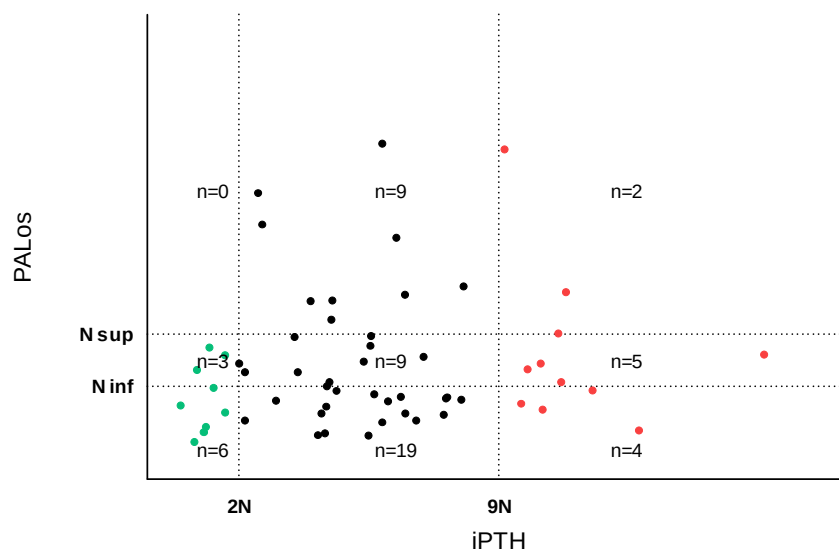


Figure 17 : Classement des patients hémodialysés en fonction de leurs concentrations moyennes annuelles de iPTH et de PALos

(nombre de patients dans chaque groupe)

Parmi les patients dont la iPTH est $< 2N$, les concentrations sériques de PALos sont concordantes (basses) ou normales.

Parmi les patients dans les cibles de iPTH, 9 patients ont des PALos élevées et peuvent être considérés comme ayant un remodelage accéléré (environ 25 %). A l'inverse, la moitié des patients a des PALos basses, suggérant la possibilité d'un remodelage faible. Le dosage de la PTH bio-intacte n'apporte aucune information supplémentaire : les patients dont les PALos sont élevées n'ont pas de concentrations de PTH bio-intacte significativement plus élevées que les patients dont les PALos sont basses ou normales.

Parmi les patients dont la iPTH est $> 9N$, seulement 2 patients ont également des concentrations sériques de PALos élevées alors que 9 patients ont paradoxalement des PALos normales ou basses. Les concentrations de PTH bio-intacte de ces patients sont également élevées, autant que celle des patients dont l'augmentation des PALos concorde avec la iPTH. Ils ne présentent ni des concentrations sériques d'OPG plus élevées, ni des concentrations sériques de sRANKL plus basses que les patients classés en remodelage accéléré. Leurs calcémies sont également identiques à celles des autres patients. Nous ne notons pas d'ancienneté supérieure de dialyse.

2.1.5. Équilibre entre résorption osseuse et ostéoformation

Les concentrations annuelles moyennes des marqueurs osseux indépendants de la fonction rénale (PALos et TRAP5b) sont utilisées pour estimer l'équilibre entre formation et résorption osseuse chez les patients hémodialysés (figure 18).

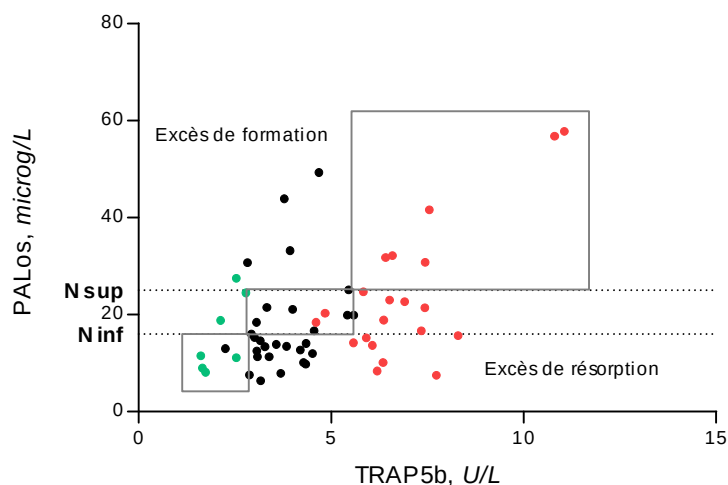


Figure 18 : Couplage entre formation osseuse et résorption osseuse chez les patients hémodialysés

Les valeurs de référence de TRAP5b variant selon l'âge et le sexe, les concentrations de TRAP5b sont interprétées pour chaque patient selon un code couleur : vert = basses ; noir = normales ; rouge = élevées. Dans les rectangles, les concentrations des marqueurs sont concordantes.

Seulement 29,8 % des patients présentent une concordance des deux marqueurs (marqueurs abaissés, normaux ou augmentés). 59,6 % des patients manifestent un déséquilibre des marqueurs en faveur de la résorption osseuse (augmentation de la TRAP5b et PALos normales ou basses ou TRAP5b normale et PALos basses). 10,6 % des patients présentent un déséquilibre des marqueurs en faveur de la formation osseuse (PALOS normales et TRAP5b diminuée ou PALOS élevées et TRAP5b normale ou basse). Au total, 36,8 % des patients ont des concentrations de TRAP5b élevées au cours de l'année, témoignant d'une résorption accélérée, et 50,9 % des patients ont des PALos plutôt basses au cours de l'année, témoignant d'un défaut de formation osseuse. Les effectifs des groupes de patients ainsi individualisés sont insuffisants pour comparer leurs ratios sRANKL/OPG. Seule la TRAP5b apparaît corrélée, positivement, à l'ancienneté de la dialyse ($r=0,3686$; $p=0,005$).

Alors que le diabète pourrait être impliqué dans la genèse de l'ostéopathie adynamique, aucune différence significative des marqueurs du remodelage osseux n'a été mise en évidence chez les patients de notre cohorte, en fonction de la présence ou non de diabète.

2.2. Inflammation et dénutrition

L'IMC et l'albuminémie sont deux indicateurs de l'état nutritionnel facilement accessibles. Nous constatons une prévalence variable de la dénutrition, de 30,5 à 55,9 % selon le marqueur utilisé.

30,5 % des patients (n=17) présentent un IMC inférieur à 23 kg/m² (inférieur aux recommandations européennes). 6,8 % des patients de notre cohorte ont un IMC < 18,5 kg/m² (dénutrition sévère).

L'albuminémie doit être interprétée en fonction de la CRP concomitante (seuil à 15 mg/L, selon les Recommandations pour l'évaluation de la dénutrition protéino-énergétique des adultes hospitalisés, Haute Autorité de Santé, 2003). La figure 19 représente le « couple albumine-CRP » pour chaque patient de l'étude.

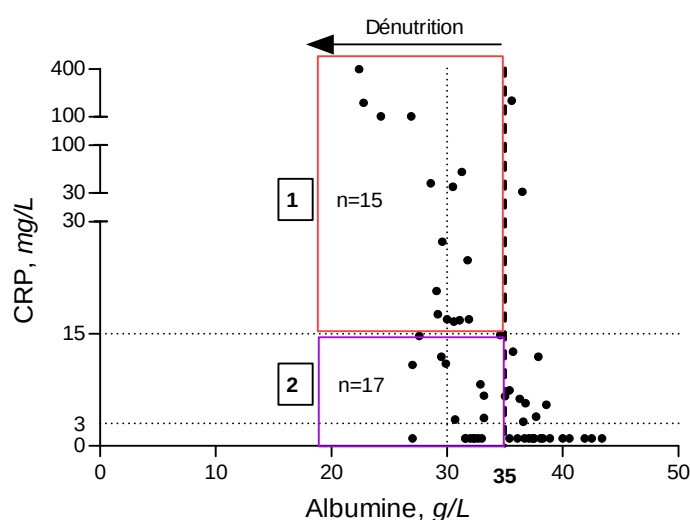


Figure 19 : Albuminémie et dénutrition chez les patients hémodialysés

Groupe 1 : dénutrition endogène ou mixte ; Groupe 2 : dénutrition exogène

(nombre de patients dans chaque groupe)

Nous observons que 55,9 % des patients présentent une hypoalbuminémie : 32,2 % une hypoalbuminémie modérée (entre 30-35 g/L) et 23,7 % une hypoalbuminémie significative (< 30 g/L). L'interprétation de l'hypoalbuminémie en fonction du profil inflammatoire permet de distinguer les patients souffrant de dénutrition exogène (groupe 2 : 29,3 %) des patients atteints de dénutrition endogène ou mixte (groupe 1 : 25,9 %).

Il existe une corrélation négative et significative entre l'albumine et la CRP ($r = -0,4990$; $p < 0,0001$) puisque la synthèse de l'albumine est affectée par l'inflammation.

3. Ostéodensitométrie

Les résultats de l'ostéodensitométrie par site anatomique étudié sont illustrés dans la figure 20. Les valeurs moyennes des *T*-scores correspondants, ainsi que les valeurs moyennes des *T*-scores les plus bas (pour les sites rachis/hanche et rachis/hanche/poignet), sont retranscrites dans le tableau 14.

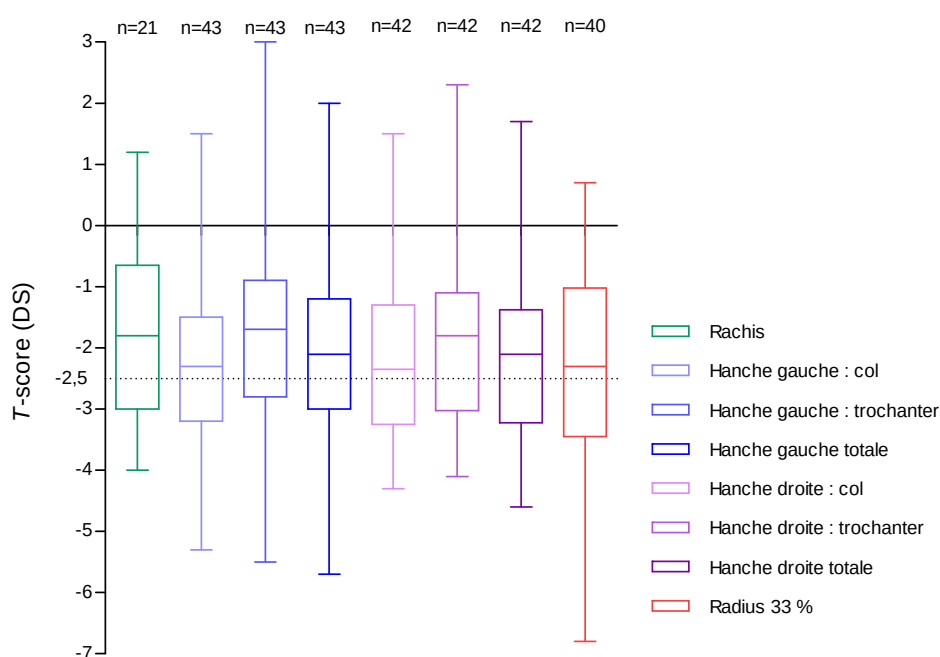


Figure 20 : Ostéodensitométrie osseuse (*T*-score) par site anatomique

(la représentation graphique indique la moyenne, l'écart-type et l'intervalle ; n=nombre de patients)

Site anatomique	Moyenne $\pm$ écart-type (DS)	Intervalle (DS)
Rachis	$-1,7 \pm 1,5$	$-4,0 ; +1,2$
Hanche gauche : col	$-2,3 \pm 1,4$	$-5,3 ; +1,5$
Hanche gauche : trochanter	$-1,7 \pm 1,6$	$-5,5 ; +3,0$
Hanche gauche totale	$-2,0 \pm 1,6$	$-5,7 ; +2,0$
Hanche droite : col	$-2,2 \pm 1,4$	$-4,3 ; +1,5$
Hanche droite : trochanter	$-1,8 \pm 1,5$	$-4,1 ; +2,3$
Hanche droite totale	$-2,1 \pm 1,5$	$-4,6 ; +1,7$
Radius 33 %	$-2,3 \pm 1,6$	$-6,8 ; +0,7$
R/H : T-score minimal	$-2,6 \pm 1,4$	$-5,7 ; +1,2$
R/H/P : T-score minimal	$-2,9 \pm 1,5$	$-6,8 ; +1,2$

R/H : rachis/hanche ; R/H/P : rachis/hanche/poignet

Tableau 14 : T-scores par site anatomique et T-scores minimaux rachis/hanche et rachis/hanche/poignet des patients dialysés

La majorité des patients hémodialysés présente une DMO basse quel que soit le site anatomique étudié(y compris le rachis), reflétant la fragilité osseuse de ces patients.

Les DMO sont significativement plus basses chez les femmes que chez les hommes, avec un T-score minimal rachis/hanche/poignet respectif de $-3,4 \pm 1,3$ DS contre $-2,2 \pm 1,6$ DS ($p=0,0256$). Nous constatons que toutes les femmes ont au moins une DMO basse au niveau des sites étudiés(figure 21).

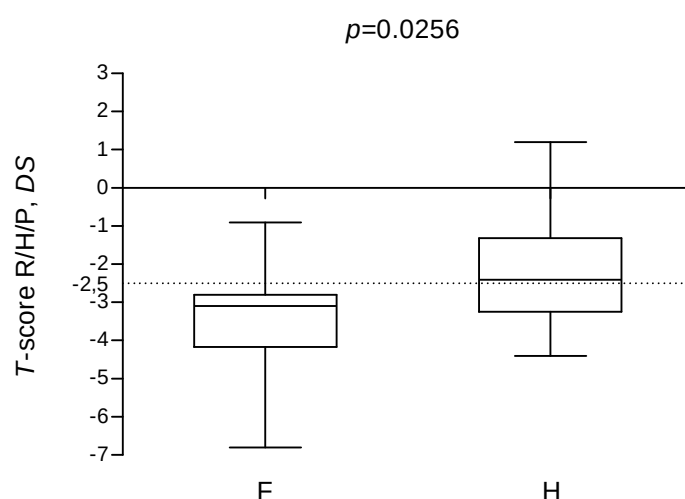


Figure 21 : T-score minimal rachis/hanche/poignet selon le sexe

(F :femmes, H : hommes)

Le T-score minimal R/H/P est inversement corrélé à la durée de la dialyse ($r=-0,3917$; $p=0,007$), aux concentrations sériques de sRANKL ($r=-0,3386$; $p=0,023$) et au ratio sRANKL/OPG ($r=-0,3057$; $p=0,041$). Il n'apparaît ni corrélé aux concentrations sériques de iPTH ni à celles de la PTH bio-intacte.

La prévalence de l'« ostéoporose » (T-score < - 2,5 DS) est de 49,2 %. Les patients « ostéoporotiques » ont des concentrations sériques de sRANKL plus élevées que les patients « non-ostéoporotiques », bien que la différence ne soit pas significative (figure 22). Les concentrations moyennes de sRANKL et le ratio sRANKL/OPG des groupes « ostéoporotique » et « non-ostéoporotique » sont présentés dans le tableau 15.

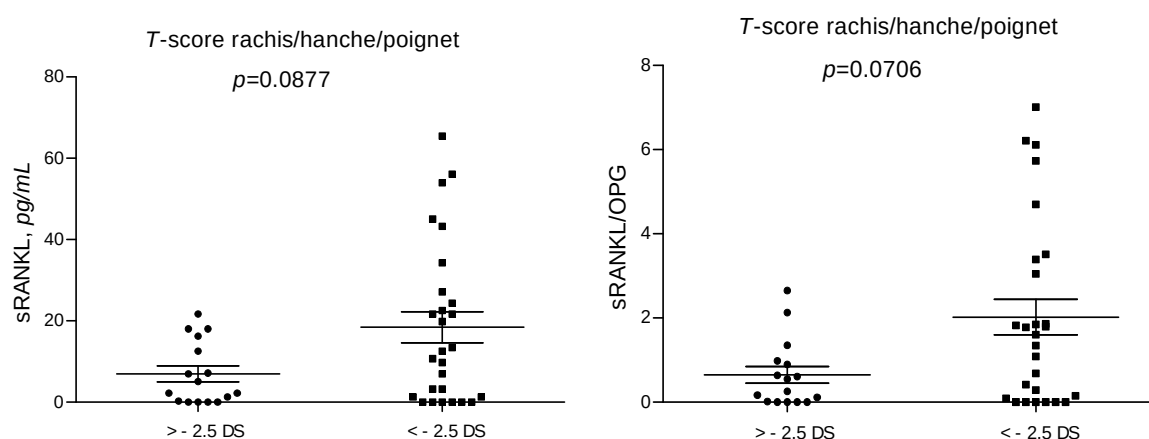


Figure 22 : Comparaison des patients « ostéoporotiques » et « non-ostéoporotiques » selon la concentration de sRANKL et le ratio sRANKL/OPG

(moyenne et écarts-types)

	T-score R/H/P > - 2,5 DS	T-score R/H/P < - 2,5 DS	P
sRANKL (pg/mL)	6,99 ± 7,74	18,44 ± 19,64	0,0877
sRANKL/OPG	0,65 ± 0,80	2,02 ± 2,20	0,0706

Tableau 15 : Comparaison des patients « ostéoporotiques » et « non-ostéoporotiques »

Les concentrations sériques de sRANKL pourraient refléter un état de fragilité osseuse importante chez les hémodialysés.

4. Fractures

Les radiographies du rachis dorso-lombaire révèlent une prévalence de fractures vertébrales de 32,1 % (n=18).

L'analyse des dossiers cliniques a permis d'identifier 14 patients avec un antécédent de fracture de fragilité.

Au total, 45,8 % des patients hémodialysés ont présenté ou présentent une fracture de fragilité vertébrale ou périphérique.

5. Calcifications vasculaires

La prévalence des calcifications aortiques est de 86,5 % (n=45) (figure 23). Le score de Kauppila moyen est de 9 ± 7 (0 à 24) et la médiane du score, à 8, nous a permis d'individualiser deux groupes (calcifications peu sévères : score de Kauppila ≤ 8 ; calcifications sévères : score de Kauppila > 8).

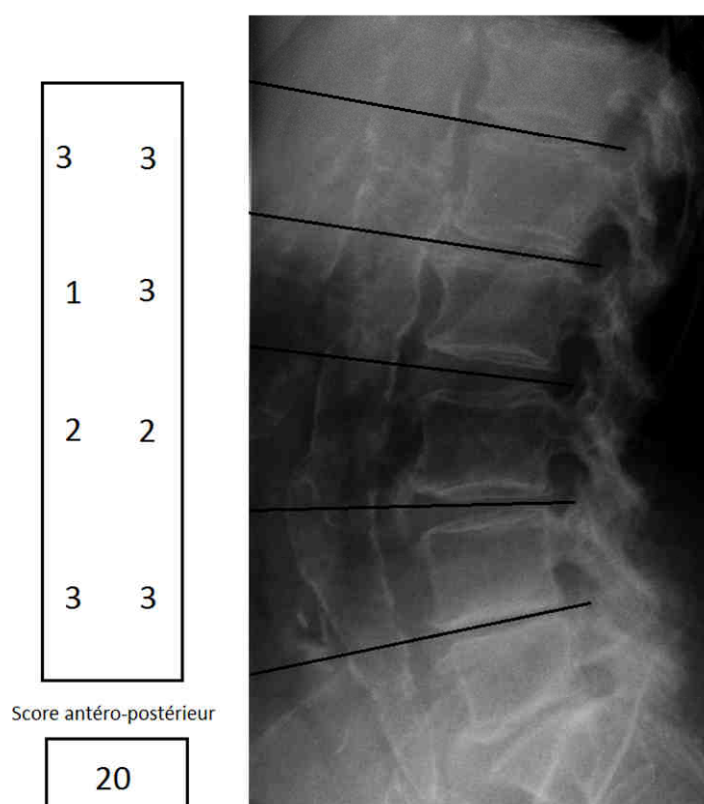


Figure 23 : Exemple de calcifications aortiques sévères et schématisation du système de score antéro-postérieur de Kauppila

II. Étude transversale : associations entre marqueurs clinico-biologiques et risque fracturaire ou sévérité des calcifications vasculaires

1. Fractures de fragilité

1.1. Fractures tous types confondus

Les caractéristiques clinico-biologiques des patients avec fractures de fragilité et des patients sans fracture de fragilité sont résumées dans le tableau 16. Seules les *p*-values significatives ou proches du seuil de significativité sont reportées.

Variable	0 Fracture n=32	Fracture + n=27	P
Age (années)	66 ± 15	75 ± 12	0,013
Ratio homme/femme	17/15	9/18	
IMC (kg/m ²)	27,6 ± 5,0	25,6 ± 6,6	
Ancienneté de dialyse (mois)	61 ± 79	67 ± 77	
Diabète	50,0 % (n=16)	40,7 % (n=11)	
Antécédent de parathyroïdectomie	3,1 % (n=1)	11,1 % (n=3)	
Antécédent de greffe rénale	18,8 % (n=6)	33,3 % (n=8)	
Phosphatémie (mmol/L)	1,37 ± 0,39	1,65 ± 0,39	0,007
Calcémie (mmol/L)	2,32 ± 0,17	2,37 ± 0,17	
Albuminémie (g/L)	34,5 ± 4,3	32,2 ± 5,1	0,059
iPTH (pg/mL)	393,1 ± 252,8	262,7 ± 166,0	0,071
PTH bio-intacte (pg/mL)	206,8 ± 131,6	134,6 ± 87,5	0,066
25 (OH) D (ng/mL)	35,7 ± 7,3	37,8 ± 8,8	
OPG (pmol/mL)	10,35 ± 4,71	12,58 ± 5,74	
sRANKL (pg/mL)	47,90 ± 200,30	19,26 ± 22,88	
sRANKL/OPG	3,54 ± 12,57	1,97 ± 2,26	
Marqueurs de formation osseuse			
❖ PAlOs (µg/L)	20,7 ± 15,0	16,4 ± 7,9	
❖ Ostéocalcine (ng/mL)	185,9 ± 96,5	157,6 ± 85,5	
❖ P1NP (µg/L)	353,3 ± 282,4	372,8 ± 293,4	
Marqueurs de résorption osseuse			
❖ TRAP5b (U/L)	4,53 ± 3,01	4,92 ± 2,35	
❖ β-CTx (pg/mL)	2327 ± 1319	1947 ± 834	
T-score R/H (DS)	-2,2 ± 1,1	-3,1 ± 1,6	0,0027
T-score R/H/P (DS)	-2,6 ± 1,4	-3,3 ± 1,6	0,0050
Présence d'un T-score < -2,5 DS R/H	40,0 % (n=10/25)	85,0 % (n=17/20)	0,0027
Présence d'un T-score < -2,5 DS R/H/P	52,0 % (n=13/25)	80,0 % (n=16/20)	0,066
Score de Kauppila	7 ± 7	10 ± 7	0.088

R/H : rachis/hanche ; R/H/P : rachis/hanche/poignet

Tableau 16 : Comparaison des paramètres épidémiologiques, cliniques, densitométriques et biologiques des patients avec et sans fracture

(0 Fracture : sans fracture ; Fracture + : avec fracture)

Caractéristiques clinico-épidémiologiques

Les patients avec fractures de fragilité sont plus âgés que les patients indemnes de fracture (75 vs 66 ans) ($p=0,013$). L'IMC, la présence de diabète, l'ancienneté de la dialyse, les antécédents de greffe rénale et de parathyroïdectomie ne diffèrent pas entre les deux groupes.

Caractéristiques biologiques

Les patients du groupe « Fracture + » présentent une hyperphosphatémie plus marquée que les patients sans fracture (1,65 vs 1,37 mmol/L) ($p=0,007$). Leurs concentrations sériques de iPTH et de PTH bio-intacte tendent à être plus basses que celles des patients sans fracture (pour la iPTH : 262,7 vs 393,1 pg/mL, p NS ; pour la PTH bio-intacte : 134,6 vs 206,8 pg/mL, p NS). Il semble exister une tendance aux fractures plus importante dans le groupe de patients en remodelage osseux faible, car les concentrations sériques des marqueurs de formation et de résorption osseuses sont également plus basses dans le groupe « Fractures + », bien qu'aucune différence n'atteigne le seuil de signification statistique. Il faut également souligner que les concentrations moyennes de iPTH des deux groupes de patients se situent dans les cibles 2-9N des KDIGO. Le classement des patients sous-groupes en fonction de leurs concentrations de iPTH (< 2N, 2-9N, > 9N), de PAlOs (basses, normales, élevées) ou de TRAP5b (basses, normales, élevées) ne permet pas de mettre en évidence un risque fracturaire plus élevé entre les sous-groupes. L'albuminémie tend à être plus basse chez les patients du groupe « Fractures + » (32,2 vs 34,5 g/L) ($p=0,059$).

Ostéodensitométrie

Le T-score moyen le plus bas du groupe « Fractures + » est significativement plus bas que celui du groupe sans fracture au niveau des sites rachis/hanche, -3,1 DS vs -2,2 DS respectivement ($p=0,0027$), et au niveau des sites rachis/hanche/poignet, -3,3 DS vs -2,6 DS respectivement ($p=0,005$). Il existe cependant de larges variations au sein de chaque groupe (figure 24).

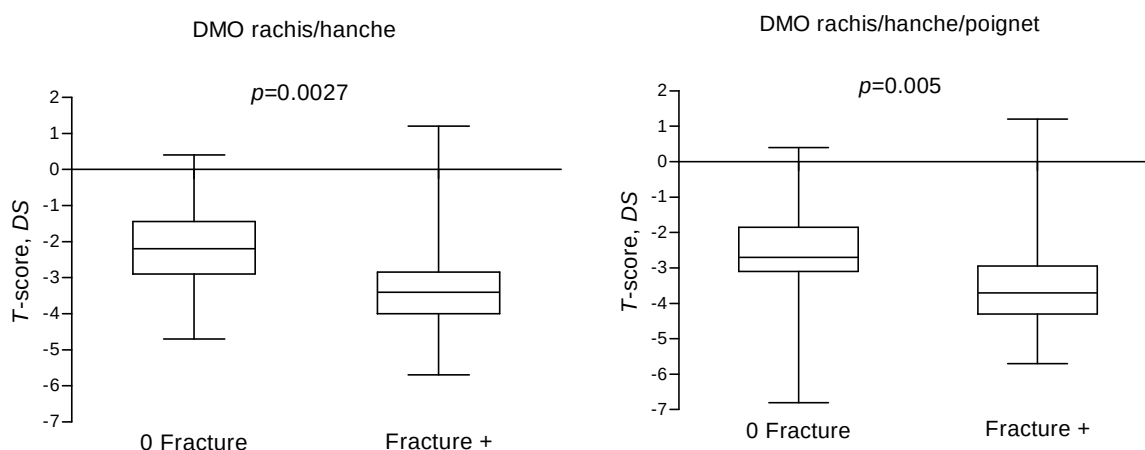


Figure 24 : Différences des DMO rachis/hanche et rachis/hanche/poignet entre le groupe de patients « Fracture + » et le groupe sans fracture (0 Fracture)

(moyenne, écart-type et intervalle)

La présence d'un $T\text{-score} < -2,5$ DS au niveau des sites rachis/hanche est significativement associée à la présence de fracture (odds ratio=8,50, intervalle de confiance à 95 % [1,96-36,80], $p=0,0027$) (figure 25). Par contre, l'association entre la présence d'un $T\text{-score} < -2,5$ DS au niveau des sites rachis/hanche/poignet et la fracture est moins franche (p NS) (non représenté). Ces résultats laissent supposer qu'un $T\text{-score} > -2,5$ DS pourrait constituer un facteur protecteur du risque fracturaire, chez les patients hémodialysés.

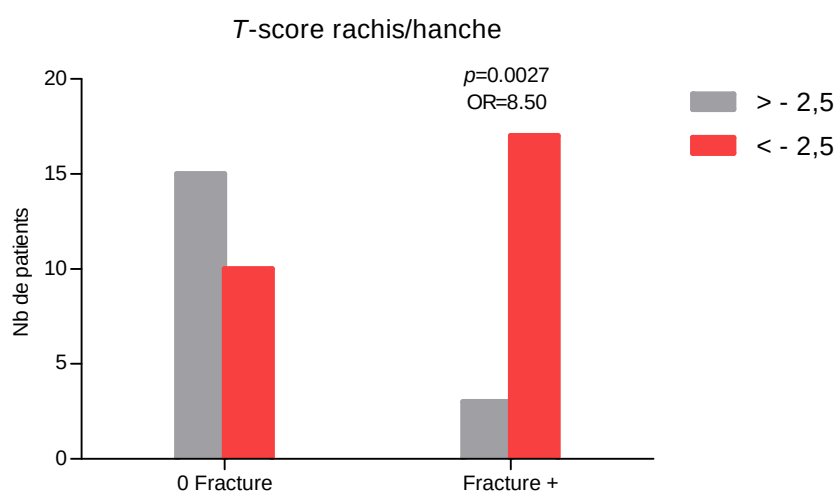


Figure 25 : $T\text{-score}$ minimal rachis/hanche et présence de fracture

(exprimé en DS)

Calcifications vasculaires

La présence de fracture semble être associée à une sévérité plus importante des calcifications aortiques : le score de Kauppila tend à être plus élevé dans le groupe de patients « Fracture + » que dans le groupe de patients sans fracture (10 vs 7, $p=NS$). Les valeurs extrêmes du score de Kauppila sont toutefois retrouvées dans les deux groupes.

1.2. Fractures vertébrales

Les caractéristiques clinico-biologiques des patients avec fractures vertébrales (TV) et des patients sans TV sont résumées dans le tableau 17.

Variable	Absence de TV n=38	TV n=18	P
Age (années)	67 ± 16	77 ± 8	0,027
Ratio homme/femme	18/20	6/11	
IMC (kg/m ²)	27,6 ± 5,7	25,0 ± 5,9	
Ancienneté de dialyse (mois)	68 ± 90	57 ± 51	
Diabète	57,9 % (n=22)	22,2 % (n=4)	0,021
Antécédent de parathyroïdectomie	5,3 % (n=2)	11,1 % (n=2)	
Antécédent de greffe rénale	18,4 % (n=7)	33,3 % (n=6)	
Phosphatémie (mmol/L)	1,48 ± 0,42	1,61 ± 0,39	
Calcémie (mmol/L)	2,31 ± 0,16	2,40 ± 0,17	0,079
Albuminémie (g/L)	34,6 ± 4,4	31,8 ± 5,0	0,059
Albuminémie < 35 g/L	42,1 % (n=16)	72,2 % (n=13)	0,047
iPTH (pg/mL)	380,6 ± 242,0	267,6 ± 169,9	
PTH bio-intacte (pg/mL)	195,5 ± 125,1	142,7 ± 98,9	
25 (OH) D (ng/mL)	36,2 ± 7,2	38,2 ± 10,0	
OPG (pmol/mL)	11,38 ± 5,34	11,45 ± 5,67	
sRANKL (pg/mL)	46,41 ± 183,30	14,84 ± 16,38	
sRANKL/OPG	3,46 ± 11,51	1,84 ± 2,23	
Marqueurs de formation osseuse			
❖ PAlOs (µg/L)	20,4 ± 13,7	17,0 ± 8,9	
❖ Ostéocalcine (ng/mL)	182,2 ± 93,1	168,1 ± 91,1	
❖ P1NP (µg/L)	391,1 ± 306,0	298,9 ± 250,4	
Marqueurs de résorption osseuse			
❖ TRAP5b (U/L)	4,73 ± 2,92	4,55 ± 1,94	
❖ β-CTx (pg/mL)	2327 ± 1208	1834 ± 967	0,047
T-score R/H (DS)	-2,7 ± 1,2	-2,6 ± 1,8	
T-score R/H/P (DS)	-3,0 ± 1,4	-2,9 ± 1,9	
Présence d'un T-score < -2.5 DS R/H/P	58,1 % (n=18/31)	83,3 % (n=10/12)	
Score de Kauppila	8 ± 7	10 ± 7	

R/H : rachis/hanche ; R/H/P : rachis/hanche/poignet

Tableau 17 : Comparaison des paramètres épidémiologiques, cliniques, densitométriques et biologiques des patients avec et sans fracture vertébrale (TV)

Caractéristiques clinico-épidémiologiques

Les patients avec TV sont plus âgés que les patients indemnes de TV (77 vs 67 ans, $p=0,027$). L'IMC, l'ancienneté de la dialyse, les antécédents de greffe rénale et de parathyroïdectomie ne sont pas significativement différents entre les deux groupes. Il y a en revanche plus de patients diabétiques parmi les patients sans TV. Le diabète apparaît donc paradoxalement comme un facteur protecteur des TV (OR=0,21, intervalle de confiance à 95 % [0,43-0,92], $p=0,021$).

Caractéristiques biologiques

Les concentrations d'albumine sérique > 35 g/L apparaissent comme facteur protecteur des TV (OR=0,28, intervalle de confiance à 95 % [0,08-0,94], $p=0,047$), confirmant l'association connue entre la dénutrition et le risque fracturaire.

Les patients du groupe « TV + » ont des concentrations de β -CTx significativement plus basses que les patients sans TV (1834 vs 2327, $p=0,047$), ce qui pourrait être en faveur d'une survenue plus importante de fractures chez les patients avec un niveau de remodelage plus faible. Les concentrations de iPTH sont effectivement plus basses dans le groupe de patients « TV + ». Toutefois, ni les concentrations de iPTH, ni celles de PTH bio-intactene sont significativement différentes entre les deux groupes. Les concentrations sériques moyennes de iPTH se situent là encore dans les cibles 2-9N des KDIGO. La prévalence des TV est également comparable entre les groupes de patients classés selon leur iPTH ($< 2N$, 2-9N et $> 9N$). La calcémie est plus élevée dans le groupe de patients « TV + », bien que les concentrations restent dans les valeurs normales.

Ostéodensitométrie

Les T -scores R/H et R/H/P sont comparables entre les deux groupes de patients. La présence d'un T -score R/H ou R/H/P $< -2,5$ DS n'est pas associée à la présence de fractures vertébrales. La comparaison des deux groupes en fonction de leur T -score au niveau du rachis seul n'est pas possible en raison du faible nombre de DMO rachidiennes.

Calcifications vasculaires

Il n'existe pas de différence significative entre les deux groupes de patients en fonction de la sévérité de leurs calcifications aortiques.

Traitements

Environ la moitié des patients sous corticoïdes ou aux antécédents de corticothérapie prolongée ont des fractures, vertébrales ou périphériques, mais la proportion de fractures est quasi-semblable dans le groupe sans corticothérapie.

2. Calcifications vasculaires

Les caractéristiques clinico-biologiques des patients selon la sévérité de leur CV sont résumées dans le tableau 18.

Variable	Score de Kauppila	Score de Kauppila	P
	≤ 8	> 8	
	n=27	n=25	
Age (années)	63 ± 16	77 ± 10	0,001
Ratio homme/femme	10/17	11/14	
IMC (kg/m ²)	27,7 ± 6,8	25,5 ± 4,9	
Ancienneté de dialyse (mois)	75 ± 91	61 ± 70	
HTA	96,3 % (n=26)	72,0 % (n=18)	0,022
Tabac	3,7 % (n=1)	4,0 % (n=1)	
Dyslipidémie	18,5 % (n=5)	24,0 % (n=6)	
Diabète	44,4 % (n=12)	48,0 % (n=12)	
Antécédent de cardiopathie ischémique	11,1 % (n=3)	28,0 % (n=7)	
Antécédent de parathyroïdectomie	7,4 % (n=2)	8,0 % (n=2)	
Phosphatémie (mmol/L)	1,54 ± 0,45	1,49 ± 0,40	
Calcémie (mmol/L)	2,29 ± 0,14	2,39 ± 0,19	0,033
Albuminémie (g/L)	34,7 ± 3,9	32,8 ± 4,8	
CRP (mg/L)	19,3 ± 42,5	32,1 ± 80,8	0,089
iPTH (pg/mL)	345,3 ± 238,9	354,5 ± 229,1	
PTH bio-intacte (pg/mL)	174,4 ± 126,3	182,6 ± 115,5	
25 (OH) D (ng/mL)	35,6 ± 8,1	37,8 ± 8,2	
OPG (pmol/L)	10,32 ± 5,03	12,91 ± 1,21	0,044
sRANKL (pg/mL)	55,38 ± 214,10	20,01 ± 25,29	
sRANKL/OPG	4,17 ± 13,40	1,91 ± 2,35	
Marqueurs de formation osseuse			
❖ PALos (µg/L)	19,4 ± 13,6	19,0 ± 11,3	
❖ Ostéocalcine (ng/mL)	196,9 ± 88,8	159,6 ± 91,7	
❖ P1NP (µ/L)	376,5 ± 315,2	344,7 ± 263,1	
Marqueurs de résorption osseuse			
❖ TRAP5b (U/L)	4,6 ± 3,1	4,9 ± 2,3	
❖ β-CTx (ng/mL)	2353 ± 1332	2045 ± 988	
T-score R/H (DS)	-2,8 ± 1,3	-2,5 ± 1,6	
T-score R/H/P (DS)	-3,1 ± 1,3	-2,9 ± 1,8	
Présence d'un T-score < -2.5 DS R/H/P	69,6 % (n=16/23)	66,7 % (n=12/18)	

R/H : rachis/hanche ; R/H/P : rachis/hanche/poignet

Tableau 18 : Comparaison des paramètres épidémiologiques, cliniques, densitométriques et biologiques des patients selon la sévérité des CV

Caractéristiques clinico-épidémiologiques

Nous retrouvons une corrélation positive entre l'âge et le score de Kauppila ($p < 0,0001$) (tableau 19). Effectivement, le groupe de patients dont les calcifications aortiques sont jugées sévères est significativement plus âgé que le groupe de patients sans calcifications aortiques ou avec calcifications aortiques faibles (77 vs 63 ans, $p = 0,001$). La prévalence de l'HTA est élevée dans les deux groupes. Elle est paradoxalement associée à un score de Kauppila plus faible. Les facteurs de risque cardio-vasculaire, l'IMC et l'ancienneté de dialyse sont comparables entre les deux groupes.

Caractéristiques biologiques

La calcémie et les concentrations d'OPG sont positivement corrélées au score de Kauppila ($p = 0,032$ et $p = 0,004$ respectivement) (tableau 19). Après séparation des patients selon la sévérité des calcifications aortiques, la calcémie moyenne est plus élevée chez les patients avec CV sévères bien qu'elle se situe dans les normes du laboratoire pour les deux groupes (2,39 vs 2,29 mmol/L, $p = 0,033$). Les concentrations d'OPG sont significativement plus élevées chez les patients aux CV sévères par rapport aux patients sans CV ou avec CV faibles, (12,91 vs 10,32 pmol/L, $p = 0,044$). La CRP tend à être plus élevée dans le groupe aux CV sévères (32,1 vs 19,3 mg/L, p NS). La phosphatémie et les marqueurs osseux n'apparaissent pas significativement différents entre les deux groupes.

Ostéodensitométrie

Les T-scores minimaux sont comparables entre les deux groupes. La présence d'un T-score $< -2,5$ DS n'est pas associée à la sévérité des calcifications aortiques dans notre étude.

Corrélation au score de Kauppila	r=	P
Age	0,5983	<0,0001
Calcémie	0,3012	0,032
OPG	0,4080	0,004

Tableau 19 : Corrélation entre le score de Kauppila et les paramètres clinico-biologiques

Traitements

Les patients traités par calcimimétiques ont un score de Kauppila significativement plus faible que les patients sans calcimimétiques (6 vs 10, $p=0,0334$) (figure 26).

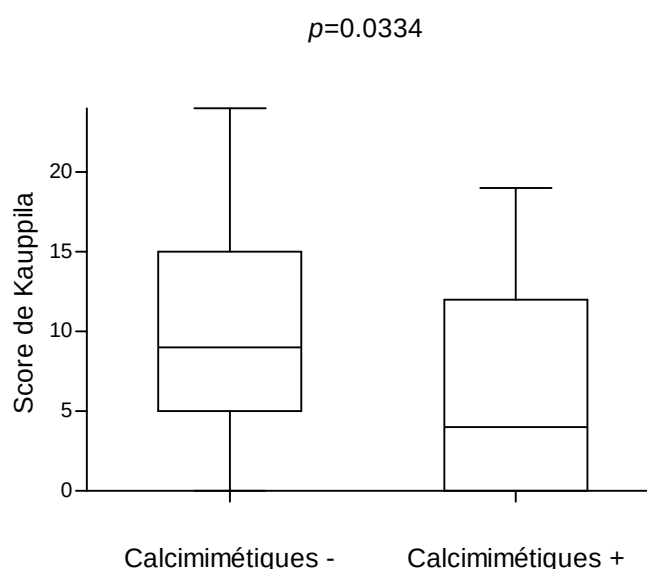


Figure 26 : Sévérité des calcifications aortiques des patients non traités (calcimimétiques -) et des patients traités (calcimimétiques +) par calcimimétiques

Le bilan de cette analyse transversale met en évidence une tendance à un remodelage plus faible chez les patients aux antécédents fracturaires, ou présentant des fractures, par rapport aux patients sans fracture. Notre étude soulève également l'intérêt éventuel de la DMO mesurée par absorptiométrie puisque la présence d'un T -score $> -2,5$ DS semble refléter une fragilité osseuse moindre. L'étude de la sévérité des calcifications aortiques retrouve une association aux paramètres déjà décrits dans d'autres études transversales (âge, OPG et calcémie).

Dans ce cadre, une étude prospective est nécessaire afin approfondir la relation entre les perturbations clinico-biologiques et les complications fracturaires ou vasculaires, ainsi que la mortalité.

III. Étude prospective : rôle prédictif des marqueurs clinico-biologiques pour la survenue de fractures, d'événements cardiovasculaires et pour la mortalité globale

1. Survenue de fractures

1.1. Incidence des fractures

Sept patients ont présenté de nouvelles fractures de fragilité post-traumatiques ou spontanées au cours des 16 mois de suivi, soit une incidence cumulée annuelle de 8,9 %. La topographie des fractures est la suivante : rachis (n=2), bassin (n=2), hanche (n=1), costales (n=1), poignet (n=1), humérus (n=1).

1.2. Rôle prédictif des marqueurs clinico-biologiques

1.2.1. Analyses bivariées

Les principales caractéristiques clinico-biologiques des patients ayant fait une fracture au cours du suivi sont résumées dans le tableau 20.

Variable	0 Fracture n=41	Fracture + n=7	P
Age (années)	67 ± 14	75 ± 15	
Ratio homme/femme	19/22	0/7	
IMC (kg/m ²)	27,8 ± 5,8	23,1 ± 6,5	0,073
Ancienneté de dialyse (mois)	63 ± 86	92 ± 64	
Diabète	53,7 % (n=22)	14,3 % (n=1)	0,085
Antécédent de parathyroïdectomie	7,3 % (n=3)	0	
Antécédent de greffe rénale	24,4 % (n=10)	28,6 % (n=2)	
Antécédent de fracture	22,0 (n=9)	43,0 % (n=3)	
Phosphatémie (mmol/L)	1,48 ± 0,37	1,57 ± 0,61	
Calcémie (mmol/L)	2,30 ± 0,15	2,38 ± 0,22	
Albuminémie (g/L)	34,8 ± 4,1	32,6 ± 3,7	
Albuminémie < 35 g/L	43,9 % (n=18)	71,4 % (n=5)	0,194
iPTH (pg/mL)	322,8 ± 212,1	563,6 ± 260,4	0,036
PTH bio-intacte (pg/mL)	168,3 ± 113,0	268,6 ± 136,7	0,054
25 (OH) D (ng/mL)	34,7 ± 7,2	43,4 ± 6,6	0,013
OPG (pmol/L)	10,75 ± 5,03	13,31 ± 7,37	
sRANKL (pg/mL)	44,01 ± 176,30	14,65 ± 24,06	
SRANKL/OPG	3,48 ± 11,09	1,34 ± 2,08	
Marqueurs de formation osseuse			
❖ PALos (µg/L)	16,9 ± 11,4	26,7 ± 17,7	0,084
❖ Ostéocalcine (ng/mL)	176,7 ± 93,2	218,0 ± 79,3	
❖ P1NP (µg/L)	348,9 ± 277,9	452,0 ± 365,9	
Marqueurs de résorption osseuse			
❖ TRAP5b (U/L)	4,48 ± 2,53	6,48 ± 4,11	
❖ β-CTX (pg/mL)	2099 ± 1101	2957 ± 1391	0,089
T-score R/H (DS)	-2,6 ± 1,5	-2,5 ± 1,2	
T-score R/H/P (DS)	-2,9 ± 1,6	-3,0 ± 1,6	
Présence d'un T-score < -2,5 DS R/H	59,5 % (n=22/38)	50,0 % (n=2/4)	
Présence d'un T-score < -2,5 DS R/H/P	65,0 % (n=24/38)	75,0 % (n=3/4)	
Score de Kaupila	7 ± 6	10 ± 9	

R/H : rachis/hanche ; R/H/P : rachis/hanche/poignet

Tableau 20 : Comparaison des paramètres épidémiologiques, cliniques, densitométriques et biologiques des patients fracturés et non fracturés

Caractéristiques clinico-épidémiologiques

Les patients ayant eu une fracture de fragilité au cours de l'année ont un IMC plus bas que les patients indemnes de fractures (23,1 vs 27,8 kg/m², $p=0,073$).

Caractéristiques biologiques

Plusieurs observations peuvent être faites :

- ❖ Les patients « fracturés » ont des concentrations sériques de iPTH significativement plus élevées que les patients sans fracture (563,6 vs 322,8 pg/mL, $p=0,036$). Ces concentrations sont supérieures à la cible supérieure (9N) choisie pour notre technique pour la population dialysée. De façon concordante, les patients fracturés présentent également des concentrations sériques de PTH bio-intacte plus élevées (268,6 vs 168,3 pg/mL, $p=0,054$).
- ❖ Parmi les marqueurs de formation et de résorption osseuses, les concentrations des PALos et des β -CTX sont proches du seuil de significativité ; elles sont plus élevées chez les patients « fracturés » par rapport aux patients non « fracturés » (PALos : 26,7 vs 16,9 $\mu\text{g/L}$, $p=0,084$; β -CTX : 2957 vs 2099, $p\text{NS}$), ce qui est concordant avec l'augmentation des concentrations de PTH. Les concentrations de PALos des patients fracturés sont supérieures à la valeur normale haute de la technique utilisée.

Il apparaît donc que la fragilité osseuse est plus marquée chez les patients en hyper-remodelage osseux.

Les concentrations de 25 (OH) D sont également supérieures chez les patients avec fractures, bien que les patients indemnes de fractures ne soient pas carencés.

Ostéodensitométrie

Dans la partie prospective de l'étude, nous ne confirmons pas l'association entre la DMO et le risque fracturaire, suggéré lors de l'analyse statique. Cependant, les données manquantes limitent l'interprétation de ce paramètre.

Calcifications vasculaires

Nous n'avons pas mis en évidence d'association entre la sévérité des calcifications aortiques et le risque fracturaire.

1.2.1. Analyses multivariées

Dans le modèle de régression logistique, les concentrations élevées des PALos et de 25 (OH) D sont les facteurs prédictifs les plus forts de la survenue de nouvelles fractures (tableau 21) tandis que la iPTH perd son association. L'hypoalbuminémie modérée ou significative est également associée au risque fracturaire.

Variable	Odds ratio	Intervalle de confiance	P
		95 %	
25 (OH) D	1,22	1,04-1,45	0,018
PALos	1,14	1,01-1,29	0,030
Albuminémie < 35 g/L	31,32	0,97-1008,84	0,050

Tableau 21 : Modèle de régression logistique pour la survenue de fractures à 1an

2. Survenue d'événements cardio-vasculaires

2.1. Incidence des événements cardiovasculaires

14 patients ont déclaré un événement cardiovasculaire, soit une incidence cumulée annuelle de 17,8 %. Les événements marquants sur le plan cardiovasculaire sont les suivants : troubles du rythme (n=2), artériopathie des membres inférieurs (n=6), syndrome coronarien aigu (n=1), angioplastie (n=1), pontage coronarien (n=1), progression significative des calcifications aortiques (n=5, dont 2 patients avec un événement cardiovasculaire autre).

2.2. Rôle prédictif des marqueurs clinico-biologiques

2.2.1. Analyses bivariées

Les principales caractéristiques clinico-biologiques des patients ayant fait un événement cardiovasculaire au cours du suivi sont résumées dans le tableau 22.

Variable	CV- n=34	CV+ n=14	P
Age (années)	66 ± 16	72 ± 8	
Ratio homme/femme	14/20	6/8	
IMC (kg/m ²)	26,6 ± 5,6	28,7 ± 6,5	0,054
Ancienneté de dialyse (mois)	72 ± 95	50 ± 47	
HTA	91,2 % (n=31)	85,7 % (n=12)	
Tabac	5,9 % (n=2)	7,1 % (n=1)	
Dyslipidémie	26,5 % (n=9)	21,4 % (n=3)	
Diabète	44,1 % (n=15)	64,3 % (n=9)	
Antécédent de cardiopathie ischémique	8,8 % (n=3)	50,0 % (n=7)	0,004
Antécédent de parathyroïdectomie	5,9 % (n=2)	7,1 % (n=1)	
Antécédent de greffe rénale	20,6 % (n=7)	35,7 % (n=5)	0,075
Phosphatémie (mmol/L)	1,53 ± 0,45	1,44 ± 0,25	
Calcémie (mmol/L)	2,31 ± 0,18	2,34 ± 0,11	
Albuminémie (g/L)	34,6 ± 4,5	33,8 ± 3,3	
CRP (mg/L)	17,5 ± 37,7	12,4 ± 15,0	
iPTH (pg/mL)	365,8 ± 222,9	327,7 ± 270,8	
PTH bio-intacte (pg/mL)	187,8 ± 121,7	168,4 ± 125,4	
25 (OH) D (ng/mL)	36,8 ± 7,9	34,1 ± 7,4	
OPG (pmol/L)	10,59 ± 5,90	12,55 ± 3,70	
sRANKL (pg/mL)	47,69 ± 194,30	20,47 ± 21,00	
sRANKL/OPG	3,66 ± 12,19	1,96 ± 2,29	
Marqueurs de formation osseuse			
❖ PAlOs (µg/L)	18,1 ± 12,6	18,1 ± 14,0	
❖ Ostéocalcine (ng/mL)	155,3 ± 75,2	106,7 ± 50,6	
❖ P1NP (µg/L)	383,4 ± 326,4	370,2 ± 228,0	
Marqueurs de résorption osseuse			
❖ TRAP5b (U/L)	4,67 ± 3,00	4,93 ± 2,60	
❖ β-CTx (pg/mL)	2351 ± 1239	1956 ± 970	
T-score R/H (DS)	-2,6 ± 1,3	-2,5 ± 1,7	
T-score R/H/P (DS)	-2,9 ± 1,4	-2,9 ± 2,0	
Présence d'un T-score < -2.5 DS R/H	63,3 % (n=19/30)	41,7 % (n=5/12)	
Présence d'un T-score < -2.5 DS R/H/P	73,3 % (n=22/30)	41,7 % (n=5/12)	0,0599
Score de Kauppila	7 ± 7	10 ± 7	

R/H : rachis/hanche ; R/H/P : rachis/hanche/poignet

Tableau 22 : Comparaison des paramètres épidémiologiques, cliniques, densitométriques et biologiques des patients avec événement cardiovasculaire (CV+) et sans événement cardiovasculaire (CV-)

Caractéristiques clinico-épidémiologiques

Les patients ayant développé un événement cardiovasculaire sont plus âgés et davantage en surpoids, bien que la différence ne soit pas significative dans l'analyse bi-variée. Seul l'antécédent de cardiopathie ischémique est significativement associé à la survenue d'événement cardiovasculaire dans l'année de suivi ($p=0,004$).

Caractéristiques biologiques

Les paramètres phosphocalciques n'apparaissent pas liés à la morbidité cardiovasculaire. La CRP n'est pas plus élevée chez les patients ayant développé une complication cardiovasculaire.

Ostéodensitométrie

La proportion de patients « ostéoporotiques » est plus importante dans le groupe « événements cardiovasculaires » (p NS).

Calcifications vasculaires

Dans nos résultats, le score de Kauppila est plus élevé dans le groupe de patients ayant développé un événement cardiovasculaire, mais il n'apparaît pas prédictif de la morbidité cardiovasculaire à 1 an.

Traitements

Nous n'avons pas pu montrer de rôle protecteur des calcimimétiques sur la survenue d'événements cardiovasculaires à 1 an.

2.2.2. Analyses multivariées

Dans l'analyse multivariée, l'âge constitue bien un facteur de risque cardiovasculaire (OR=1,26, intervalle de confiance à 95 % [1,03-1,55], $p=0.027$). Après ajustement selon l'âge, l'antécédent de cardiopathie ischémique et l'antécédent de greffe rénale persistent comme facteurs prédictifs indépendants de la morbidité cardiovasculaire ($p=0,009$ et $p=0,009$, respectivement) (tableau 23). L'ostéocalcine s'avère être également être associée au risque cardiovasculaire des patients, comme facteur protecteur : le groupe de patients avec événement cardiovasculaire a des concentrations sériques d'ostéocalcine plus basses que le

groupe de patients sans complication cardiovasculaire (OR=0,9872, intervalle de confiance à 95 % [0,9750-0,9996], $p=0,043$) (tableau 22).

Variable	Odds ratio	Intervalle de confiance à 95 %	P
Cardiopathie ischémique	204,11	3,79-1099,13	0,009
Antécédent de greffe rénale	1598,54	6,50-3,93×10 ⁵	0,009
Ostéocalcine	0,9872	0,9750-0,9996	0,043

Tableau 23 : Modèle de régression logistique pour la survenue de d'événements cardiovasculaires à 1an

3. Mortalité

3.1. Taux de mortalité et causes des décès

A l'issue des 16 mois de suivi, 12 patients sont décédés, soit un taux de mortalité de 15,3 % par an. La cause de décès est souvent multifactorielle. Il est néanmoins possible d'individualiser les causes cardiovasculaires (n=3, soit 25,0 %) et les causes non cardiovasculaires (n=9) (dénutrition, infections, cancers, aggravation de l'état général suivi d'un arrêt des dialyses). Un patient est sorti de l'étude suite à une greffe rénale.

3.2. Rôle prédictif des marqueurs clinico-biologiques

3.2.1. Analyses bi-variées

Les principales caractéristiques clinico-biologiques des patients décédés au cours du suivi sont résumées dans le tableau 24.

Variable	Survie n=46	Décès n=12	P
Age (années)	68 ± 15	81 ± 4	0,010
Ratio homme/femme	19/27	6/6	
IMC (kg/m ²)	27,3 ± 6,0	23,9 ± 4,0	0,076
Ancienneté de dialyse (mois)	66 ± 85	60 ± 43	
HTA	89,1 % (n=41)	59,3 % (n=7)	0,019
Tabac	6,5 % (n=3)	0	
Dyslipidémie	23,9 % (n=11)	25,0 % (n=3)	
Diabète	47,8 % (n=22)	41,7 % (n=5)	
Antécédent de cardiopathie ischémique	17,4 % (n=8)	41,7 % (n=5)	0,0822
Antécédent de parathyroïdectomie	n=3	n=1	
Antécédent de fracture	23,9 % (n=11)	25,0 % (n=3)	
Antécédent de greffe rénale	26,1 % (n=12)	25,0 % (n=3)	
Phosphatémie (mmol/L)	1,51 ± 0,41	1,43 ± 0,43	
Calcémie (mmol/L)	2,31 ± 0,17	2,47 ± 0,14	0,001
Albuminémie (g/L)	34,5 ± 4,2	29,0 ± 4,5	0,0007
Albuminémie < 35 g/L	45,7 % (n=21)	91,7 % (n=11)	0,018
CRP (mg/L)	16,1 ± 33,3	72,1 ± 122,0	0,057
iPTH (pg/mL)	348,1 ± 222,7	268,1 ± 247,3	
PTH bio-intacte (pg/mL)	180,0 ± 118,6	138,7 ± 117,9	
25 (OH) D (ng/mL)	35,9 ± 7,7	40,3 ± 8,7	
OPG (pmol/L)	11,18 ± 5,5	12,75 ± 3,8	
sRANKL (pg/mL)	39,86 ± 166,4	16,29 ± 21,30	
sRANKL/OPG	3,16 ± 10,48	1,43 ± 2,03	
Marqueurs de formation osseuse			
❖ PAlOs (µg/L)	18,1 ± 12,9	20,2 ± 9,7	
❖ Ostéocalcine (ng/mL)	142,6 ± 70,8	123,4 ± 80,5	
❖ P1NP (µg/L)	362,9 ± 292,5	375,8 ± 273,8	
Marqueurs de résorption osseuse			
❖ TRAP5b (U/L)	4,75 ± 2,91	4,60 ± 1,98	
❖ β-CTx (pg/mL)	2197 ± 1146	2069	
T-score R/H(DS)	-2,6 ± 1,4	-3,1 ± 0,5	
T-score R/H/P(DS)	-2,9 ± 1,6	-3,2 ± 0,7	
Score de Kauppila	8 ± 7	15 ± 6	0,012

R/H : rachis/hanche ; R/H/P : rachis/hanche/poignet

Tableau 24 : Comparaison des paramètres épidémiologiques, cliniques, densitométriques et biologiques des patients décédés versus patients vivants à 1 an

Caractéristiques clinico-épidémiologiques

Les patients décédés au cours du suivi sont plus âgés (81 vs 68 ans, $p=0,010$) et moins hypertendus que les patients encore en vie ($p=0,019$). Tous les patients décédés ont plus de 65 ans (figure 27).

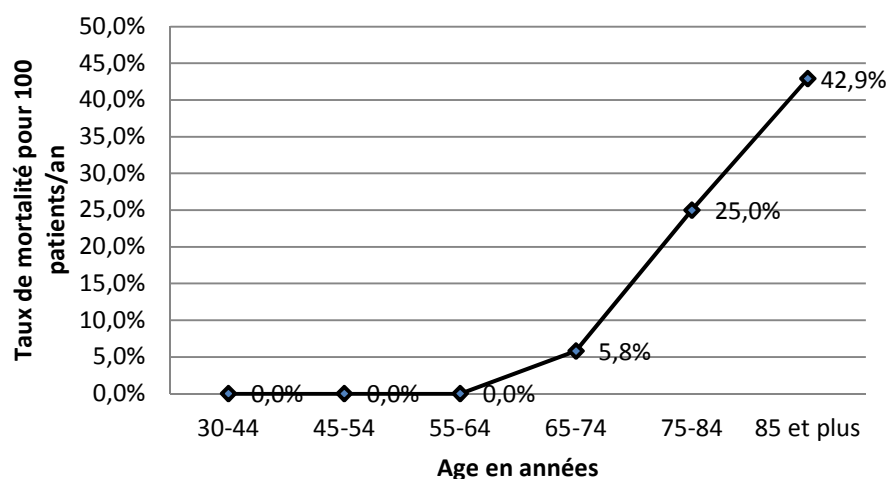


Figure 27 : Taux de mortalité par tranche d'âge

Caractéristiques biologiques

La dénutrition apparaît fortement associée à la mortalité dans notre cohorte. Les patients décédés ont une albuminémie significativement plus basse que les patients encore en vie (29,0 vs 34,5 g/L, $p=0,0007$). Ainsi la majorité des patients décédés présente une albuminémie < 35 g/L. La moyenne et la médiane de l'albuminémie des patients décédés, toutes deux à 29 g/L, révèlent la sévérité de la dénutrition. L'état inflammatoire est plus marqué chez les patients décédés et l'IMC est également plus bas (p NS).

Les perturbations du bilan phosphocalcique semblent également associées à la mortalité : les patients décédés présentaient une calcémie significativement plus élevée que les patients non décédés (2,47 vs 2,31 mmol/L, $p=0,001$).

Ostéodensitométrie

Bien que les T -scores soient plus bas chez les patients décédés, ils n'apparaissent pas liés à la mortalité. Les données manquent cependant pour plus de la moitié des patients décédés.

Calcifications vasculaires

Les patients décédés au cours du suivi présentaient un index de calcifications aortiques significativement plus élevé par rapport aux autres patients (15 vs 8, $p=0,012$), rejoignant les données de la littérature.

3.2.2. Analyses multivariées

Certaines variables (T -scores et score de Kauppila) n'ont pu être incluses dans l'analyse multivariée en raison du nombre important de données manquantes par rapport à la faible taille de l'échantillon. Dans le modèle de régression logistique retenu, l'antécédent de cardiopathie ischémique et l'hypo-albuminémie (< 35 g/L) sont les facteurs prédictifs les plus fortement associés à la mortalité dans l'année ($p=0,039$ et $p=0,046$ respectivement) (tableau 25). L'IMC plutôt élevé constitue un facteur protecteur contre le décès ($p=0,069$). L'état inflammatoire a un rôle délétère sur la survie des patients ($p=0,084$). L'analyse multivariée confirme donc le pronostic péjoratif en terme de survie de la maladie cardiovasculaire et de la dénutrition, chez les patients dialysés.

L'âge et le sexe féminin constituent également des facteurs de risque de mortalité ($p=0,06$ et $p=0,059$, respectivement). L'implication paradoxale du sexe féminin s'explique probablement par la plus grande proportion de femmes âgées dans l'étude et la prévalence plus importante de la dénutrition parmi les femmes.

Variable	Odds ratio	Intervalle de confiance à 95 %	P
Age	2,81	0,96-8,3	0,060
Sexe masculin	$4,17 \times 10^{-4}$	$1,27 \times 10^{-7}$ -1,37	0,059
IMC	0,16	0,02-1,16	0,069
Cardiopathie ischémique	$4,32 \times 10^6$	$2,20$ - $8,49 \times 10^{12}$	0,039
Albuminémie < 35 g/L	$3,02 \times 10^9$	$1,42$ - $6,45 \times 10^{18}$	0,046
CRP	1,13	0,98-1,30	0,084

Tableau 25 : Modèle de régression logistique pour la mortalité à 1an

IV. Données manquantes

A l'inclusion, le recueil des données cliniques a été complet. Les données manquantes concernent les paramètres suivants :

- ❖ Bilan biologique : jusqu'à 4 données manquantes selon le paramètre
- ❖ Ostéodensitométrie : 13 données manquantes
- ❖ Radiographies du rachis dorso-lombaire : 3 données manquantes
- ❖ Évaluation des calcifications vasculaires : 7 données manquantes

Les DMO du rachis n'ont pas pu être évaluées de façon satisfaisante pour 38 patients(soit environ 2 patients sur 3) en raison de la présence fréquente de calcifications aortiques ou d'ostéophytes limitant les possibilités d'interprétation. La majorité des *T*-scores proviennent donc des hanches ou du poignet. Il faut souligner la difficulté de la réalisation de l'ostéodensitométrie pour certains patients hémodialysés peu mobiles.

V. Évolution des paramètres biologiques au cours du suivi

Les dosages des marqueurs biochimiques ont été répétés à 6 mois et 1 an initialement dans le but d'évaluer la corrélation entre leur cinétique et le type d'ostéodystrophie rénale sous-jacente. Nous n'avons pas observé de modifications majeures dans l'évolution des paramètres.

Les variations observées de la PTH (intacte ou bio-intacte) s'accompagnent d'une évolution concomitante des PALos et de la TRAP5b dans le même sens. Les concentrations d'OPG restent élevées au cours de l'année de suivi. Leurs variations semblent s'effectuer de manière inverse à celles de la PTH (intacte ou bio-intacte), ce qui concorde avec le rôle biologique connu de la PTH sur la sécrétion d'OPG. L'impact des variations de PTH sur les concentrations sériques de sRANKL sont moins évidentes.

DISCUSSION

Les deux études présentées avaient pour but de caractériser les TMO-MRC des patients insuffisants rénaux chroniques hémodialysés du CHU de Nantes grâce à des méthodes non-invasives. Nos critères majeurs d'évaluation étaient les fractures, les calcifications vasculaires et le risque cardiovasculaire associé, ainsi que la mortalité au cours de l'année de suivi.

La phase transversale de l'étude a permis d'évaluer la valeur diagnostique de l'ostéodensitométrie et des marqueurs biologiques osseux, pour discriminer les patients fracturés et les patients atteints de calcifications aortiques sévères par rapport aux patients indemnes de ces complications. La phase longitudinale, bien qu'étant courte, avait pour but d'évaluer le rôle prédictif de l'ostéodensitométrie et des marqueurs osseux pour l'identification des risques fracturaire et vasculaire et du risque de décès.

I. Caractéristiques socio-démographiques de la population étudiée

L'âge médian des patients suivis dans le service d'Hémodialyse du CHU de Nantes au 01/05/2011 était légèrement plus élevé que celui de la population dialysée étudiée par le REIN 2010 (73 vs 71 ans). Environ deux tiers des patients avaient plus de 65 ans et presque la moitié avait plus de 75 ans. Le ratio hommes/femmes est également inversé par rapport à celui de la population étudiée par le REIN, avec une prédominance féminine dans notre série. La conjonction de facteurs favorisant l'ostéoporose (âge, sexe féminin) participe possiblement à l'excès fréquent de résorption observé (concentrations élevées de TRAP5b, DMO basses).

II. Bilan phosphocalcique, remodelage osseux et ostéodystrophie rénale

1. Bilan phosphocalcique

Nous avons appliqué les recommandations des KDIGO pour la caractérisation des anomalies biologiques des TMO-MRC.

Notre étude montre qu'environ trois quarts des patients présentent une calcémie dans les normes du laboratoire et que la moitié des patients tendent vers des valeurs normales de phosphatémie. Les cibles du bilan phosphocalcique ont été revues par les KDIGO en 2009. Elles sont fondées sur des études observationnelles qui ont montré que les valeurs physiologiques de la calcémie et les valeurs proches de la normale de la phosphatémie apparaissent plus favorables à la survie (sans pouvoir établir de lien de causalité cependant) (étude DOPPS, Tentori et al., 2008). Le contrôle de la phosphatémie fait appel au régime alimentaire, aux chélateurs du phosphate et à la dialyse. Il semble toutefois que le maintien d'une phosphatémie « normale » s'avère assez difficile. Cet objectif présente un risque éventuel de réduction excessive des apports alimentaires protéiques, déjà faibles, chez ces patients. Une autre conséquence d'un contrôle strict de la phosphatémie pourrait être l'augmentation de la prescription et des posologies des chélateurs du phosphate et une majoration de leurs effets secondaires (effets secondaires gastro-intestinaux, altérant la qualité de vie des patients ; coût ; implication des chélateurs à base de calcium dans la progression des CV et la suppression du remodelage osseux [D'Haese et al., 2003]). L'optimisation du contrôle de l'hyperphosphatémie et de ses effets délétères ouvre une perspective au développement de traitements ciblant le FGF23.

La supplémentation en vitamine D permet d'éviter la carence dans 85 % de la population. Bien que le niveau d'évidence soit faible, la correction de la carence en 25 (OH) D est conseillée par les KDIGO et semble sans impact sur les troubles phosphocalciques. Elle entre dans la stratégie thérapeutique de l'hyperparathyroïdie et permet aux patients de bénéficier des effets pléiotropiques de la vitamine D. Il a été démontré que la vitamine D est bénéfique à la survie à dose physiologique (Naves-Diaz et al., 2008).

2. Intérêt des marqueurs biologiques pour l'estimation du remodelage osseux et de l'ostéodystrophie rénale

L'évaluation biologique du remodelage osseux selon les recommandations KDIGO 2009 montre qu'environ 55 % de la population se situe dans les valeurs cibles 2-9N de iPTH, 20 % a des concentrations sériques indiquant un remodelage osseux faible et 25 % a des concentrations sériques élevées. Les experts rapportent que l'expression des résultats en multiples de la limite supérieure du kit de 2^e génération utilisé améliore le problème de la dispersion des résultats entre les techniques, mais ne le résout pas (Cavalier et al., 2011). Le problème de l'inhomogénéité de la population de référence persiste pour l'établissement des valeurs de référence de iPTH. Le classement des patients selon la trousse utilisée est parfois encore différent ; ceci pose problème car une mauvaise estimation des résultats a des conséquences importantes sur la prise en charge thérapeutique des patients. Ainsi, le suivi biologique du patient dans le même laboratoire est toujours nécessaire, et l'information des cliniciens par les biologistes concernant le type de trousse de dosage utilisée et tout changement de trousse est fondamentale.

Les concentrations obtenues pour la PTH bio-intacte (dosage de PTH de 3^e génération) sont environ deux fois plus faibles que celles de iPTH (dosage de PTH de 2^e génération). Comme la technique de dosage de 3^e génération est censée s'affranchir de l'interférence analytique des fragments de dégradation de la molécule de PTH, il semblait approprié d'appliquer pour les patients dialysés les mêmes valeurs de référence que celles déterminées pour la population générale. Cependant, nous avons observé que chez la majorité des dialysés, les concentrations de PTH bio-intacte sont en réalité bien supérieures aux valeurs normales et entraînent une interprétation différente du remodelage osseux sous-jacent par rapport au dosage de iPTH, pour lequel des valeurs de référence spécifiques ont été définies. Les concentrations de PTH bio-intacte n'apparaissent pas mieux corrélées que celles de iPTH avec les concentrations des PALos. Il semble donc que la PTH bio-intacte ne reflète pas réellement le niveau de remodelage sous-jacent des patients dialysés. L'augmentation des concentrations observée pourrait être liée à la réactivité croisée des anticorps avec la N-PTH, dont les concentrations ont été rapportées augmentées en cas d'hyperparathyroïdie secondaire (D'Amour et al., 2003). L'importance de la réactivité croisée avec la N-PTH n'est pas déterminée. Il apparaît donc que des valeurs cibles spécifiques

doivent être déterminées pour le dosage de PTH bio-intacte à l'instar du dosage de iPTH. Les cibles 2-9N proposées par les KDIGO ne semblent pas applicables au dosage de 3^e génération car la limite supérieure serait beaucoup trop élevée. L'intérêt des kits de 3^e génération réside surtout dans la moindre variabilité inter-technique. En définitive, nous n'avons pas démontré de supériorité du dosage de PTH bio-intacte par rapport au dosage de iPTH. Des progrès techniques restent probablement à faire afin d'optimiser la distinction des différentes formes circulantes de PTH. La compréhension de l'implication physiopathologique des différentes formes de PTH est également un enjeu important et il serait intéressant de préciser le rôle et la quantité circulante de la N-PTH chez les dialysés. Ces axes de recherche sont fortement encouragés par les experts des KDIGO.

L'introduction du dosage des PAL totales ou osseuses en pratique courante du suivi des patients dialysés par les recommandations KDIGO a représenté une nouveauté. En effet, les PAL constituent un véritable marqueur osseux car les concentrations sériques reflètent réellement l'activité osseuse, de manière beaucoup plus fiable que les concentrations de la PTH (qui n'est pas un marqueur osseux, mais une hormone régulée par la calcémie) (Cavalier et al., 2012). De ce fait, les PALos représentent un marqueur extrêmement intéressant car elles semblent être le marqueur le plus performant pour évaluer un niveau de remodelage osseux élevé en l'absence de biopsie osseuse. Dans notre population, l'utilisation des PALos permet d'identifier 25 % des patients dont la iPTH est normale présentant en réalité un remodelage accéléré. D'autre part, certains patients en hyperparathyroïdie apparente n'ont en réalité pas de PALos élevées (figure 17). Nous pouvons émettre plusieurs hypothèses. Ces patients pourraient avoir accumulé dans leur sang des quantités de fragments C-terminaux de la PTH plus importantes. Dans l'optique d'identifier les patients avec des concentrations élevées de fragments de dégradation, l'utilisation combinée des kits de dosage de PTH de 2^e et 3^e générations pouvait être intéressante. Cependant, nous n'avons pas montré de meilleure corrélation entre le dosage de PTH bio-intacte et les PALos qu'entre le dosage de la iPTH et les PALos. L'utilisation du kit de 3^e génération ne permet pas de gommer la découplage existant entre le dosage de iPTH et celui de PALos. Une autre explication pourrait être l'existence d'une résistance osseuse à l'action catabolique de la PTH 1-84. Cette situation serait susceptible de se manifester par un déséquilibre du ratio sRANKL/OPG (concentrations sériques d'OPG plus élevées et/ou des concentrations sériques de sRANKL

plus basses par rapport aux patients classés en remodelage accéléré), mais ceci n'est pas le cas.

La qualité de l'os est déterminée par son niveau de remodelage, sa géométrie, sa microarchitecture, sa minéralisation et les altérations qu'il subit (microfissures), tandis que la quantité osseuse dépend de l'équilibre entre formation et résorption. Les marqueurs osseux dont les concentrations sériques sont bien corrélées avec les paramètres histomorphométriques ont un intérêt certain dans l'évaluation de l'ostéodystrophie rénale. Il est probable qu'une estimation de la quantité osseuse et du remodelage osseux pourrait être réalisée en associant le dosage de marqueurs sériques de formation et de résorption, mais une comparaison avec les données de l'histomorphométrie à la biopsie osseuse est indispensable. L'enjeu de ces marqueurs se situe essentiellement dans le diagnostic de l'ostéopathie adynamique et d'un volume osseux bas. Les PALos et la TRAP5b, en raison de leur indépendance vis-à-vis de la fonction rénale, suscitent le plus d'intérêt. Nous avons observé un découplage entre les concentrations de PALos et de TRAP5b pour certains patients. Ces observations pourraient refléter une prévalence élevée de l'« ostéoporose » chez les hémodialysés, telle que l'a constatée à l'histomorphométrie l'équipe de Barreto (Barreto et al., 2006). Les autres marqueurs osseux, dépendants de la fonction rénale, ne sont pas forcément à écarter comme en témoigne la bonne corrélation constatée par Gerakis *et al* de l'ostéocalcine avec les paramètres histomorphométriques de formation osseuse (Gerakis et al., 2000). Toutefois pour les marqueurs éliminés par voie rénale, il serait nécessaire d'établir des valeurs de seuil décisionnel adaptées aux patients en IRC stade 5D, pour la pratique clinique.

Il a été démontré que toutes les molécules de la matrice osseuse semblent exprimées dans la matrice osseuse ectopique (Dhore et al., 2001). Cette observation complique l'interprétation des concentrations sériques des marqueurs osseux car nous pouvons nous interroger sur les parts osseuses et vasculaires respectives des marqueurs circulants. L'utilisation des concentrations sériques des marqueurs osseux afin de prédire le remodelage ou le volume osseux nécessite donc de déterminer la corrélation exacte entre les concentrations circulantes de ces marqueurs et l'activité osseuse déterminée à l'histologie.

Les patients hémodialysés de notre série présentent des concentrations d'OPG élevées, en accord avec les données de la littérature (Avbersek-Luznik et al., 2002 ; Doumouchsis et al., 2007). Les concentrations de sRANKL apparaissent beaucoup plus disparates, bien que nous n'ayons pas de valeurs de référence.

RANKL est un facteur indispensable à l'activité ostéoclastique et l'OPG est son régulateur naturel. Le ratio OPG/RANKL contrôle l'équilibre entre ostéoformation et résorption osseuse et détermine la masse osseuse. La mesure de ce ratio pourrait être un moyen d'estimer de manière non invasive le volume osseux chez les dialysés.

Nous avons constaté l'existence d'une corrélation négative entre le *T*-score mesuré à l'ostéodensitométrie et les concentrations sériques de sRANKL ; les patients dont le *T*-score est $< -2,5$ DS présentent ainsi des concentrations sériques de sRANKL plus élevées que les patients dont le *T*-score est $> -2,5$ DS. Des hypothèses peuvent être formulées quant à l'intérêt diagnostique éventuel de ce marqueur pour estimer la fragilité osseuse ou le volume osseux. Si les concentrations sériques de sRANKL sont bien le reflet de l'activation ostéoclastique, la corrélation observée serait concordante avec l'état de fragilité osseuse déterminée à la DMO. Cette donnée peut être intéressante. Néanmoins, la mesure de la DMO n'est pas la technique de référence pour établir un diagnostic de la qualité et de la quantité osseuses ; l'intérêt du dosage de sRANKL dans la pratique courante reste donc à démontrer. La détermination d'un seuil biologique pour le diagnostic d'une forme d'ostéodystrophie rénale ou de la fragilité osseuse nécessite des investigations supplémentaires.

Nous n'avons pas observé de corrélation entre le ratio sRANKL/OPG et ses régulateurs (iPTH ou PTH bio-intacte), ce qui a également été constaté dans d'autres études (Doumouchsis et al., 2007). Une des principales difficultés liée à l'utilisation de sRANKL et d'OPG repose sur la complexité de la biologie du système OPG/RANK/RANKL. En effet, OPG et RANKL possèdent de nombreux ligands, en plus de leur interaction mutuelle, qui sont susceptibles de moduler leur activité telles que TRAIL (*TNF Related Apoptosis Inducing Ligand*), des glycoprotéines, des glyco-aminoglycanes, le facteur Von Willebrand ou le facteur VIII (Heymann, 2012). D'autre part, les concentrations élevées d'OPG observées chez les dialysés pourraient augmenter la fraction de sRANKL liée à l'OPG et diminuer de ce fait la

fraction libre de sRANKL. Toutefois, le kit que nous avons utilisé permet théoriquement le dosage de RANKL total (libre et lié). Enfin, à l'instar des marqueurs biochimiques osseux, le ratio RANKL/OPG est susceptible de ne pas refléter uniquement le remodelage osseux mais d'être affecté par d'autres tissus, dont le système vasculaire et ses calcifications. Ainsi, l'interprétation du ratio sRANKL/OPG sérique est délicate et ne peut se réaliser en l'absence d'histologie osseuse.

Chez les dialysés, contrairement à la population générale, un volume osseux bas est souvent associé à un niveau de remodelage faible plutôt qu'à une accélération de l'ostéolyse. En effet, Malluche *et al* ont montré, sur des évaluations biopsiques osseuses, que 73 % des patients caucasiens associaient un volume et un turn-over osseux faibles (Malluche et al., 2010). L'évaluation simultanée du volume osseux et du remodelage est importante dans l'optique thérapeutique car la majorité des traitements anti-résorptifs utilisés actuellement dans le traitement de l'ostéoporose, et potentiellement utilisables chez les hémodialysés, sont anti-résorptifs. Ils ne sont donc pas adaptés à un niveau de remodelage déjà bas (Ott, 2009).

III. Risque fracturaire

Nous rapportons une prévalence élevée de fractures dans la population de patients hémodialysés, en accord avec les données de la littérature (Jadoul et al., 2006 ; Atsumi et al., 1999).

Les principaux résultats de notre étude concernant le risque fracturaire sont l'association des concentrations élevées des PALos et de iPTH(> 9N) à la survenue des fractures, du rôle protecteur d'une albuminémie > 35 g/L. Nous rapportons aussi l'existence d'une association positive entre la présence d'un T-score < -2,5 DS et la présence de fractures de fragilité.

1. Ostéodensitométrie et fracture

Dans notre étude, la majorité des patients hémodialysés présentent des DMO basses à l'ostéodensitométrie, quel que soit le site étudié. Environ la moitié de nos patients présente au moins un T-score < -2,5 DS. Ces observations concordent avec les données de la littérature (Ott, 2009). Chez les dialysés, le terme d'ostéoporose est inapproprié en raison de la diversité des mécanismes concourant à la diminution de la DMO. Nous observons que la

baisse de la DMO est d'autant plus marquée que l'ancienneté de la dialyse est longue, laissant supposer que outre l'hyperparathyroïdie, le vieillissement, la dénutrition, et d'autres facteurs liés à la dialyse sont impliqués dans l'atteinte osseuse (Ureña et al., 2003).

L'un des principaux résultats de notre étude transversale est la présence d'une association entre une DMO basse (en utilisant la mesure du *T*-score le plus bas des sites rachis/hanche) et les fractures de fragilité. Nous avons montré qu'un *T*-score $> -2,5$ DS était associé à une présence moindre de fractures (figure 26). Cette donnée est intéressante car elle soulève l'hypothèse que, chez un patient dialysé, une amélioration de la DMO par des traitements pourrait signifier une amélioration de la qualité osseuse et une diminution du risque de fracture (donnée non admise jusqu'à présent en l'absence de preuve). Malheureusement, notre étude ne permet pas d'évaluer le rôle prédictif du paramètre ostéodensitométrique que nous avons utilisé. En outre, la relation observée entre la DMO et les fractures pourrait être biaisée par des facteurs confondants. En effet, dans notre analyse transversale, nous n'avons pas connaissance du délai écoulé entre la survenue de la fracture et l'inclusion dans le protocole.

Les recommandations des KDIGO sont de ne pas mesurer la DMO chez les patients en IRC stades 3-5, mais le niveau de preuve médicale de cette recommandation est faible car essentiellement fondé sur des études transversales, non adaptées à étudier le pouvoir prédictif (KDIGO, 2009). Il y a un manque certain d'études prospectives. Par ailleurs, les études menées jusqu'à présent utilisent soit le *T*-score, soit le *Z*-score, ce qui entraîne potentiellement des confusions dans l'interprétation des résultats. Une étude prospective de Yencheek *et al* a récemment relancé la controverse sur l'utilité de la DMO chez les patients en IRC : les auteurs ont utilisé le DEXA pour prédire le risque fracturaire dans une cohorte de 2754 patients âgés de 70 à 79 ans, quelle que soit leur fonction rénale (Yencheek et al., 2012). Après ajustement selon le stade d'IRC, un *T*-score bas au niveau de la hanche est associé à un risque de fracture 2 fois plus élevé chez les individus avec IRC modérée, de manière comparable aux patients sans IRC. L'extrapolation de ces conclusions aux stades 4 et 5 de l'IRC est toutefois difficile en raison d'un nombre trop faible de patients.

En conclusion, nous pouvons affirmer qu'en dépit de l'absence d'association au risque fracturaire chez les dialysés, une DMO basse à l'ostéodensitométrie représente un

marqueur de fragilité osseuse, quelle que soit son origine (ostéodystrophie rénale et/ou ostéoporose) et cette fragilité augmente parallèlement à la durée de l'hémodialyse.

L'évaluation de la qualité osseuse et du risque fracturaire par les techniques plus sophistiquées est encore du domaine de la recherche ; ces techniques sont lourdes à mettre en œuvre et sont coûteuses.

2. Intérêt des marqueurs biologiques osseux

La phase transversale de l'étude a permis de mettre en évidence plusieurs facteurs caractérisant les patients fracturés (ou ayant des antécédents de fracture) : l'âge, une dénutrition plus sévère, des marqueurs sériques du remodelage osseux en concentrations plus faibles que les patients exempts de fracture.

L'hypo-albuminémie était une caractéristique fréquente des patients fracturés ou aux antécédents fracturaires à J0. L'étude longitudinale a permis de confirmer le rôle important de la dénutrition dans la survenue de fracture. Les concentrations sériques d'albumine et l'IMC sont constamment plus bas chez les patients qui ont développé des fractures de fragilité au cours du suivi. De plus, l'albuminémie > 35 g/L constitue sur une période d'un an un facteur protecteur de la survenue de fractures. Ces données sont cohérentes avec les résultats issus des grandes études de cohorte (Jadoul et al., 2006).

Les patients présentant des fractures (périphériques ou vertébrales) ou un antécédent fracturaire à l'inclusion avaient des concentrations sériques de PTH et de β -CTx (marqueur de résorption osseuse) plus basses que les patients indemnes de fractures. On ne pouvait toutefois pas préjuger de l'existence d'une ostéopathie adynamique dans ce groupe de patients puisque leurs concentrations moyennes de iPTH se situaient dans les cibles recommandées par les KDIGO. La partie prospective de l'étude a montré à l'inverse que les concentrations sériques de iPTH supérieures à la limite 9N (500 pg/mL pour notre technique) et les concentrations sériques de PALos élevées se révèlent prédictives du risque fracturaire dans l'année de suivi. Les patients à risque de développer une fracture de fragilité sont donc ceux qui présentent un remodelage osseux nettement accéléré. Pour la iPTH, ces observations rejoignent effectivement les données des études longitudinales à grande échelle, qui rapportent une augmentation du risque fracturaire liées à l'hyperparathyroïdie

chez les patients en IRC stade 5D (Jadoul et al., 2006). En réalité, le risque fracturaire serait associé à des concentrations extrêmes de iPTH (risque en forme de courbe en U).

L'association observée entre concentrations sériques de PALos et survenue de fractures est intéressante. Blayney *et al* avaient mis en évidence une association entre des concentrations de PAL totales élevées et le risque fracturaire, en reprenant les données de l'étude internationale DOPPS, mais leur étude ne permettait pas d'établir un lien de causalité (Blayney et al., 2008). L'identification de ce rôle prédictif indépendant de l'iso-enzyme osseuse renforce l'intérêt de son dosage en pratique courante chez les patients dialysés.

Notre étude n'a pas montré de lien entre la survenue de fractures et les concentrations sériques de TRAP5b, d'OPG ou de sRANKL, mais ces marqueurs restent à investiguer.

L'ensemble de ces résultats suggère fortement que le contrôle optimal de l'hyperparathyroïdie, en visant les cibles recommandées par les recommandations de bonne pratique clinique, peut contribuer à réduire le risque de fracture osseuse. Ceci soulève la question du rôle protecteur du cinacalcet. Ce traitement permet de corriger les anomalies biologiques de l'hyperparathyroïdie au stade 5 de l'IRC grâce à son action sur les glandes parathyroïdiennes, mais il possède aussi une action sur l'os. Malluche *et al* ont rapporté une diminution de la fréquence d'activation du remodelage et de la fibrose médullaire après un an de traitement par cinacalcet (Malluche et al., 2008). Une étude post-hoc a montré que ce traitement permettait de réduire de 54 % l'incidence des fractures (Cunningham et al., 2005). L'impact à long terme de la réduction du turn-over sur le risque fracturaire et sur l'histologie osseuse est en cours d'évaluation (étude BONAFIDE). L'effet indésirable à déterminer est de savoir si ce traitement favorise l'ostéopathie adynamique (Ureña Torres, 2011).

IV. Calcifications vasculaires, morbidité cardiovasculaire et relation os-système vasculaire

Notre étude confirme la prévalence particulièrement élevée des calcifications aortiques (Chertow et al., 2002 ; Raggi et al., 2004 ; Honkanen et al., 2008 ; Rodriguez-Garcia et al.,

2009) ainsi que la fréquence des facteurs de risque et des maladies cardiovasculaires chez les patients hémodialysés (REIN 2010).

Les principaux résultats de l'étude concernant les CV sont l'association de la sévérité des calcifications à l'âge, aux concentrations d'OPG, à la calcémie et à l'inflammation. Ces observations sont en accord avec les facteurs connus, impliqués dans la genèse et la progression des CV.

Chez l'insuffisant rénal chronique, les études d'observation laissent penser que les troubles du remodelage osseux, bas ou élevés, créent un environnement favorable à la calcification vasculaire en augmentant la calcémie et la phosphatémie. Les troubles phosphocalciques pourraient donc constituer le lien biologique entre l'os et le système vasculaire (Cannata-Andia et al., 2009). Le maintien de l'homéostasie phosphocalcique est un objectif clair des stratégies thérapeutiques des KDIGO 2009. L'utilisation de chélateurs du phosphate à base de calcium ou non fait débat. Il est principalement conseillé de limiter l'utilisation de chélateurs du phosphate à base de calcium chez les patients atteints d'ostéopathie adynamique en raison d'une diminution des échanges calciques entre le pool sérique et l'os favorisant la calcification (London et al., 2008 ; KDIGO 2009).

La mise en évidence d'une corrélation entre les concentrations sériques élevées d'OPG et la sévérité des calcifications est concordante avec l'étude Avbersek-Luznik *et al* et Doumouchtsis *et al* (Avbersek-Luznik et al., 2002 ; Doumouchtsis et al., 2007). Il existe plusieurs hypothèses pouvant expliquer l'augmentation de ces concentrations dans l'IRC. Tout d'abord, le métabolisme de l'OPG pourrait impliquer le rein, expliquant l'augmentation de ses concentrations sériques avec le déclin de la fonction rénale. D'autre part, l'OPG pourrait être le témoin d'un mécanisme de défense contre les CV. Enfin, l'augmentation de l'OPG pourrait être un mécanisme de protection osseuse contre l'hyperparathyroïdie secondaire, tel un mécanisme homéostatique pour limiter la perte osseuse.

La dysrégulation de l'OPG peut également s'intégrer dans le cadre d'une relation os/système vasculaire. En réalité, le lien de causalité entre les anomalies osseuses et la calcification vasculaire n'est pas clairement défini ; en effet, si les CV peuvent être les conséquences systémiques des perturbations du métabolisme osseux, les mécanismes de défense des artères contre les calcifications peuvent également avoir un impact négatif sur

l'os (par l'intermédiaire de facteurs solubles, libérés dans la circulation générale et inhibant la formation osseuse) (Cannata-Andia et al., 2011). Ainsi, l'augmentation des concentrations d'OPG en réponse à l'hyperparathyroïdie secondaire pourraient promouvoir la calcification vasculaire. A l'inverse, si l'augmentation des concentrations sériques d'OPG résulte d'un mécanisme de protection artérielle, elle est susceptible d'entraîner une diminution du remodelage au niveau de l'os en s'opposant à l'action pro-résorptive de RANKL ; l'augmentation de l'OPG pourrait donc participer à la résistance osseuse à l'action de la PTH.

L'observation dans notre étude d'une corrélation positive entre les concentrations sériques d'OPG et de TRAP5b (dont les concentrations augmentent parallèlement à l'activité ostéoclastique) est délicate à expliquer sur le plan physiopathologique. Elle pourrait s'expliquer par une augmentation de l'OPG en réponse à une résorption accrue. Elle pourrait également constituer un argument supplémentaire dans le sens de la relation os/vaisseaux en témoignant de l'association entre CV (augmentation de l'OPG par mécanisme de protection artérielle) et résorption osseuse augmentée (objectivée par les concentrations élevées de TRAP5b).

Outre l'OPG, d'autres médiateurs cellulaires, hormonaux et métaboliques bidirectionnels sont susceptibles de faire le lien entre l'os et le système vasculaire, et pourraient impliquer d'autres tissus tels que le rein et le tissu adipeux. On peut par exemple citer les BMPs (notamment BMP-7), les phosphatonines, la leptine, l'adiponectine, les lipides oxydés et le TNF α (London, 2009 ; Demer et Tintut, 2010). L'activation de la voie de signalisation de Wnt a été décrite au niveau des lésions artérielles calcifiées, et il a été démontré que les inhibiteurs de cette voie de signalisation (*Frizzled-related proteins*) étaient surexprimés au niveau des lésions (Roman-Garcia et al., 2010). Ces inhibiteurs sont également des protéines circulantes, et il n'est pas impossible qu'ils gagnent le tissu osseux où ils exerceraient une action locale inhibitrice de la voie de Wnt entraînant une perte osseuse (Cannata-Andia et al., 2011).

Un autre argument allant dans le sens d'une relation os-vaisseaux dans notre étude transversale est l'observation de l'association entre présence de fracture et sévérité des calcifications aortiques.

Un résultat important de notre étude longitudinale est l'identification de l'association entre des concentrations sériques plus faibles d'ostéocalcine et la survenue d'événements cardiovasculaires. Cette observation se rapproche d'une étude récente de Fusaro *et al* qui rapportent des concentrations d'ostéocalcine plus basses chez les patients hémodialysés de leur cohorte, décédés au cours d'un suivi de deux ans (Fusaro et al., 2012). L'ostéocalcine est une Gla-protéine spécifique du tissu osseux régulant la minéralisation (Ducy et al., 1996). D'autres Gla-protéines, les protéines Gla de la matrice (MGP), sont impliquées dans l'inhibition locale de la calcification vasculaire, en empêchant la croissance du cristal de nucléation ou en inhibant la transformation phénotypique des CMLV (Luo et al., 1997). La vitamine K est essentielle à la fonction de ces protéines. La carence en vitamine K est responsable de la production de formes décarboxylées de ces protéines, inactives. Il a été démontré que les formes décarboxylées des MGP (ucMGP) s'accumulaient au niveau des aires de calcifications vasculaires et qu'il existait une corrélation inverse entre les concentrations circulantes des ucMGP et l'index de calcifications aortiques chez les dialysés (Hermans et al., 2007).

La carence en vitamine K est effectivement fréquente dans la population dialysée (environ 30 %) et des données récentes suggèrent qu'elle pourrait être impliquée dans le développement et la progression des CV (Cranenburg et al., 2012). La vitamine K apparaît comme un nouvel acteur potentiel de la relation os/système vasculaire car elle s'avère importante à la fois pour le métabolisme osseux et l'inhibition des CV. Certains auteurs ont ainsi impliqué les AVK, largement utilisés dans la population générale et la population dialysée, dans la progression des CV en raison de la perturbation du métabolisme et de la fonction des MGP (Koos et al., 2009).

Ainsi, des concentrations sériques plus élevées d'ostéocalcine pourraient être le témoin d'une meilleure formation et d'une meilleure minéralisation osseuse. Cette activité osseuse de meilleure qualité est donc susceptible de s'accompagner d'une activité plus efficace des MGP au niveau de la paroi des artères, limitant le processus de calcification vasculaire. Le dosage de l'ostéocalcine pourrait donc s'avérer intéressant à la fois pour identifier le risque vasculaire et pour estimer le remodelage osseux. Nous n'avons toutefois pas effectué de dosage à la recherche de la carence en vitamine K dans notre population, ni relevé le traitement par anti-vitamine K lors du recueil des données. D'autre part, le problème de

l'origine osseuse ou vasculaire de l'ostéocalcine circulante se pose à nouveau dans l'interprétation de ces résultats.

Si le dosage de l'ostéocalcine se révèle être réellement prédictif des événements cardiovasculaires, la détermination d'un seuil biologique sera nécessaire car chez les dialysés, les concentrations sériques sont élevées en raison de la clairance rénale de la molécule.

La compréhension de la relation complexe entre l'os et le système vasculaire pourrait avoir des applications thérapeutiques. Il est en effet suggéré que l'amélioration du statut osseux permette de ralentir la maladie cardiovasculaire et la mortalité associée. Plusieurs molécules soulèvent l'intérêt.

Dans notre étude, nous avons observé une sévérité moindre des CV chez les patients traités par cinacalcet. L'action du cinacalcet s'exerce sur les parathyroïdes par l'intermédiaire du CaSR. Toutefois, ce récepteur est exprimé de manière ubiquitaire, en particulier par les cardiomyocytes et les CMLV, et est impliqué dans la régulation de la sécrétion de peptides et d'hormones (Al-Aly, 2009). Son action protectrice supposée au niveau vasculaire pourrait s'exercer indépendamment de la PTH, en stimulant l'expression de protéines impliquées dans la protection vasculaire contre la calcification (MGP par exemple, Rodriguez, 2008). Les résultats des analyses post-hoc suggèrent une réduction de la mortalité cardiovasculaire grâce au traitement par calcimimétiques (Cunningham et al., 2005). L'étude EVOLVE en cours a pour but d'évaluer la survenue d'événements vasculaires et la mortalité chez les patients dialysés traités par calcimimétiques (Raggi et al., 2010).

D'autres molécules sont encore au stade pré-clinique. Dans un modèle murin d'athérosclérose (LDLR-/-), un traitement par des molécules ayant un rôle anabolique pour l'os (BMP-7 [Davies et al., 2003]) a ainsi permis de réduire les CV. Helas *et al* ont démontré que l'utilisation du denosumab permettait de diminuer les dépôts calciques au niveau de la paroi des artères chez des souris rendues ostéoporotiques suite à une exposition aux corticoïdes (Helas et al., 2009). Enfin, des études supplémentaires sont nécessaires afin de

déterminer si la supplémentation en vitamine K permettrait de réduire les CV et la mortalité chez l'homme (son rôle protecteur a été démontré chez l'animal) (Schurgers et al., 2007).

V. Mortalité

La mortalité excessive des patients hémodialysés est un problème majeur. L'espérance de vie relative des patients en dialyse est 2 à 3 fois plus basse que celle de la population générale du même âge (REIN 2010).

Dans notre série, nous constatons que la mortalité cardiovasculaire représente 25 % des décès, ce qui est en accord avec les données du REIN 2010. Notre analyse transversale a permis d'identifier que la sévérité des calcifications aortiques était associée au décès, confirmant que le score de Kauppila est un bon facteur pronostique de mortalité. L'analyse longitudinale menée a montré que l'antécédent de cardiopathie ischémique constituait un facteur de risque majeur de mortalité. Ces données permettent d'insister sur le poids de la maladie cardiovasculaire chez les dialysés.

Toutefois, nous constatons que le risque accru de mortalité cardiovasculaire va de pair avec un risque tout aussi important de décès par cause non-cardiovasculaire. De Jager *et al* ont étudié la mortalité cardiovasculaire et non-cardiovasculaire des dialysés par rapport à la population générale (de Jager et al., 2009). Ils rapportent une mortalité par cause non-cardiovasculaire, normalisée selon l'âge, 8,1 fois plus élevée que dans la population générale. Cette mortalité s'explique par un nombre élevé de comorbidités non-cardiovasculaire dans la population en IRC (insuffisance respiratoire, cancers), croissante avec l'âge. Les causes les plus importantes de mortalité non-cardiovasculaire sont les infections, les cancers et la cachexie (REIN 2010).

Dans notre étude, la dénutrition joue un rôle majeur, à la fois pour le risque fracturaire, mais également en tant que facteur prédictif de mortalité. Les indicateurs de l'état nutritionnel que nous avons utilisés sont ceux faisant l'objet d'un enregistrement dans le REIN (IMC et albumine) ; l'hypo-albuminémie < 35 g/L représente un facteur de risque de mortalité indépendant et l'IMC bas est proche du seuil de significativité dans notre série. La prévalence de la dénutrition est variable ; elle affecte 30 à 55 % de notre population selon le paramètre nutritionnel choisi, ce qui est tout à fait concordant avec les données de la

littérature (Goldwasser et al., 1993). La dénutrition en dialyse est favorisée par l'inflammation, la malnutrition, un état d'hypercatabolisme, la toxicité urémique et la fuite d'acides aminés dans le dialysat. Elle apparaît précocement dans l'histoire de la MRC et augmente avec l'âge et l'ancienneté de la dialyse. L'évaluation du statut nutritionnel utilise classiquement un ensemble de données biologiques, anthropométriques et fonctionnelles mais il n'existe pas de marqueur défini. Des critères de dépistage simples doivent être mis en œuvre afin d'identifier précocement le problème. La prise en charge nutritionnelle est effectivement un enjeu majeur pour réduire la mortalité en dialyse.

Nous avons constaté des hypophosphatémies avant dialyse chez certains patients de notre population. Elles ne semblent pas en relation avec un état de dénutrition lorsque l'on considère l'IMC ou l'albuminémie et sont peut-être d'avantage liées aux traitements par chélateurs de phosphate.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'implication des services de Néphrologie-Hémodialyse, de Rhumatologie, de Biochimie et de l'unité INSERM UMR 957-LPRO de l'Université de Nantes a permis de réaliser une exploration des TMO-MRC en hémodialyse. Cette étude transversale puis longitudinale a permis d'identifier plusieurs marqueurs cliniques et biologiques intéressants dans le diagnostic et le pronostic des TMO-MRC en hémodialyse.

Dans la partie transversale de l'étude, la diminution de la DMO évaluée à la DEXA est associée à une présence accrue de fracture ; elle constitue donc un marqueur de fragilité osseuse, dont la place reste à déterminer dans la prédiction de la survenue de fractures chez les hémodialisés.

La partie longitudinale de l'étude a permis d'identifier le rôle prédictif du risque fracturaire des PALos élevées et des concentrations de iPTH supérieures à la limite définie par les KDIGO 2009. Le rôle prédictif des autres marqueurs osseux pour la survenue de fractures n'est pas ressorti dans notre étude. En raison de la lenteur relative du processus de remodelage osseux, il serait intéressant de poursuivre le suivi des patients sur une plus longue période.

Nous avons également montré que l'ostéocalcine semble constituer un marqueur intéressant du risque cardiovasculaire des patients hémodialisés. Cette donnée est à confirmer par une étude sur une plus grande cohorte. Elle constitue cependant un argument supplémentaire du lien physiopathologique existant entre les perturbations du métabolisme minéral et le système vasculaire dans l'IRC.

Notre étude permet de confirmer l'impact péjoratif de la maladie cardiovasculaire et de la dénutrition dans la survie à court terme des patients dialysés, et d'insister sur l'importance de leur prise en charge afin de réduire la surmortalité de cette population de patients.

En définitive, cette étude souligne l'utilité des marqueurs biologiques du métabolisme phosphocalcique, des marqueurs osseux et nutritionnels dans la prise en charge

des patients dialysés. L'utilisation en pratique courante des marqueurs osseux de formation et de résorption serait probablement à étendre, au-delà des PALos.

La méthodologie de l'évaluation du statut osseux des patients hémodialysés n'est pas encore définie. Il est probable que le diagnostic pourra être fait en associant des marqueurs biologiques et des techniques d'imagerie plus performantes que l'ostéodensitométrie. La biopsie osseuse reste incontournable dans la mise en œuvre d'études permettant de préciser l'intérêt des méthodes non-invasives. Nous n'avons pas réussi à montrer de supériorité du dosage de PTH de 3^e génération par rapport à celui de 2^e génération dans l'association au risque fracturaire ou vasculaire. Toutefois, la corrélation des concentrations sériques de PTH bio-intacte avec les données de la biopsie osseuse reste à déterminer.

L'intérêt des marqueurs osseux, classiques ou nouveaux (FGF23, cytokines), est double dans l'IRC. D'une part, il est probable que ces marqueurs aident à identifier la perte osseuse et à estimer le remodelage osseux afin de prédire le type d'ostéodystrophie rénale sous jacente. D'autre part, l'identification de marqueurs prédictifs du risque fracturaire ou du risque vasculaire pourrait faciliter la mise en œuvre d'essais thérapeutiques visant à réduire l'incidence des fractures ou la morbidité cardiovasculaire dans cette population de patients, qui continuera d'exiger des thérapies de remplacement rénal tout au long de la vie.

BIBLIOGRAPHIE

- Adragao, T., J. Herberth, et al. (2009). "Low bone volume--a risk factor for coronary calcifications in hemodialysis patients." Clin J Am Soc Nephrol**4**(2): 450-5.
- Agatston, A. S., W. R. Janowitz, et al. (1990). "Quantification of coronary artery calcium using ultrafast computed tomography." J Am Coll Cardiol**15**(4): 827-32.
- Al-Aly Z. (2009). "The new role of calcimimetics as vasculotropic agents." Kidney Int **75**(1): 9-12.
- Albalade, M., C. de la Piedra, et al. (2006). "Association between phosphate removal and markers of bone turnover in haemodialysis patients." Nephrol Dial Transplant**21**(6): 1626-32.
- Alem, A. M., D. J. Sherrard, et al. (2000). "Increased risk of hip fracture among patients with end-stage renal disease." Kidney Int**58**(1): 396-9.
- Amann, K. (2008). "Media calcification and intima calcification are distinct entities in chronic kidney disease." Clin J Am Soc Nephrol**3**(6): 1599-605.
- Andrade, M. C., J. T. Carvalhaes, et al. (2007). "Bone mineral density and bone histomorphometry in children on long-term dialysis." Pediatr Nephrol**22**(10): 1767-72.
- Andress, D. L. (2008). "Adynamic bone in patients with chronic kidney disease." Kidney Int**73**(12): 1345-54.
- Asmus, H. G., J. Braun, et al. (2005). "Two year comparison of sevelamer and calcium carbonate effects on cardiovascular calcification and bone density." Nephrol Dial Transplant**20**(8): 1653-61.
- Atsumi, K., K. Kushida, et al. (1999). "Risk factors for vertebral fractures in renal osteodystrophy." Am J Kidney Dis**33**(2): 287-93.
- Avbersek-Luznik, I., B. P. Balon, et al. (2005). "Increased bone resorption in HD patients: is it caused by elevated RANKL synthesis?" Nephrol Dial Transplant**20**(3): 566-70.
- Avbersek-Luznik, I., I. Malesic, et al. (2002). "Increased levels of osteoprotegerin in hemodialysis patients." Clin Chem Lab Med**40**(10): 1019-23.
- Bacchetta, J., A. Jolivot, et al. (2007). "[Parathormone and chronic kidney disease]." Nephrol Ther**3**(4): 133-8.
- Ball, A. M., D. L. Gillen, et al. (2002). "Risk of hip fracture among dialysis and renal transplant recipients." Jama**288**(23): 3014-8.

- Barreto, D. V., F. C. Barreto, et al. (2005). "Coronary calcification in hemodialysis patients: the contribution of traditional and uremia-related risk factors." Kidney Int**67**(4): 1576-82.
- Barreto, F. C., D. V. Barreto, et al. (2006). "Osteoporosis in hemodialysis patients revisited by bone histomorphometry: a new insight into an old problem." Kidney Int**69**(10): 1852-7.
- Barreto, D. V., C. Barreto Fde, et al. (2008). "Association of changes in bone remodeling and coronary calcification in hemodialysis patients: a prospective study." Am J Kidney Dis**52**(6): 1139-50.
- Barreto, F. C., D. V. Barreto, et al. (2008). "K/DOQI-recommended intact PTH levels do not prevent low-turnover bone disease in hemodialysis patients." Kidney Int**73**(6): 771-7.
- Bellasi, A., E. Ferramosca, et al. (2006). "Correlation of simple imaging tests and coronary artery calcium measured by computed tomography in hemodialysis patients." Kidney Int**70**(9): 1623-8.
- Blayney, M. J., R. L. Pisoni, et al. (2008). "High alkaline phosphatase levels in hemodialysis patients are associated with higher risk of hospitalization and death." Kidney Int**74**(5): 655-63.
- Block, G. A., P. S. Klassen, et al. (2004). "Mineral metabolism, mortality, and morbidity in maintenance hemodialysis." J Am Soc Nephrol**15**(8): 2208-18.
- Block, G. A., K. J. Martin, et al. (2004). "Cinacalcet for secondary hyperparathyroidism in patients receiving hemodialysis." N Engl J Med**350**(15): 1516-25.
- Block, G. A., D. M. Spiegel, et al. (2005). "Effects of sevelamer and calcium on coronary artery calcification in patients new to hemodialysis." Kidney Int**68**(4): 1815-24.
- Bossard, M. J., T. A. Tomaszek, et al. (1996). "Proteolytic activity of human osteoclast cathepsin K. Expression, purification, activation, and substrate identification." J Biol Chem**271**(21): 12517-24.
- Boyle, W. J., W. S. Simonet, et al. (2003). "Osteoclast differentiation and activation." Nature**423**(6937): 337-42.
- Brossard, J. H., R. Lepage, et al. (2000). "Influence of glomerular filtration rate on non-(1-84) parathyroid hormone (PTH) detected by intact PTH assays." Clin Chem**46**(5): 697-703.
- Bucay, N., I. Sarosi, et al. (1998). "osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification." Genes Dev**12**(9): 1260-8.
- Cannta-Andia, J. B., P. Román García, et al. (2010) "Bone and vascular health and the kidney." Medicographia**32**: 370-76.
- Cannata-Andia, J. B., P. Roman-Garcia, et al. (2011). "The connections between vascular calcification and bone health." Nephrol Dial Transplant**26**(11): 3429-36.

- Cavalier, E., E. Rozet, et al. (2010). "Analytical validation of serum bone alkaline phosphatase (BAP OSTASE) on Liaison." Clin Chem**48**(1): 67-72.
- Cavalier, E., P. Delanaye, et al. (2011). "Interpretation of serum PTH concentrations with different kits in dialysis patients according to the KDIGO guidelines: importance of the reference (normal) values." Nephrol Dial Transplant**27**(5): 1950-56.
- Chen, N. X. and S. M. Moe (2004). "Vascular calcification in chronic kidney disease." Semin Nephrol**24**(1): 61-8.
- Chertow, G. M., S. K. Burke, et al. (2002). "Sevelamer attenuates the progression of coronary and aortic calcification in hemodialysis patients." Kidney Int**62**(1): 245-52.
- Chu, P., T. Y. Chao, et al. (2003). "Correlation between histomorphometric parameters of bone resorption and serum type 5b tartrate-resistant acid phosphatase in uremic patients on maintenance hemodialysis." Am J Kidney Dis**41**(5): 1052-9.
- Coco, M. and H. Rush (2000). "Increased incidence of hip fractures in dialysis patients with low serum parathyroid hormone." Am J Kidney Dis**36**(6): 1115-21.
- Coen, G., P. Ballanti, et al. (1998). "Bone markers in the diagnosis of low turnover osteodystrophy in haemodialysis patients." Nephrol Dial Transplant**13**(9): 2294-302.
- Coen, G., P. Ballanti, et al. (2002). "Serum osteoprotegerin and renal osteodystrophy." Nephrol Dial Transplant**17**(2): 233-8.
- Coen, G., E. Bonucci, et al. (2002). "PTH 1-84 and PTH "7-84" in the noninvasive diagnosis of renal bone disease." Am J Kidney Dis**40**(2): 348-54.
- Collin-Osdoby, P., L. Rothe, et al. (2001). "Receptor activator of NF-kappa B and osteoprotegerin expression by human microvascular endothelial cells, regulation by inflammatory cytokines, and role in human osteoclastogenesis." J Biol Chem**276**(23): 20659-72.
- Courbebaisse, M. and J. C. Souberbielle (2010). "[Phosphocalcic metabolism: regulation and explorations]." Nephrol Ther**7**(2): 118-38.
- Couret, I. (2004). "[Biologie du remodelage osseux]." Médecine Nucléaire - Imagerie fonctionnelle et métabolique **28**(2):
- Cranenburg, E. C., V. M. Brandenburg, et al. (2009). "Uncarboxylated matrix Gla protein (ucMGP) is associated with coronary artery calcification in haemodialysis patients." Thromb Haemost**101**(2): 359-66.
- Cranenburg, E. C., L. J. Schurgers, et al. (2012). "Vitamin K intake and status are low in hemodialysis patients." Kidney Int**82**: 605-10
- Cunningham, J., M. Danese, et al. (2005). "Effects of the calcimimetic cinacalcet HCl on cardiovascular disease, fracture, and health-related quality of life in secondary hyperparathyroidism." Kidney Int **68**(4): 1793-800.

- D'Amour, P., J. H. Brossard, et al. (2003). "Amino-terminal form of parathyroid hormone (PTH) with immunologic similarities to hPTH(1-84) is overproduced in primary and secondary hyperparathyroidism." Clin Chem**49**(12): 2037-44.
- D'Amour, P., A. Rakel, et al. (2006). "Acute regulation of circulating parathyroid hormone (PTH) molecular forms by calcium: utility of PTH fragments/PTH(1-84) ratios derived from three generations of PTH assays." J Clin Endocrinol Metab**91**(1): 283-9.
- Danese, M. D., J. Kim, et al. (2006). "PTH and the risks for hip, vertebral, and pelvic fractures among patients on dialysis." Am J Kidney Dis**47**(1): 149-56.
- Davies, M. R., R. J. Lund, et al. (2003). "BMP-7 is an efficacious treatment of vascular calcification in a murine model of atherosclerosis and chronic renal failure." J Am Soc Nephrol**14**(6): 1559-67.
- de Jager, D. J., D. C. Grootendorst, et al. (2009). "Cardiovascular and noncardiovascular mortality among patients starting dialysis." Jama**302**(16): 1782-9.
- Demer, L. and Y. Tintut (2010). "The bone-vascular axis in chronic kidney disease." Curr Opin Nephrol Hypertens**19**(4): 349-53.
- D'Haese, P. C., G. B. Spasovski et al. (2003). "A multicenter study on the effects of lanthanum carbonate (Fosrenol) and calcium carbonate on renal bone disease in dialysis patients." Kidney Int**63**(Suppl 85): S73-78.
- Divieti, P., N. Inomata, et al. (2001). "Receptors for the carboxyl-terminal region of pth(1-84) are highly expressed in osteocytic cells." Endocrinology**142**(2): 916-25.
- Divieti, P., M. R. John, et al. (2002). "Human PTH-(7-84) inhibits bone resorption in vitro via actions independent of the type 1 PTH/PTHrP receptor." Endocrinology**143**(1): 171-6.
- Doumouchsis, K. K., A. I. Kostakis, et al. (2007). "sRANKL/osteoprotegerin complex and biochemical markers in a cohort of male and female hemodialysis patients." J Endocrinol Invest**30**(9): 762-6.
- Drechsler, C., S. Pilz, et al. (2010). "Vitamin D deficiency is associated with sudden cardiac death, combined cardiovascular events, and mortality in haemodialysis patients." Eur Heart J**31**(18): 2253-61.
- Drechsler, C., M. Verduijn, et al. (2011). "Vitamin D status and clinical outcomes in incident dialysis patients: results from the NECOSAD study." Nephrol Dial Transplant**26**(3): 1024-32.
- Ducy, P., C. Desbois, et al. (1996). "Increased bone formation in osteocalcin-deficient mice." Nature**382**(6590): 448-52.
- Elder, G. J. and K. Mackun (2006). "25-Hydroxyvitamin D deficiency and diabetes predict reduced BMD in patients with chronic kidney disease." J Bone Miner Res**21**(11): 1778-84.
- Fahrleitner-Pammer, A., J. Herberth, et al. (2008). "Bone markers predict cardiovascular events in chronic kidney disease." J Bone Miner Res**23**(11): 1850-8.

- Fletcher, S., R. G. Jones, et al. (1997). "Assessment of renal osteodystrophy in dialysis patients: use of bone alkaline phosphatase, bone mineral density and parathyroid ultrasound in comparison with bone histology." Nephron**75**(4): 412-9.
- Foley, R. N., P. S. Parfrey, et al. (1998). "Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease." Am J Kidney Dis**32**(5 Suppl 3): S112-9.
- Friedman, P. A. and W. G. Goodman (2006). "PTH(1-84)/PTH(7-84): a balance of power." Am J Physiol Renal Physiol**290**(5): F975-84.
- Fuller, K., B. Wong, et al. (1998). "TRANCE is necessary and sufficient for osteoblast-mediated activation of bone resorption in osteoclasts." J Exp Med**188**(5): 997-1001.
- Fusaro, M., N. Marianna et al. (2012). "Vitamin K, Vertebral Fractures, Vascular Calcifications and Mortality: Vitamin K Italian (VIKI) Dialysis Study." J Bone Miner Resdoi: 10.1002/jbmr.1677
- Gal-Moscovici, A. and M. M. Popovtzer (2005). "New worldwide trends in presentation of renal osteodystrophy and its relationship to parathyroid hormone levels." Clin Nephrol**63**(4): 284-9.
- Garnero, P., F. Bianchi, et al. (2000). "[Biochemical markers of bone remodeling: pre-analytical variations and guidelines for their use. SFBC (Societe Francaise de Biologie Clinique) Work Group. Biochemical markers of bone remodeling]." Ann Biol Clin (Paris)**58**(6): 683-704.
- Garnero, P. and P. D. Delmas (1998). "Biochemical markers of bone turnover. Applications for osteoporosis." Endocrinol Metab Clin North Am**27**(2): 303-23.
- Gerakis, A., D. Hadjidakis, et al. (2000). "Correlation of bone mineral density with the histological findings of renal osteodystrophy in patients on hemodialysis." J Nephrol**13**(6): 437-43.
- Gerakis, A., A. J. Hutchison, et al. (1996). "Biochemical markers for non-invasive diagnosis of hyperparathyroid bone disease and adynamic bone in patients on haemodialysis." Nephrol Dial Transplant**11**(12): 2430-8.
- Giachelli, C. M. (2004). "Vascular calcification mechanisms." J Am Soc Nephrol**15**(12): 2959-64.
- Gogusev, J., P. Duchambon, et al. (1997). "Depressed expression of calcium receptor in parathyroid gland tissue of patients with hyperparathyroidism." Kidney Int**51**(1): 328-36.
- Goodman, W. G., J. Goldin, et al. (2000). "Coronary-artery calcification in young adults with end-stage renal disease who are undergoing dialysis." N Engl J Med**342**(20): 1478-83.
- Gruber, C. J., W. Tschugguel, et al. (2002). "Production and actions of estrogens." N Engl J Med**346**(5): 340-52.
- Gutierrez, O. M., M. Mannstadt, et al. (2008). "Fibroblast growth factor 23 and mortality among patients undergoing hemodialysis." N Engl J Med**359**(6): 584-92.

- Haas, M., Z. Leko-Mohr, et al. (2002). "Osteoprotegerin and parathyroid hormone as markers of high-turnover osteodystrophy and decreased bone mineralization in hemodialysis patients." Am J Kidney Dis**39**(3): 580-6.
- Hamerman, D. (2005). "Osteoporosis and atherosclerosis: biological linkages and the emergence of dual-purpose therapies." Qjm**98**(7): 467-84.
- Hermans, M. M., C. Vermeer, et al. (2007). "Undercarboxylated matrix GLA protein levels are decreased in dialysis patients and related to parameters of calcium-phosphate metabolism and aortic augmentation index." Blood Purif**25**(5-6): 395-401.
- Heymann, D. (2012). "Anti-RANKL therapy for bone tumours: basic, pre-clinical and clinical evidences". J Bone Oncol**1**(1): 2-11
- Hill, P. A., A. Tumber, et al. (1998). "The cellular actions of interleukin-11 on bone resorption in vitro." Endocrinology**139**(4): 1564-72.
- Holick, M. F. (2007). "Vitamin D deficiency." N Engl J Med**357**(3): 266-81.
- Honkanen, E., L. Kaupila, et al. (2008). "Abdominal aortic calcification in dialysis patients: results of the CORD study." Nephrol Dial Transplant**23**(12): 4009-15.
- Houllier, P. "Métabolisme du calcium et du phosphate." In Chanson, P., J. Young (2007) "Traité d'endocrinologie" Flammarion Médecine-Sciences 499-504.
- Hruska, K. A., S. Mathew, et al. (2009). "The pathogenesis of vascular calcification in the chronic kidney disease mineral bone disorder: the links between bone and the vasculature." Semin Nephrol**29**(2): 156-65.
- Hutchison, A. J., R. W. Whitehouse, et al. (1993). "Correlation of bone histology with parathyroid hormone, vitamin D3, and radiology in end-stage renal disease." Kidney Int**44**(5): 1071-7.
- Isakova, T., H. Xie, et al. (2011). "Fibroblast growth factor 23 and risks of mortality and end-stage renal disease in patients with chronic kidney disease." Jama**305**(23): 2432-9.
- Jadoul, M., J. M. Albert, et al. (2006). "Incidence and risk factors for hip or other bone fractures among hemodialysis patients in the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study." Kidney Int**70**(7): 1358-66.
- Jamal, S. A., C. Chase, et al. (2002). "Bone density and heel ultrasound testing do not identify patients with dialysis-dependent renal failure who have had fractures." Am J Kidney Dis**39**(4): 843-9.
- Jamal, S. A., J. Gilbert, et al. (2006). "Cortical pQCT measures are associated with fractures in dialysis patients." J Bone Miner Res**21**(4): 543-8.
- Jamal, S. A., J. A. Hayden, et al. (2007). "Low bone mineral density and fractures in long-term hemodialysis patients: a meta-analysis." Am J Kidney Dis**49**(5): 674-81.
- Janckila, A. J. and L. T. Yam (2009). "Biology and clinical significance of tartrate-resistant acid phosphatases: new perspectives on an old enzyme." Calcif Tissue Int**85**(6): 465-83.

- Jean, G. (2010) "[How to manage mineral metabolism disorders in renal failure]." Presse Med**40**(11): 1043-52.
- Jones, G., S. A. Strugnell, et al. (1998). "Current understanding of the molecular actions of vitamin D." Physiol Rev**78**(4): 1193-231.
- Juppner, H., M. Wolf, et al. "FGF-23: More than a regulator of renal phosphate handling?" J Bone Miner Res**25**(10): 2091-7.
- Kaji, H., M. Suzuki, et al. (2002). "Risk factors for hip fracture in hemodialysis patients." Am J Nephrol**22**(4): 325-31.
- Kaneko, T. M., R. N. Foley, et al. (2007). "Clinical epidemiology of long-bone fractures in patients receiving hemodialysis." Clin Orthop Relat Res**457**: 188-93.
- Kanis, J. A. (1981). "Osteomalacia and chronic renal failure." J Clin Pathol**34**(11): 1295-307.
- Kauppila, L. I., J. F. Polak, et al. (1997). "New indices to classify location, severity and progression of calcific lesions in the abdominal aorta: a 25-year follow-up study." Atherosclerosis**132**(2): 245-50.
- K/DOQI (2003). "K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease." Am J Kidney Dis**42**(4 Suppl 3): S1-201.
- KDIGO (2009). "KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD)." Kidney Int Suppl(113): S1-130.
- Ketteler, M., P. Bongartz, et al. (2003). "Association of low fetuin-A (AHSG) concentrations in serum with cardiovascular mortality in patients on dialysis: a cross-sectional study." Lancet**361**(9360): 827-33.
- Ketteler, M., G. Schlieper, et al. (2006). "Calcification and cardiovascular health: new insights into an old phenomenon." Hypertension**47**(6): 1027-34.
- Kiechl, S., G. Schett, et al. (2007). "Soluble receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand and risk for cardiovascular disease." Circulation**116**(4): 385-91.
- Kiechl, S., P. Werner, et al. (2006). "The osteoprotegerin/RANK/RANKL system: a bone key to vascular disease." Expert Rev Cardiovasc Ther**4**(6): 801-11.
- Koivula, M. K., V. Ruotsalainen, et al. "Difference between total and intact assays for N-terminal propeptide of type I procollagen reflects degradation of pN-collagen rather than denaturation of intact propeptide." Ann Clin Biochem**47**(Pt 1): 67-71.
- Komori, T., H. Yagi, et al. (1997). "Targeted disruption of Cbfa1 results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts." Cell**89**(5): 755-64.
- Kong, Y. Y., H. Yoshida, et al. (1999). "OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis." Nature**397**(6717): 315-23.

- Koos, R., T. Krueger, et al. (2009). "Relation of circulating Matrix Gla-Protein and anticoagulation status in patients with aortic valve calcification." Thromb Haemost**101**(4): 706-13.
- Krishnan, V., H. U. Bryant, et al. (2006). "Regulation of bone mass by Wnt signaling." J Clin Invest**116**(5): 1202-9.
- Lacey, D. L., W. J. Boyle, et al. (2012). "Bench to bedside: elucidation of the OPG-RANK-RANKL pathway and the development of denosumab." Nat Rev Drug Discov**11**(5): 401-19.
- Lacey, D. L., H. L. Tan, et al. (2000). "Osteoprotegerin ligand modulates murine osteoclast survival in vitro and in vivo." Am J Pathol**157**(2): 435-48.
- Lacey, D. L., E. Timms, et al. (1998). "Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation." Cell**93**(2): 165-76.
- Lafage-Proust M. H. (2009). "[Peut-on optimiser l'évaluation du statutosseux chez l'insuffisant rénal par des explorations complémentaires ?]" Actualités néphrologiques Flammarion Médecine Sciences
- Lafage-Proust M.H. (2011). Rein-echos**9** 8/1/Best of Rein-echos - LIGUE REIN ET SANTE
- Lehmann, G., G. Stein, et al. (2005). "Specific measurement of PTH (1-84) in various forms of renal osteodystrophy (ROD) as assessed by bone histomorphometry." Kidney Int**68**(3): 1206-14.
- Li, X., Y., Yang, et al. (2006). "Role of the sodium-dependant phosphate cotransporter, Pit-1, in vascular smooth muscle cell calcification." Circulation Research**98**(7): 905-12.
- Lomashvili, K. A., W. Khawandi, et al. (2005). "Reduced plasma pyrophosphate levels in hemodialysis patients." J Am Soc Nephrol**16**(8): 2495-500.
- London, G. M., A. P. Guerin, et al. (2003). "Arterial media calcification in end-stage renal disease: impact on all-cause and cardiovascular mortality." Nephrol Dial Transplant**18**(9): 1731-40.
- London, G. M., C. Marty, et al. (2004). "Arterial calcifications and bone histomorphometry in end-stage renal disease." J Am Soc Nephrol**15**(7): 1943-51.
- London, G. M. (2008) "The kidney-bone vascular axis in chronic kidney disease." Medscape Nephrology
- London, G. M. (2009). "Bone-vascular axis in chronic kidney disease: a reality?" Clin J Am Soc Nephrol**4**(2): 254-7.
- Luo G, et al.(1997). "Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein". Nature**386**: 78-81.

- Lopez, I., F. J. Mendoza, et al. (2008). "The effect of calcitriol, paricalcitol, and a calcimimetic on extraosseous calcifications in uremic rats." Kidney Int**73**(3): 300-7.
- Malluche, H. H., M. C. Monier-Faugere, et al. (2008). "An assessment of cinacalcet HCl effects on bone histology in dialysis patients with secondary hyperparathyroidism." Clin Nephrol**69**(4): 269-78.
- Malluche, H. H., H. W. Mawad, et al. (2010). "Renal osteodystrophy in the first decade of the new millennium: analysis of 630 bone biopsies in black and white patients." J Bone Miner Res**26**(6): 1368-76.
- Mares, J., K. Ohlidalova, et al. (2009). "Determinants of prevalent vertebral fractures and progressive bone loss in long-term hemodialysis patients." J Bone Miner Metab**27**(2): 217-23.
- Massart, C., A.S. Gauchez (2012). "[Parathormone (PTH): Immunoanalytical characteristics]." Immuno-analyse et Biologie Spécialisée **27**(2): 79-82
- Matsuoka, M., K. Iseki, et al. (2004). "Impact of high coronary artery calcification score (CACS) on survival in patients on chronic hemodialysis." Clin Exp Nephrol**8**(1): 54-8.
- Mendoza, J. M., T. Isakova, et al. (2012). "Fibroblast growth factor 23 and Inflammation in CKD." Clin J Am Soc Nephrol**7**(7): 1155-62.
- Mirams, M., B. G. Robinson, et al. (2004). "Bone as a source of FGF23: regulation by phosphate?" Bone**35**(5): 1192-9.
- Mittalhenkle, A., D. L. Gillen, et al. (2004). "Increased risk of mortality associated with hip fracture in the dialysis population." Am J Kidney Dis**44**(4): 672-9.
- Moe, S., T. Drueke, et al. (2006). "Definition, evaluation, and classification of renal osteodystrophy: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO)." Kidney Int**69**(11): 1945-53.
- Moe, S. M. and N. X. Chen (2008). "Mechanisms of vascular calcification in chronic kidney disease." J Am Soc Nephrol**19**(2): 213-6.
- Moe, S. M., D. Duan, et al. (2003). "Uremia induces the osteoblast differentiation factor Cbfa1 in human blood vessels." Kidney Int**63**(3): 1003-11.
- Moe, S. M., M. Reslerova, et al. (2005). "Role of calcification inhibitors in the pathogenesis of vascular calcification in chronic kidney disease (CKD)." Kidney Int**67**(6): 2295-304.
- Morena, M., N. Terrier, et al. (2006). "Plasma osteoprotegerin is associated with mortality in hemodialysis patients." J Am Soc Nephrol**17**(1): 262-70.
- Morony, S., Y. Tintut, et al. (2008). "Osteoprotegerin inhibits vascular calcification without affecting atherosclerosis in *ldlr*(-/-) mice." Circulation**117**(3): 411-20.
- Murshed, M., T. Schinke, et al. (2004). "Extracellular matrix mineralization is regulated locally; different roles of two gla-containing proteins." J Cell Biol**165**(5): 625-30.

- Nakai, K., H. Komaba, et al. "New insights into the role of fibroblast growth factor 23 in chronic kidney disease." J Nephrol**23**(6): 619-25.
- Nakashima, K., X. Zhou, et al. (2002). "The novel zinc finger-containing transcription factor osterix is required for osteoblast differentiation and bone formation." Cell**108**(1): 17-29.
- Navez-Diaz, M., D. Alvarez-Fernandez, et al. (2008). "Oral active vitamin D is associated with improved survival in hemodialysis patients." Kidney Int**74**(8): 1070-78.
- Neer, R. M., C. D. Arnaud, et al. (2001). "Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis." N Engl J Med**344**(19): 1434-41.
- Neven, E., V. Persy, et al. (2010). "Chondrocyte rather than osteoblast conversion of vascular cells underlies medial calcification in uremic rats." Arterioscler Thromb Vasc Biol**30**(9): 1741-50.
- Nguyen-Yamamoto, L., L. Rousseau, et al. (2001). "Synthetic carboxyl-terminal fragments of parathyroid hormone (PTH) decrease ionized calcium concentration in rats by acting on a receptor different from the PTH/PTH-related peptide receptor." Endocrinology**142**(4): 1386-92.
- Nickolas, T. L., S. Shirazian, et al. (2010). "High-resolution computed tomography imaging: a virtual bone biopsy." Kidney Int**77**(11): 1046.
- Nitta, K., T. Akiba, et al. (2004). "Assessment of coronary artery calcification in hemodialysis patients using multi-detector spiral CT scan." Hypertens Res**27**(8): 527-33.
- Okuno, S., M. Inaba, et al. (2005). "Serum levels of C-terminal telopeptide of type I collagen: a useful new marker of cortical bone loss in hemodialysis patients." Osteoporos Int**16**(5): 501-9.
- Okuno, S., E. Ishimura, et al. (2007). "Presence of abdominal aortic calcification is significantly associated with all-cause and cardiovascular mortality in maintenance hemodialysis patients." Am J Kidney Dis**49**(3): 417-25.
- Ott, S. M. (2009). "Review article: Bone density in patients with chronic kidney disease stages 4-5." Nephrology (Carlton)**14**(4): 395-403.
- Panuccio, V., R. Tripepi, et al. (2004). "Heart valve calcifications, survival, and cardiovascular risk in hemodialysis patients." Am J Kidney Dis**43**(3): 479-84.
- Papadopouli, A. E., C. N. Klonaris, et al. (2008). "Role of OPG/RANKL/RANK axis on the vasculature." Histol Histopathol**23**(4): 497-506.
- Qunibi, W., M. Moustafa, et al. (2008). "A 1-year randomized trial of calcium acetate versus sevelamer on progression of coronary artery calcification in hemodialysis patients with comparable lipid control: the Calcium Acetate Renagel Evaluation-2 (CARE-2) study." Am J Kidney Dis**51**(6): 952-65.

- Raggi, P. and G. James (2004). "Coronary calcium screening and coronary risk stratification." Curr Atheroscler Rep**6**(2): 107-11.
- Raggi, P., G. M. Chertow, et al. (2011). "The ADVANCE study: a randomized study to evaluate the effects of cinacalcet plus low-dose vitamin D on vascular calcification in patients on hemodialysis." Nephrol Dial Transplant**26**(4): 1327-39.
- Regidor, D. L., C. P. Kovesdy, et al. (2008). "Serum alkaline phosphatase predicts mortality among maintenance hemodialysis patients." J Am Soc Nephrol**19**(11): 2193-203.
- REIN-Rapport annuel 2010. Registre français des traitements de suppléance de l'insuffisance rénale chronique
- Reynolds, J. L., A. J. Joannides, et al. (2004). "Human vascular smooth muscle cells undergo vesicle-mediated calcification in response to changes in extracellular calcium and phosphate concentrations: a potential mechanism for accelerated vascular calcification in ESRD." J Am Soc Nephrol**15**(11): 2857-67.
- Rodriguez-Garcia, M., C. Gomez-Alonso, et al. (2009). "Vascular calcifications, vertebral fractures and mortality in haemodialysis patients." Nephrol Dial Transplant**24**(1): 239-46.
- Rodriguez, M., E. Aguilera-Tejero, et al. (2008). "Effects of calcimimetics on extraskeletal calcifications in chronic kidney disease." Kidney Int Suppl(111): S50-4.
- Roman-Garcia, P., N. Carrillo-Lopez, et al. (2010). "High phosphorus diet induces vascular calcification, a related decrease in bone mass and changes in the aortic gene expression." Bone**46**(1): 121-8.
- Saldana Chaparro, R. M. (2008). "Evaluation of the Biomedica serum osteoprotegerin and the soluble receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand assays." Annals of Clin Biochem**45**Suppl 1): 45.
- Sarnak, M. J., A. S. Levey, et al. (2003). "Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: a statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention." Circulation**108**(17): 2154-69.
- Schoppet, M., J. R. Schaefer, et al. (2003). "Low serum levels of soluble RANK ligand are associated with the presence of coronary artery disease in men." Circulation**107**(11): e76; author reply e76.
- Schulz, E., K. Arfai, et al. (2004). "Aortic calcification and the risk of osteoporosis and fractures." J Clin Endocrinol Metab**89**(9): 4246-53.
- Shaw, L. J., P. Raggi, et al. (2003). "Prognostic value of cardiac risk factors and coronary artery calcium screening for all-cause mortality." Radiology**228**(3): 826-33.
- Shidara, K., M. Inaba, et al. (2008). "Serum levels of TRAP5b, a new bone resorption marker unaffected by renal dysfunction, as a useful marker of cortical bone loss in hemodialysis patients." Calcif Tissue Int**82**(4): 278-87.

- Shroff, R. C. and C. M. Shanahan (2007). "The vascular biology of calcification." Semin Dial**20**(2): 103-9.
- Schurgers, L. J., et al. (2007). "Regression of warfarin-induced medial elastocalcinosis by high intake of vitamin K in rats." Blood**109**: 2823-31.
- Simonet, W. S., D. L. Lacey, et al. (1997). "Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density." Cell**89**(2): 309-19.
- Slatopolsky, E., J. Finch, et al. (2000). "A novel mechanism for skeletal resistance in uremia." Kidney Int**58**(2): 753-61.
- Souberbielle, J. C., A. Boutten, et al. (2006). "Inter-method variability in PTH measurement: implication for the care of CKD patients." Kidney Int**70**(2): 345-50.
- Souberbielle, J. C., E. Cavalier, et al. "Interpretation of serum parathyroid hormone concentrations in dialysis patients: what do the KDIGO guidelines change for the clinical laboratory?" Clin Chem Lab Med**48**(6): 769-74.
- Souberbielle, J. C., G. Friedlander, et al. (2006). "Practical considerations in PTH testing." Clin Chim Acta**366**(1-2): 81-9.
- Speer, G., B. C. Fekete, et al. (2008). "Serum osteoprotegerin level, carotid-femoral pulse wave velocity and cardiovascular survival in haemodialysis patients." Nephrol Dial Transplant**23**(10): 3256-62.
- Sprague, S. M. (2010). "Renal bone disease." Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes**17**(6): 535-9.
- Stehman-Breen, C. O., D. J. Sherrard, et al. (2000). "Risk factors for hip fracture among patients with end-stage renal disease." Kidney Int**58**(5): 2200-5.
- Stein, M. S., D. K. Packham, et al. (1996). "Prevalence and risk factors for osteopenia in dialysis patients." Am J Kidney Dis**28**(4): 515-22.
- Suda, T., N. Takahashi, et al. (1999). "Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families." Endocr Rev**20**(3): 345-57.
- Tanko, L. B., C. Christiansen, et al. (2005). "Relationship between osteoporosis and cardiovascular disease in postmenopausal women." J Bone Miner Res**20**(11): 1912-20.
- Tanno, Y., K. Yokoyama, et al. (2003). "IRMA (whole PTH) is a more useful assay for the effect of PTH on bone than the Allegro intact PTH assay in CAPD patients with low bone turnover marker." Nephrol Dial Transplant**18 Suppl 3**: iii97-8.
- Tentori, F., M.J. Blayney, et al. (2008). "Mortality risk for dialysis patients with different levels of serum calcium, phosphorus, and PTH: the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS)." Am J Kidney Dis**52**(3): 519-30.

- Theoleyre, S., Y. Wittrant, et al. (2004). "The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling." Cytokine Growth Factor Rev**15**(6): 457-75.
- Torres, A., V. Lorenzo, et al. (1995). "Bone disease in predialysis, hemodialysis, and CAPD patients: evidence of a better bone response to PTH." Kidney Int**47**(5): 1434-42.
- Turner, C. H. and F. M. Pavalko (1998). "Mechanotransduction and functional response of the skeleton to physical stress: the mechanisms and mechanics of bone adaptation." J Orthop Sci**3**(6): 346-55.
- Tyson, K. L., J. L. Reynolds, et al. (2003). "Osteo/chondrocytic transcription factors and their target genes exhibit distinct patterns of expression in human arterial calcification." Arterioscler Thromb Vasc Biol**23**(3): 489-94.
- Udagawa, N., N. Takahashi, et al. (2000). "Osteoprotegerin produced by osteoblasts is an important regulator in osteoclast development and function." Endocrinology**141**(9): 3478-84.
- Urakawa, I., Y. Yamazaki, et al. (2006). "Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23." Nature**444**(7120): 770-4.
- Urena, P., O. Bernard-Poenaru, et al. (2003). "Bone mineral density, biochemical markers and skeletal fractures in haemodialysis patients." Nephrol Dial Transplant**18**(11): 2325-31.
- Urena, P., M. Hruby, et al. (1996). "Plasma total versus bone alkaline phosphatase as markers of bone turnover in hemodialysis patients." J Am Soc Nephrol**7**(3): 506-12.
- Van Campenhout, A. and J. Golledge (2009). "Osteoprotegerin, vascular calcification and atherosclerosis." Atherosclerosis**204**(2): 321-9.
- Varma, R., W. S. Aronow, et al. (2005). "Prevalence of valve calcium and association of valve calcium with coronary artery disease, atherosclerotic vascular disease, and all-cause mortality in 137 patients undergoing hemodialysis for chronic renal failure." Am J Cardiol**95**(6): 742-3.
- Verbeke, F., W. Van Biesen, et al. (2011). "Prognostic value of aortic stiffness and calcification for cardiovascular events and mortality in dialysis patients: outcome of the calcification outcome in renal disease (CORD) study." Clin J Am Soc Nephrol**6**(1): 153-9.
- Watanabe, R., M. M. Lemos, et al. (2010). "Impact of cardiovascular calcification in nondialyzed patients after 24 months of follow-up." Clin J Am Soc Nephrol**5**(2): 189-94.
- Wehrli, F. W., M. B. Leonard, et al. (2004). "Quantitative high-resolution magnetic resonance imaging reveals structural implications of renal osteodystrophy on trabecular and cortical bone." J Magn Reson Imaging**20**(1): 83-9.

- Yamaguchi, T., E. Kanno, et al. (1996). "Retrospective study on the usefulness of radius and lumbar bone density in the separation of hemodialysis patients with fractures from those without fractures." Bone**19**(5): 549-55.
- Yasuda, H., N. Shima, et al. (1998). "Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL." Proc Natl Acad Sci U S A**95**(7): 3597-602.
- Yenchek, R. H., J. H. Ix, et al. (2012). "Bone mineral density and fracture risk in older individuals with CKD." Clin Am J Soc Nephrol**7**(7): 1130-6.
- Zaidi, M., A. M. Inzerillo, et al. (2002). "Forty years of calcitonin--where are we now? A tribute to the work of Iain Macintyre, FRS." Bone**30**(5): 655-63.
- Zimmermann, J., S. Herrlinger, et al. (1999). "Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in hemodialysis patients." Kidney Int**55**(2): 648-58.

SERMENT MEDICAL

Au moment d'être admis (e) à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis (e) dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré (e) et méprisé (e) si j'y manque.

NOM : RAMIREZ

PRÉNOM : Camille

Titre de Thèse : DIAGNOSTIC ET PRONOSTIC DES TROUBLES MINÉRAUX ET OSSEUX ASSOCIÉS AUX MALADIES RÉNALES CHRONIQUES EN HÉMODIALYSE : APPORT DE MARQUEURS CLINIQUES ET BIOLOGIQUES

RÉSUMÉ

Les Troubles Minéraux et Osseux associés aux Maladies Rénales Chroniques (TMO-MRC), sont responsables d'un risque accru de fractures, de complications cardiovasculaires et de décès, en particulier au stade de l'hémodialyse. Les recommandations de bonnes pratiques cliniques KDIGO® (*Kidney Disease : Improving Global Outcomes*) ont été publiées dans l'optique d'améliorer la prise en charge des TMO-MRC et de promouvoir la recherche dans ce domaine.

Afin de déterminer les meilleurs marqueurs diagnostiques et prédictifs des fractures, des complications vasculaires et du décès, nous avons mené une étude transversale et longitudinale (1 an) dans une population de patients hémodialisés du CHU de Nantes. Nous avons dosé des marqueurs biologiques du métabolisme phosphocalcique et osseux, effectué des examens ostéodensitométriques et des radiologies du rachis dorso-lombaire.

Notre étude montre 1/ que la diminution de la densité minérale osseuse est significativement associée à la présence de fractures, 2/ que des concentrations sériques élevées de parathormone et de phosphatases alcalines osseuses sont significativement associées à la survenue de fractures et 3/ que la maladie cardiovasculaire et la dénutrition sont significativement associées au décès. Ces résultats sont cohérents avec les données de la littérature.

Malgré le fait que les concentrations sériques d'ostéocalcine soient plus élevées chez les hémodialisés que dans la population générale en raison de l'insuffisance rénale, elles étaient significativement moins élevées dans la population de patients ayant développé des complications cardiovasculaires. Ce marqueur serait ainsi prédictif de la survenue de ces complications. Ce résultat, nouveau, est particulièrement intéressant. Néanmoins, nous avons travaillé sur un faible échantillon (n=59) ; il nécessite donc d'être confirmé sur une plus grande cohorte.

MOTS-CLÉS

TMO-MRC, KDIGO®, HÉMODIALYSE, MARQUEURS BIOCHIMIQUES OSSEUX, OSTÉODENSITOMÉTRIE