

Atelier B2 - collaboration du CNBH - Modérateur : Hana.Talabani-Boizot

Biomarqueurs du remodelage osseux : conditions d'utilisation et intérêts en clinique

Marie-Hélène Lafage-Proust^a, Amélie Moreau^b, Yannick Tholance^c

a- Sainbiose, Inserm U1059, 42055, Saint-Etienne ; Service de rhumatologie, CHU Saint-Etienne, 42270, Saint-Priest-en-Jarez

b- Laboratoire de biochimie et pharmacologie, Secteur Biochimie, CHU Saint-Etienne, 42270, Saint-Priest-en-Jarez

c- Laboratoire de biochimie et pharmacologie, Secteur Biochimie, CHU Saint-Etienne, 42270, Saint-Priest-en-Jarez



Plan

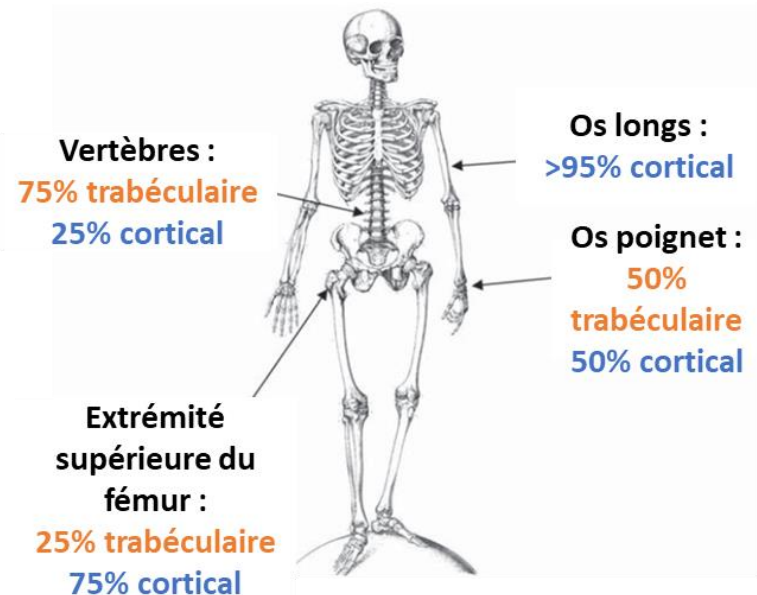
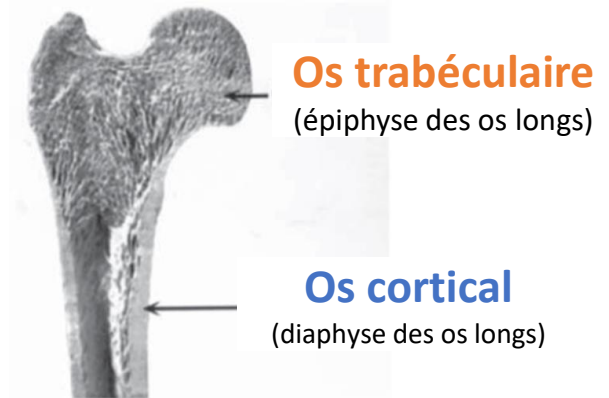
- Rappels sur le tissu osseux : rôles et structure
- Remodelage osseux et sa régulation
- Evolution de la masse osseuse, ostéoporose et physiopathologie
- Biomarqueurs du remodelage osseux
 - Marqueurs de résorption, de formation et autres marqueurs
 - Types de dosages
 - Sources de variabilité de ces marqueurs et recommandations associées
 - Indications de ces marqueurs :
 - **Ostéodystrophie dans l'insuffisance rénale chronique : Pr. Marie-hélène Lafage-Proust**
 - **Anorexie mentale et retentissement osseux : Dr. Amélie Moreau**

Introduction

- Tissu osseux : **association d'éléments inorganiques (ions calcium et phosphates) + matrice organique protéique (collagène +++)** => rigidité du squelette
- Rôles : soutien/protection des organes, locomotion, **homéostasie phosphocalcique, fonction hématopoïétique (moelle osseuse)**
- Os adulte : continuellement soumis à des remaniements = **remodelage osseux** (alternance de résorption/formation osseuse)
- **Remodelage osseux** :
 - processus complexe faisant intervenir des **cellules spécialisées** (ostéoclastes, ostéoblastes, ostéocytes) et dont la régulation fait intervenir des **facteurs systémiques hormonaux et des facteurs locaux**
 - Intégrité du squelette et la régulation de l'homéostasie phosphocalcique dépendent étroitement de cet équilibre résorption/formation
 - Déséquilibre résorption/formation : **perte de masse osseuse, fragilisation des os et risque de fracture => ostéopénie/ostéoporose**

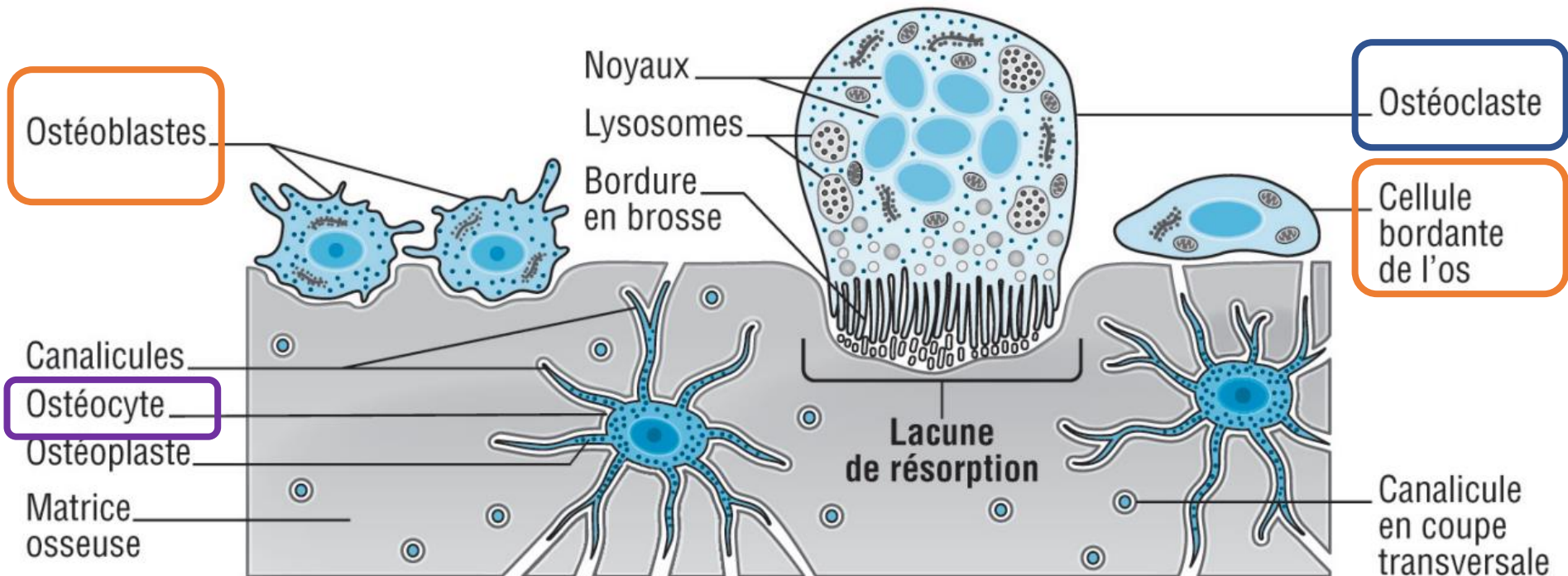
Tissu osseux : structure

- Tissu osseux = tissu conjonctif spécialisé constitué de cellules dispersées dans une matrice extracellulaire abondante pouvant se calcifier => rigidité
- Deux grands types :
 - **Os cortical ou lamellaire** : 80-95% du squelette ; matrice osseuse = 90% du volume ; rôle plus mécanique/protection
 - **Os trabéculaire ou spongieux** : ≈ 15% du squelette ; occupé majoritairement par le tissu hématopoïétique ; matrice osseuse = 15-25% ; rôle prépondérant dans les échanges métaboliques (équilibre phosphocalcique) => renouvellement 5x > os cortical => plus fragile en cas de déséquilibre



Tissu osseux : cellules osseuses

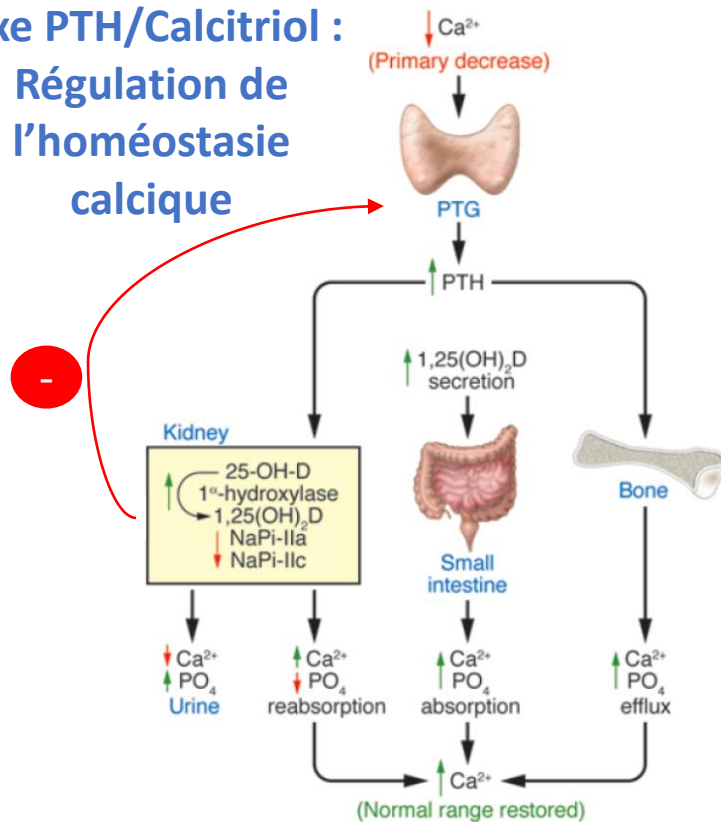
- **Impliquées dans le remodelage osseux** : **ostéoclastes** (cellules souches hématopoïétiques – lignée monocytes/macrophages) ; **ostéoblastes** (cellules souches d'origine mésenchymateuses) ; **ostéocytes** (95% des cellules, initiation et contrôle cellulaire du remodelage osseux)
- **Rôle direct dans l'homéostasie phosphocalcique** (sécrétion FGF23) par ostéocytes/ostéoblastes



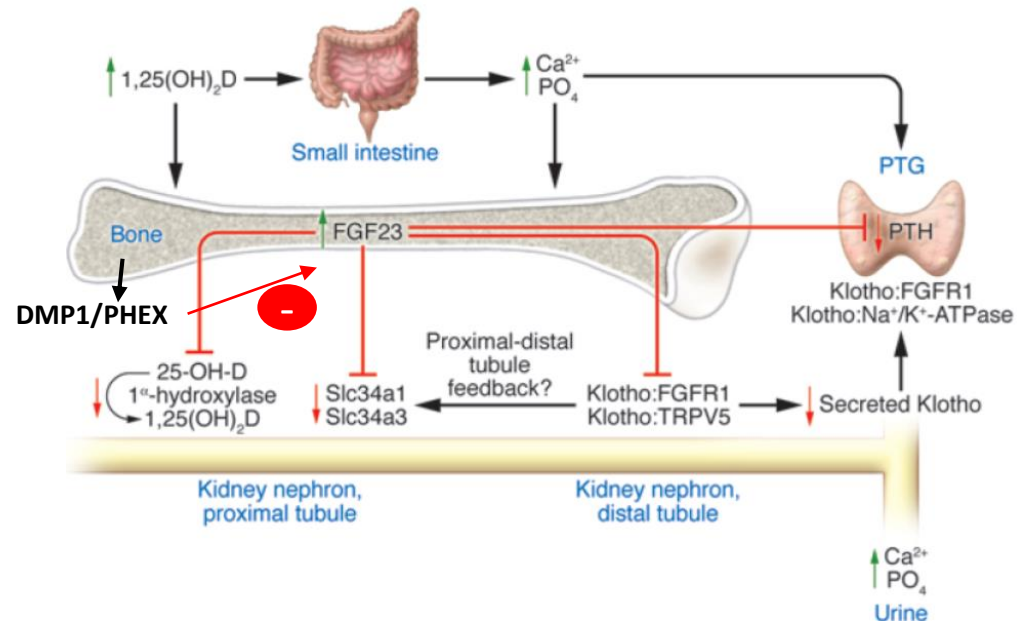
Tissu osseux et homéostasie phosphocalcique

- Tissu osseux : rôle fondamental dans cet équilibre, **99% des réserves de calcium et 90% des réserves de phosphates de l'organisme**
- Echanges permanent entre le squelette et les autres tissus **grâce au remodelage osseux** : mise en réserve / apport (≈ 300 mg/jour)

Axe PTH/Calcitriol : Régulation de l'homéostasie calcique

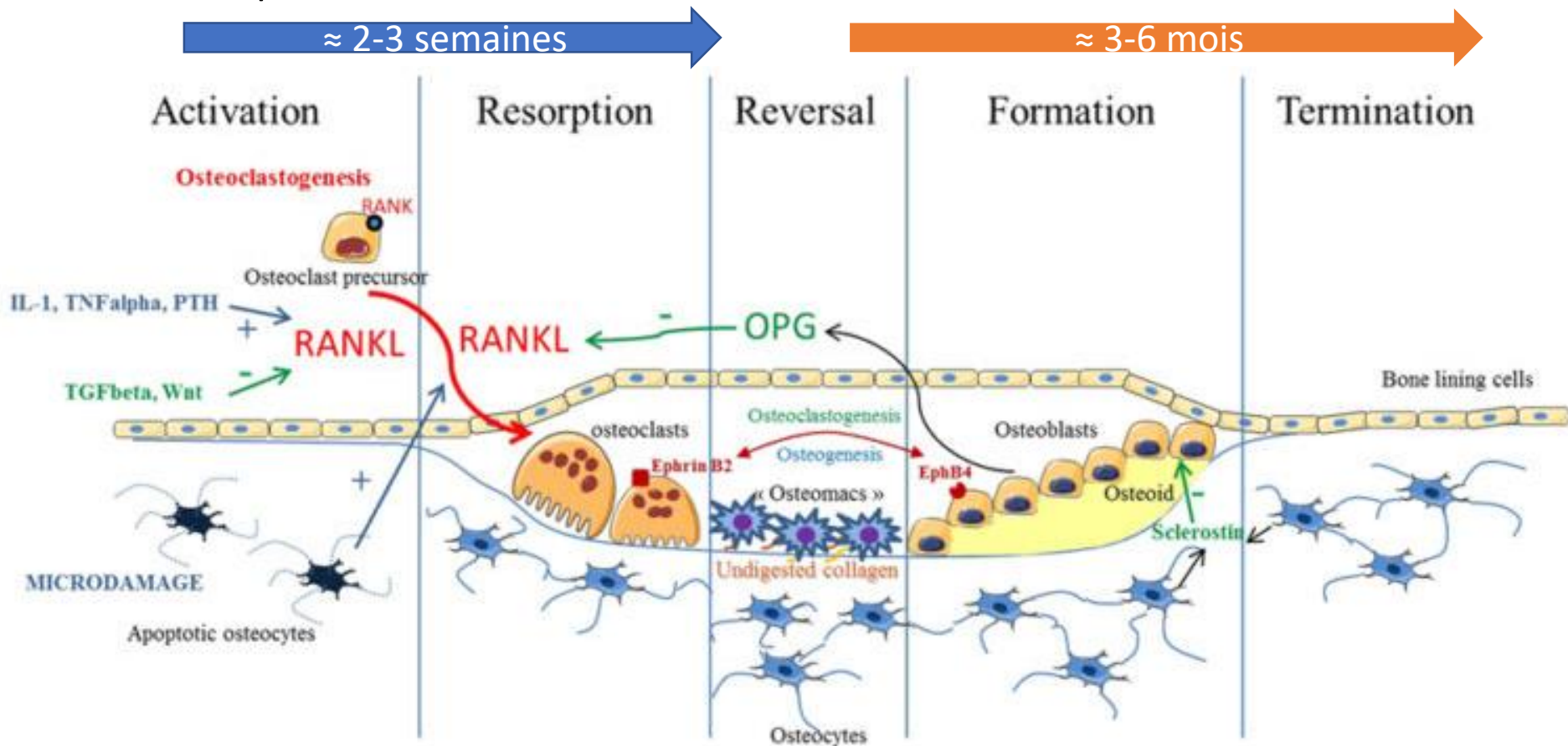


Axe FGFR23/Klotho : Régulation de l'homéostasie phosphatémique (contre l'action HRCa et HRPPh de l'excès de calcitriol)



Remodelage osseux

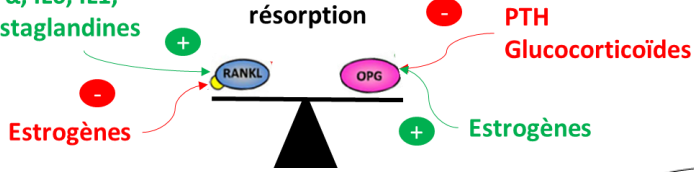
- Différentes phases successives couplés dans le temps et dans l'espace faisant intervenir des unités fonctionnelles de remodelage (BMU) composées d'un ensemble multicellulaire associant OC/OB/ostéocytes
- 10% du squelette adulte renouvelé /an



Remodelage osseux : régulation

PTH, PTHrp, Calcitriol
Glucocorticoïdes
TNF α , IL6, IL1,
Prostaglandines

Activité de
résorption



Ostéocytes

DKK1, Sclérostine

PTH

TGF β

Cellule souche
hématopoïétique

MCP1
M-CSF
RANKL

Préostéoclastes

M-CSF
RANKL

Ostéoclastes
matures

H⁺ CTSK MMP
TRAP5b

Produits de dégradation du
collagène I : CTX/NTX, crosslink

Ostéoclastogénèse

Cellule souche
mésenchymateuse

TGF β , IGF

Préostéoblastes

RunX2
Wnt
BMP

Ostéoblastes
matures

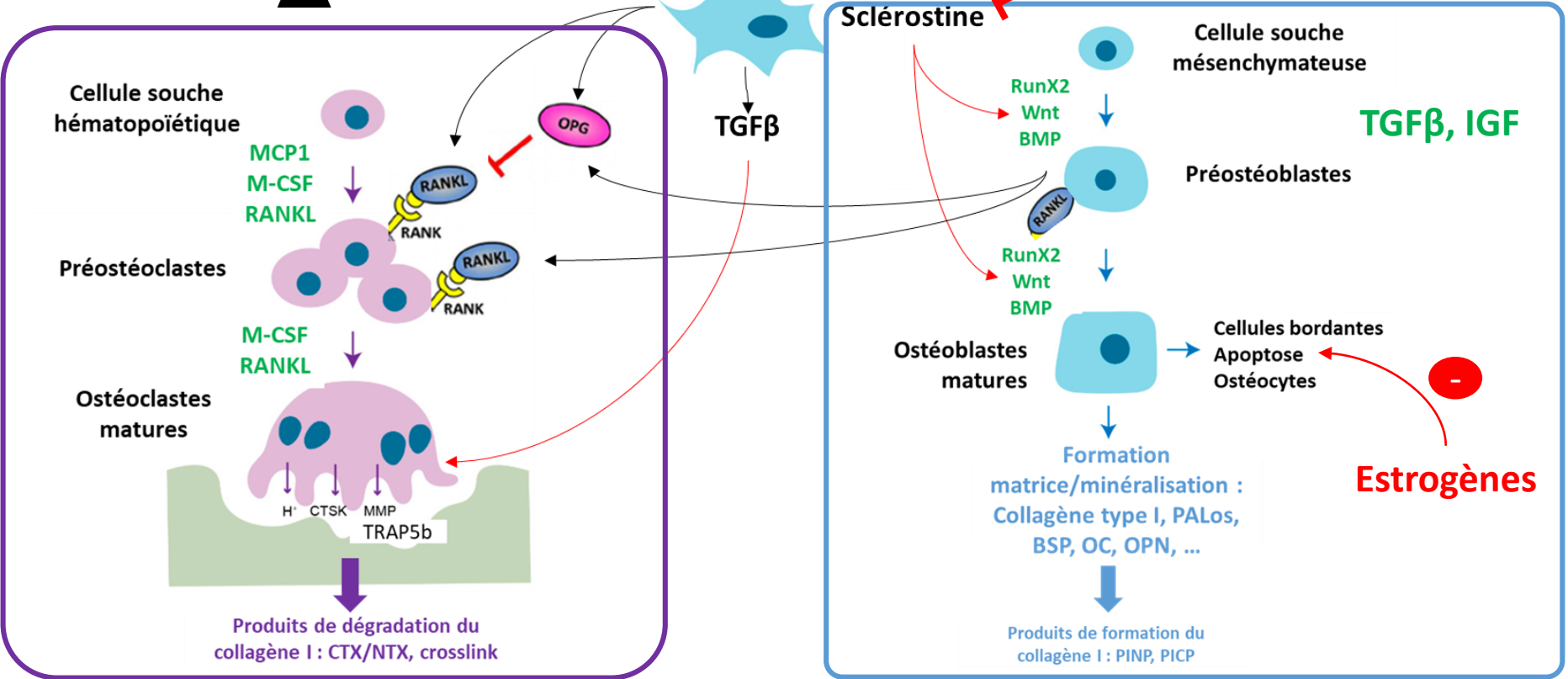
Cellules bordantes
Apoptose
Ostéocytes

Estrogènes (-)

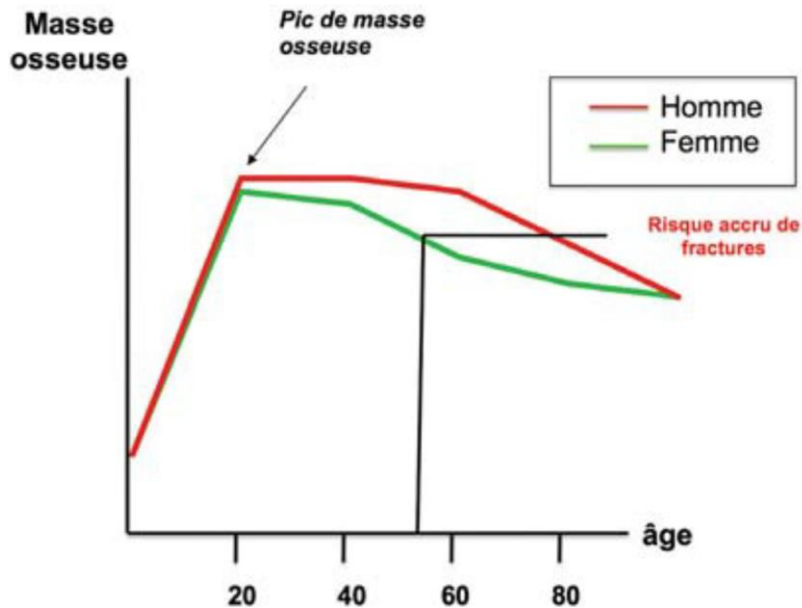
Formation
matrice/minéralisation :
Collagène type I, PALos,
BSP, OC, OPN, ...

Produits de formation du
collagène I : PINP, PICP

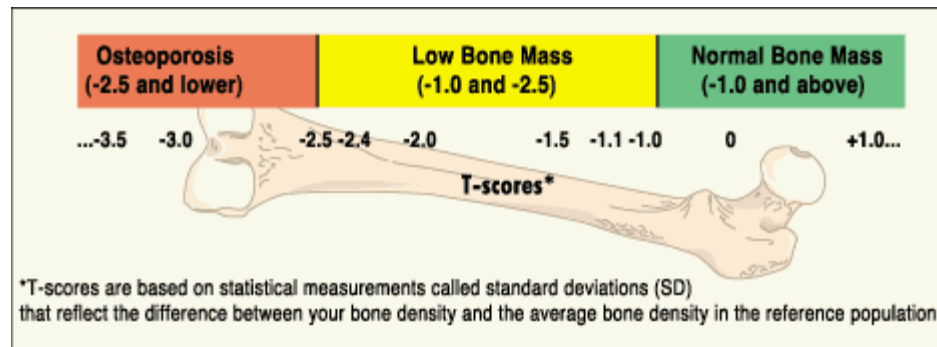
Ostéoblastogénèse



Masse osseuse et ostéoporose



- Mesure de la densité minérale osseuse (absorptiométrie biphotonique aux rayons-X)



- **Ostéoporose = diminution de la densité de l'os et détérioration de sa micro-architecture (fragilité, risque de fracture)**



- Physiopathologie/étiologies :
 - Déséquilibre entre résorption/formation
 - **Période péri-post ménopausique** : carence estrogénique (\searrow OPG, \nearrow RANKL)
 - **Viellissement** : insuffisance en VitD et HRparathyroïdie secondaire, diminution production de facteurs de croissance
 - **Ostéoporoses secondaires** : hypercorticismes d'origine iatrogène ou lié au syndrome de Cushing, HRpara I, HRthyroïdie, acromégalie, PR, myélome multiple, etc...

Biomarqueurs du remodelage osseux

Reflet du métabolisme et du remodelage au niveau osseux

Formation osseuse	Résorption osseuse	Régulateurs du remodelage osseux
<i>Sérum/plasma</i>	<i>Sérum/plasma</i>	<i>Sérum/Plasma</i>
Propeptide N-term du procollagène de type I (PINP)	Télopeptide C-term du collagène de type I (CTX-I)	RANKL
Ostéocalcine (OC)	Isoforme 5b de la phosphatase acide tartrate-résistante sérique (TRAP5b)	OPG
Phosphatase alcaline osseuse (PALos)	Cathepsine K	Dickkopf-1 (DDK-1)
Propeptide C-term du procollagène de type I (PICP)	<i>Urine</i>	Sclérostine
	Télopeptide C et N-term du collagène de type I (CTX-I et NTX-I)	Protéines SIBLING (Small Integrin Binding Ligand N-linked Glycoprotein) : sialoprotéine osseuse (BSP), Osteopontin (OP)
	Crosslinks : Desoxypyridinoline (DPD), Pyridinoline (PYD)	Périostine
	Calcium	FGF23 / klotho
	Hydroxyproline/hydroxylysine	
	Fragments de l'ostéocalcine	

Types de dosage

Dosages automatisés (immunodosages)

Liaison XL -Diasorin



PALos
OC
Sclérostine (RUO)
FGF23

Module immuno Roche



CTX-I
P1NP total
OC
FGF23 (RUO)

Immulite - Siemens



OC
DPD

ISYS - IDS



CTX-I
P1NP intact
OC
PALos
TRAP5b

VITROS - Ortho



NTX

Dosages manuels ou autres méthodes

Immunodosages : ELISA, RIA
HPLC

CTX, PINP, Dpd, NTX	NABM	B69 (7310)
PALos	NABM	B90 (7309)
OC	NABM	B85 (1138)
FGF23	RIHN	24,3 (I061)
OPG	Liste compl	35,1 (k185)

Sources de variabilité

Pré-analytique

- Sources liées aux patients
- Sources liées aux prélèvements et à l'échantillon biologique



Analytique

- Variation intra et inter laboratoire



Post-analytique

- Interprétation sans la prise en compte de ces sources de variabilité



Alliance nationale pour la santé osseuse (NBHA) : recommandations sur la standardisation des prélèvements biologiques et la préparation des patients
Szulc et al. Ann Biol Clin (2018); 76(4):373-91.



Recommandations IOF/IFCC : s-PINP et s-CTX = référence ; standardisation/harmonisation
Vasikaran et al. Osteoporos Int (2011);22:391-420
Bhattoa et al. Clinica Chimica Acta (2021);515:16-20.

Table 2 Analytical performance specification (APS) for imprecision (CV_{APS}) and bias (B_{APS}) and reference change values (RCV) based on the biological variation (BV) estimates as reported in Table 1

	CV _{APS} (%) ^a	B _{APS} (%) ^b	RCV (%) ^c decrease; increase
OC	4.5	8.4	-19.2; 23.8
MGP	3.5	3.9	-20.3; 25.4
PINP	4.4	9.2	-19.9; 24.8
β-CTX	7.6	12.6	-30.8; 44.5
FGF23	7.0	7.5	-28.7; 40.2

Cavalier et al. Osteoporos Int (2020);31(8):1461-1470

Sources de variabilité pré-analytiques liées aux patients

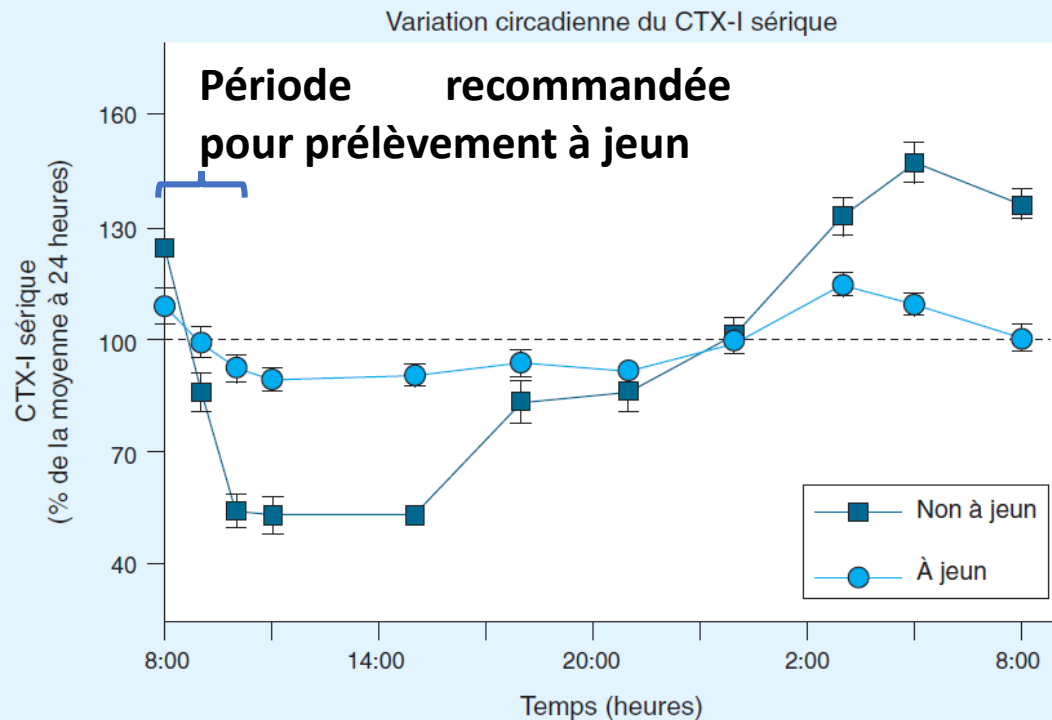
En général : marqueurs de formation < marqueurs de résorption et sérum/plasma < urine

Déterminants contrôlables	Déterminants incontrôlables
Variation circadienne	Age et sexe
Alimentation	Statut ménopausique
Cycle menstruel	Grossesse, allaitement
Saison	Géographie, ethnicité
Exercice physique	Variation journalière intra-individuelle
Mode de vie	Insuffisance rénale (privilégier PALos, PINP intact, TRAP5b)
	Situations avec remodelage élevé : HRpara I, HRthyroïdie, acromégalie, déficit en VitD, immobilisation, Fracture, maladie de Paget
	Situations avec remodelage bas : HOthyroïdie, HOparath, Déficit en GH,
	Patho avec dissociation : PR, myélome, Cushing, Crohn, Patho hépatique, VIH
	Traitements

Sources de variabilité pré-analytiques

En général : marqueurs de formation < marqueurs de résorption et sérum/plasma < urine

Sources liées aux patients



Sources liées aux prélèvements et à l'échantillon biologique

Type d'échantillon : plasma EDTA > sérum (surtout pour CTX)

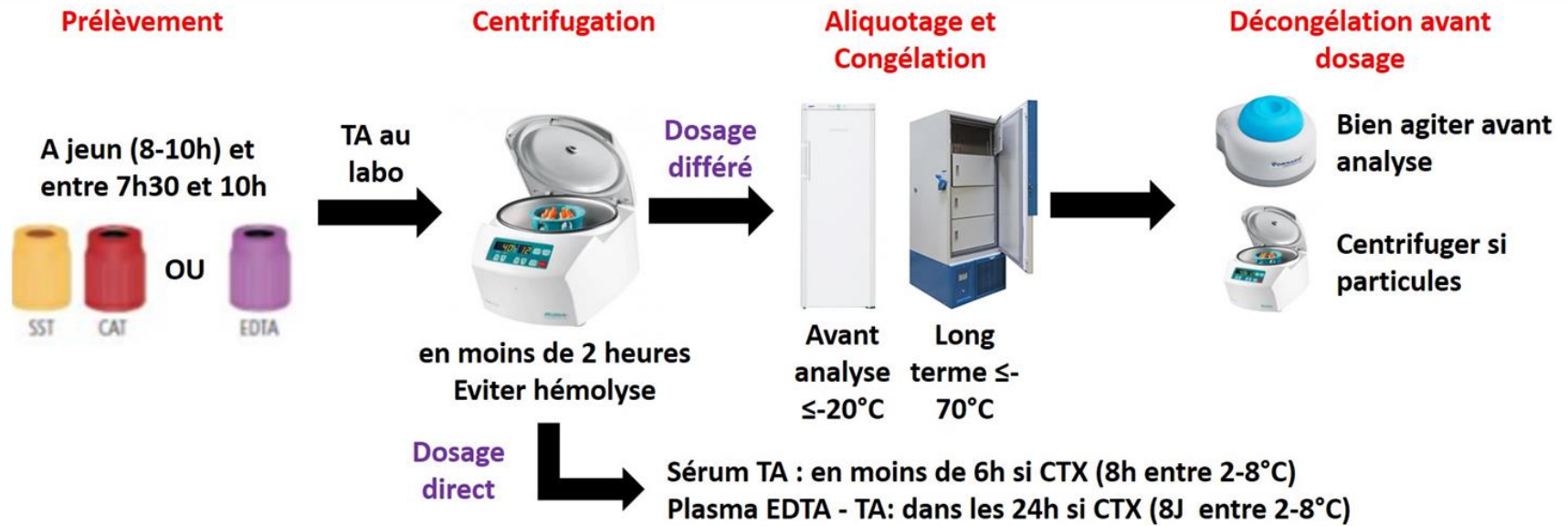
Prélèvement : à jeun le matin (CTX surtout)

Intégrité de l'échantillon : éviter hémolyse

Conditions de stockage avant et après analyse : centrifugation et congélation rapide à -20°C (long terme -70°C)

Sources de variabilité => recommandations

Standardisation de la préparation des patients et du traitement des échantillons



Bilan plus large (optimiser interprétation BTM et rechercher ostéoporose secondaire) :

- Bilan phosphocalcique (calcémie totale et corrigée, phosphorémie, PTH, 25-hydroxyvitamine D, calciurie, PALtotale)
- Bilan rénal (créatinine et DFG)
- Bilan hormonal (TSH, cortisol libre urinaire, IGF1)
- NFS, Electrophorèse des protéines sériques
- Autres bilans en fonction de la clinique

Valeurs de référence en fonction de l'âge, du sexe et du statut ménopausique à indiquer sur le CR

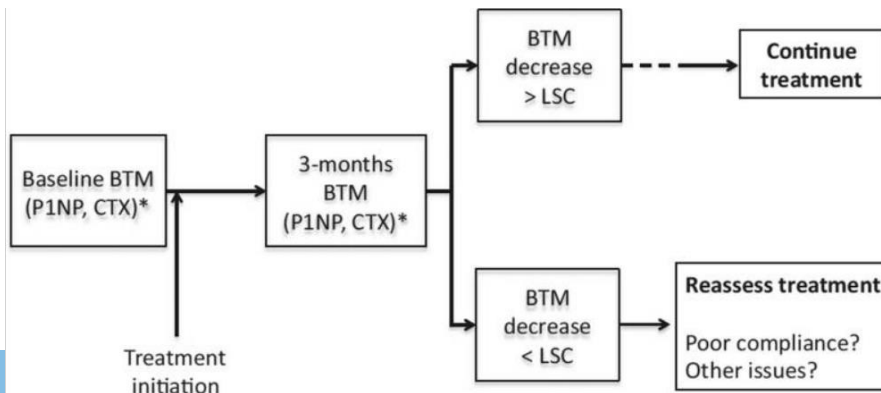
Indications des BTM

Ostéoporose post-ménopausique

- Diagnostic : pas d'intérêt
- Aide à la décision thérapeutique
 - Identification des femmes avec un risque important de fractures et celles qui répondront de manière plus efficace aux traitements
 - données controversées avec valeurs ajoutées limitées donc non recommandées dans cette indication
- **Suivi des traitements :**
 - **évaluation de l'efficacité des traitements**
 - **Amélioration de l'observance**

Autres applications

- Ostéoporose masculine : données limitées
- Détection et suivi d'ostéoporose/ostéopénie secondaire à d'autres pathologies ou traitement
 - Maladie de Paget : PALtotale, PALos, PINP (suivi de l'activité et de l'efficacité du traitement)
 - Métastases osseuses
 - Autres pathologies avec retentissement osseux : **insuffisance rénale et ostéodystrophie et anorexie mentale**
 - ...



Algorithm IOF-ECTS - bisphosphonate
Lorentzon et al. Adv Ther (2019);36(10):2811-2824.