

FAUT-IL MODIFIER LES RECOMMANDATIONS KDOQI SUR BASE DES PHOSPHATASES ALCALINES ET DE LEURS ISOFORMES ?

N. GILLAIN*, P. CAMBIER**, C. NÈVE*, J.-M. MINON*, X. WARLING**.

*Laboratoire et **Service d'Hémodialyse, CHR de la Citadelle, Boulevard du 12^{ème} de Ligne, 4000 Liège, Belgique. Auteur correspondant : nicole.gillain@chrcitadelle.be

L'ostéodystrophie rénale :

- ensemble des perturbations du métabolisme phosphocalcique et de ses conséquences sur les os et sur les tissus mous (calcifications au niveau des articulations, des vaisseaux et de certains organes);
- liée à une hyperparathyroïdie secondaire provoquant une ostéite fibreuse.

Mode d'action de la PTH

- ↑ la libération de calcium et de phosphore à partir de l'os;
- ↑ la réabsorption tubulaire distale du calcium et ↓ la réabsorption tubulaire proximale du phosphore;
- ↑ 1-α hydroxylase rénale qui transforme la 25-hydroxyvitamine D3 (calcitriol) en 1-25 dihydroxyvitamine D3 (calcitriol), le métabolite actif qui augmente l'absorption intestinale du calcium et exerce un rétrocontrôle sur la sécrétion de PTH.

Physiopathologie de l'hyperparathyroïdie de l'insuffisant rénal (DGFR<30ml/min):

rétenion phosphorée → hyperphosphorémie → diminution production rénale de calcitriol aggravée par la réduction néphronique, l'acidose, les toxines urémiques → malabsorption calcique due au déficit en calcitriol → hypocalcémie favorisée par l'hyperphosphorémie (effet physico-chimique) → augmentation de la production de PTH par les parathyroïdes aggravée par l'état de résistance de ces glandes au rétrocontrôle du calcitriol et de l'hyperphosphorémie, résistance induite par l'urémie elle-même.

Les recommandations de la NKF (National Kidney Foundation) dans les KDOQI (kidney diseases outcome quality initiative) pour ralentir la progression de la maladie :

Maintenir

- PO4 : entre 3.5 et 5.5 mg/dl (1.13 et 1.78 mol/l)
- Ca : entre 8.4 et 9.5 mg/dl (2.1 et 2.37 mmol/l)
- Ca:PO4 : < 55 mg²/dl² (4.5 mmol²/l²)
- PTH : entre 150 et 300 pg/ml.

grâce à un régime pauvre en phosphore, l'administration de chélateurs de P à base de calcium et l'administration de calcitriol.

L'utilisation de chélateurs du P à base de Ca augmente les calcifications coronariennes et aortiques des patients. Une freination excessive des parathyroïdes par Ca et vitamine D peut diminuer le remodelage osseux sans provoquer une ostéopathie fracturaire. Elle peut entraîner une hypercalcémie l'os n'étant plus capable d'amortir les pics calcémiques postprandiaux.

Les nouvelles thérapies :

- usage de chélateurs de phosphates non calciques (sevelamer);
- administration de vitamine D3 ou D2;
- calcimimétiques (cinacalcet) qui se fixent sur les parathyroïdes et facilitent l'action inhibitrice du Ca sur la production de PTH.

Opinions actuelles concernant d'administration de vitamine D3 ou D2 et de calcitriol :

- administration de vitamine D3 ou D2 de manière à maintenir le taux de 25 hydroxy-vitamine D3 >30 ng/ml;
- lorsque la 25 hydroxy-vitamine D3 est >30 ng/ml et que la PTH est >300 pg/ml, administrer du calcitriol.

L'ostéopathie adynamique et l'ostéomalacie iatrogènes ne sont plus observées depuis l'élimination de l'aluminium dans les bains de dialyse et le remplacement des complexants aluminiques des phosphates.

En novembre 2008, le Journal of the American Society of Nephrology publie une étude épidémiologique (73.960 patients de Los Angeles suivis pendant 3 ans) qui démontre, chez l'insuffisant rénal hémodialysé, une association entre une activité élevée des phosphatases alcalines (PAL) et la mortalité toute cause confondue, ceci quels que soient les facteurs de co-morbidité (inflammation, malnutrition, hépatite C), la valeur de PTH et du produit Ca.P. En revanche, une PAL normale ou basse n'est associée à aucun bénéfice. Au cas où cette étude serait confirmée, les recommandations de la National Kidney Foundation dans les KDOQI (kidney diseases outcome quality initiative) pour la prévention de l'ostéodystrophie rénale devraient prendre en considération l'activité des PAL.

L'iso-forme (iso-PAL) responsable de l'augmentation d'activité n'a pas été identifiée dans cette étude.

Nous avons comparé les valeurs observées chez 120 patients du Centre de dialyse du CHR de la Citadelle à Liège aux données américaines, défini leur profil iso-PAL et tenté d'établir une éventuelle corrélation avec la clinique (examen radiologique de la main pour dépistage de l'ostéite fibreuse, de l'abdomen, pour mise en évidence de calcifications vasculaires, existence d'une décompensation cardiaque). Six patients sont décédés au cours des trois mois écoulés entre la réalisation des analyses et le traitement des données.

L'activité de l'isoforme osseux (PALos) est rarement (12%) élevée (> 134 U/L) et est responsable de l'augmentation des PAL chez seulement 37.5% des patients. Ceci est confirmé par le dosage immunologique (Ostase), élevé (>30 µg/l) chez 14% des dialysés et chez 44% des patients avec PAL élevée. D'après nos observations, une isoforme hépatique (PALhep) élevée (>155U/L) associée à une isoforme macromoléculaire (PALmac) et des isoformes intestinales (PALint) augmentées correspond au profil responsable de l'augmentation des PAL. Il est observé avec une fréquence accrue chez les patients souffrant de décompensation cardiaque.

	Lésions osseuses	Calcifications vasculaires	Décompensation cardiaque
PAL < 255 U/L	13	50	23
PAL > 255 U/L	22	58	41

	Lésions osseuses	Calcifications vasculaires	Décompensation cardiaque
PALhep > 155 U/L*	6	40	50
PALos > 134 U/L	14	43	21
PALmac > 8 U/L	18	53	32
PALint > 5 U/L	18	58	30
PALmac + PALint	18	58	42

* PALhep élevée toujours associée à une PAL macro

Isoenzymes et isoformes de la phosphatase alcaline

Les phosphatases alcalines (PAL) sont présentes à la surface de toutes les cellules de l'organisme ancrées à la membrane cellulaire par un lien glycosylphosphatidylinositol (GPI).

Les phosphatases présentes dans le sérum sont produites par trois gènes différents, soit :

- l'isoenzyme "tissu non spécifique", forme ubiquitaire, toujours présente dans le sérum, subit des modifications posttranscriptionnelles portant sur la quantité d'acide sialique en fonction de la cellule productrice.
 - isoforme osseux : riche en acide sialique
 - isoforme hépatique : pauvre en acide sialique
- isoenzyme intestinal sans acide sialique, observé en petite quantité chez certaines personnes (lié au groupe sanguin) ou après repas.
- isoenzyme placentaire pauvre en acide sialique normale chez la femme enceinte.

Dans le sérum, ces isoenzymes circulent :

- sous formes dimériques, dites "solubles";
- liées au glycosylphosphatidylinositol, formes appelées "variants";
- liées à des fragments de membrane, formes appelées "macromoléculaires";
- rarement liées à des immunoglobulines ou des lipoprotéines (Lp-X).

Les isoformes le plus fréquemment observées dans le sérum sont :

- les formes dimériques solubles d'origine hépatique (PALhep) et osseuse (PALos);
- l'isoforme hépatique liée à la membrane cellulaire (PALmacro);
- le variant osseux (PALosv) chez l'enfant;
- l'isoforme intestinal "soluble" et/ou sous forme de variant (PALint).

Séparation des isoformes de la PAL à l'aide des HYDRAGELS 15 ISO-PAL et du semi-automate HYDRASYS (Sebia)

Il est impossible de différencier correctement PALhep et PALos par électrophorèse : il faut utiliser un réactif qui facilite leur séparation. La firme Sebia utilise la lectine de blé qui précipite la PALos.

Chaque échantillon est déposé en double et devant l'un des deux dépôts, on applique de la lectine.

A partir du point d'application vers l'anode, on peut observer :

Dans la piste sans lectine :

- 1 à 3 bandes étroites qui correspondent aux isoformes intestinales (elles sont quantifiées ensemble);
- 1 bande qui correspond à la PALmac ou au variant osseux chez l'enfant;
- une zone très diffuse qui correspond à l'isoenzyme "tissu non spécifique", soit PALhep+PALos.

On peut quantifier ces différentes fractions les unes par rapport aux autres (HYRYS ou système PHORESIS et scan EPSON)

Dans la piste avec lectine :

- près du point d'application, PALos et son variant s'il est présent, bloqués par la lectine;
- les 3 bandes des isoformes intestinales au même niveau que dans la piste sans lectine;
- la bande de la PALmac;
- la partie la plus anodique de la zone PALhep+PALos qui subsiste en présence de lectine : la PALhep.

On quantifie cette fraction par rapport à l'ensemble et on soustrait ce % de la zone PALhep+PALos pour estimer PALos.

Etude de Los Angeles			Valeurs observées chez 120 patients du Centre d'Hémodialyse du CHR de la Citadelle										
PAL (U/L)*	Fréquence en %	Décès (hazard ratio)	Fréquence en %	PTH (pg/ml)	Ca.P (mg ² /dl ²)	Ostase (µg/l)	PAL hep ↑ (%)	PAL os ↑ (%)	PAL macro et/ou int ↑ (%)	Lésions osseuses (%)	Calcifications vasculaires (%)	Décompensation cardiaque (%)	Nombre décès
<120	9	0.88	6	15-737	27-65	4.8-10.8	0	0	14	0	43	14	0
120-160	22	0.91	18.3	89-607	27-75	5.8-18.4	0	0	45	25	45	33	2
160-200	23	1.00	20.8	22-799	26-105	6.5-30.8	0	4	72	13	58	16	0
200-240	16	1.07	20	6-1489	25-118	8.4-35.3	8	0	91	10	48	29	2
240-280	10	1.12	13.3	74-778	22-103	9.6-44.1	19	12	94	14	47	12	1
280-320	6	1.23	10	77-1247	24-69	10.8-48.8	25	33	83	27	73	58	0
320-360	4	1.18	3.3	235-1238	35-65	24.7-44.1	25	50	100	25	75	50	0
>360	11	1.59	8.3	86-1650	32-43	19.3-138.4	70	50	90	11	55	30	1

*intervalles de l'étude américaine ajustées en fonction de notre technique de dosage.

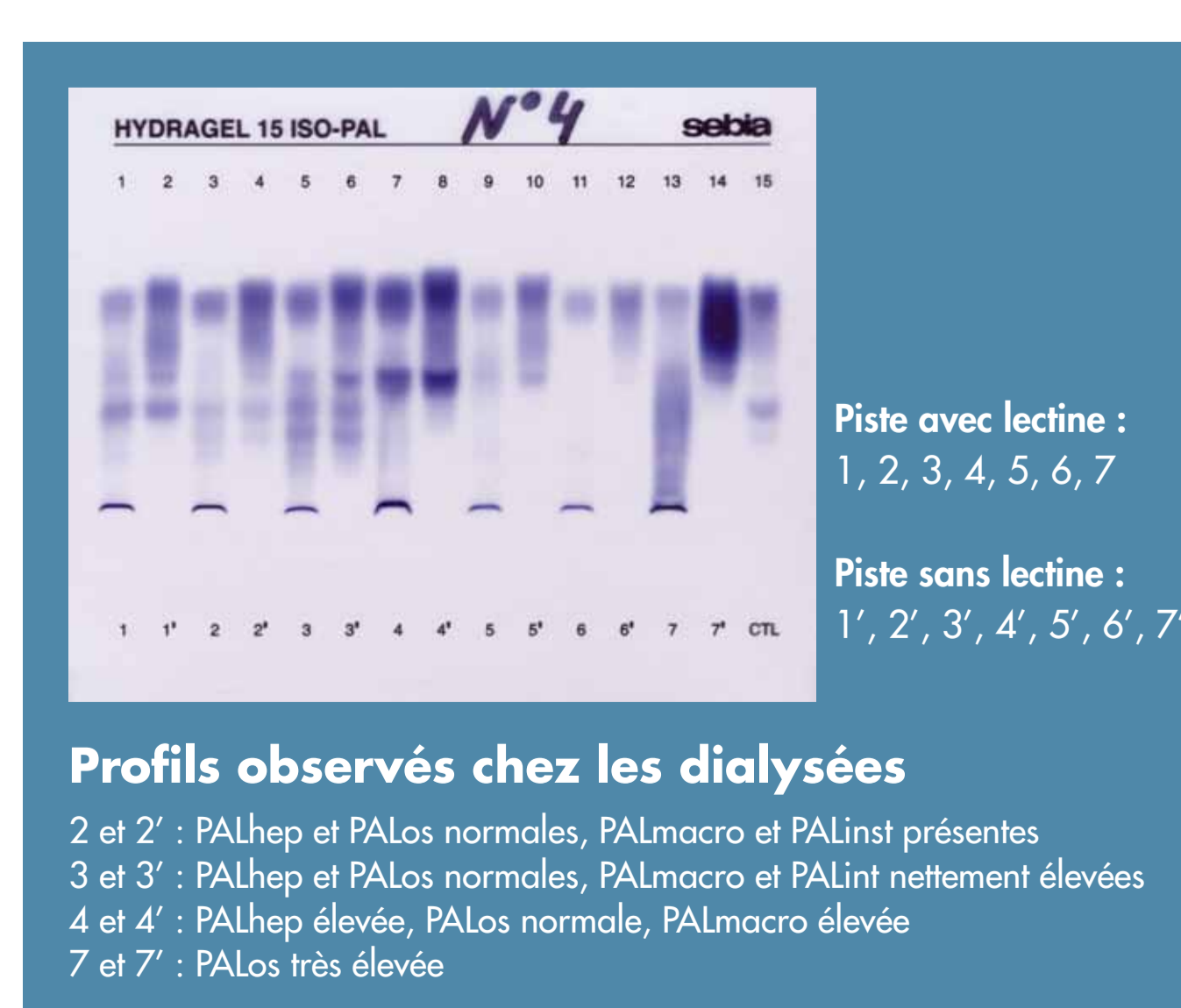
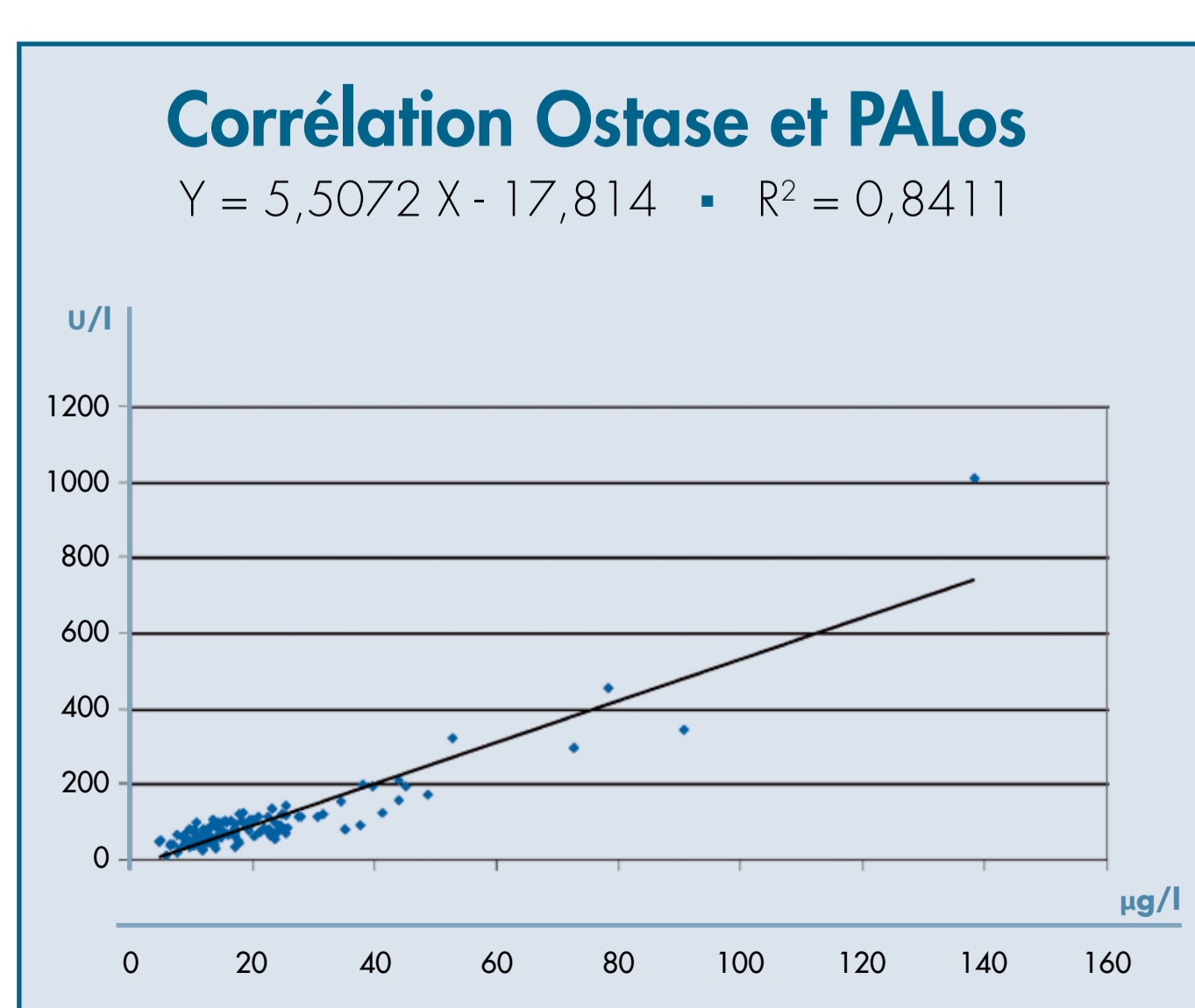
Techniques utilisées pour les différents dosages

Sur le Modular (Module P)

PAL : selon la DGKC, tampon éthanolamine à 37°
ALAT (TGP) : IFCC avec phosphate de pyridoxal à 37°
ASAT (TGO) : IFCC avec phosphate de pyridoxal à 37°
Calcium : ocrésolphthaléine-complexon
Phosphates : formation de phosphomolybdate

Immunodosages par chimiluminescence sur Liaison (Diasorin)

PAL osseuse : kit LIAISON BAP OSTASE
PTH : kit LIAISON Ntact PTH



Profils observés chez les dialysés

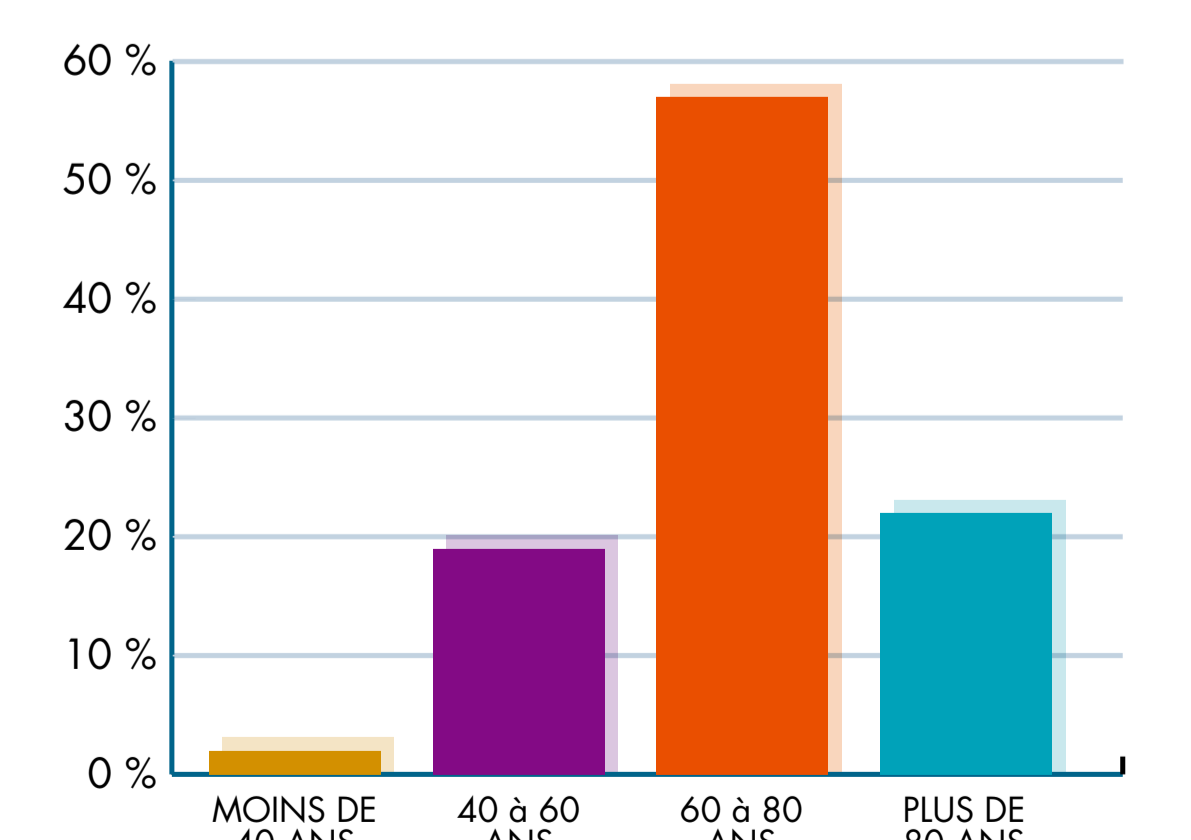
2 et 2' : PALhep et PALos normales, PALmacro et PALint présentes
3 et 3' : PALhep et PALos normales, PALmacro et PALint nettement élevées
4 et 4' : PALhep élevée, PALos normale, PALmacro élevée
7 et 7' : PALos très élevée

Nos patients

- 35 femmes et 85 hommes, âgés de 21 à 90 ans, fréquentant le centre en moyenne depuis 28 mois.

- Certains patients fréquentent notre institution depuis de nombreuses années. 8 d'entre eux étaient présents en 2003. Nous avons déterminé leur iso-PAL et leur Ostase comme marqueurs osseux. Il est intéressant de signaler que PAL et isoPAL étaient normales chez tous ces patients.

Age des patients



Remerciements • A Monsieur Kevin Hackin (3^{ème} année BBM, Haute Ecole Charlemagne, Sart Tilman, Liège) • A Madame Anne Bogdan et Monsieur Jean-Paul Verlaine • Aux techniciens qui ont réalisé les immunodosages, les dosages colorimétriques et enzymatiques • Au personnel infirmier du Centre d'hémodialyse