La PTH dans la régulation phosphocalcique et maladies parathyroïdiennes

Le Havre, le 27 septembre 2022

Dr François Fraissinet et Dr David Guénet,

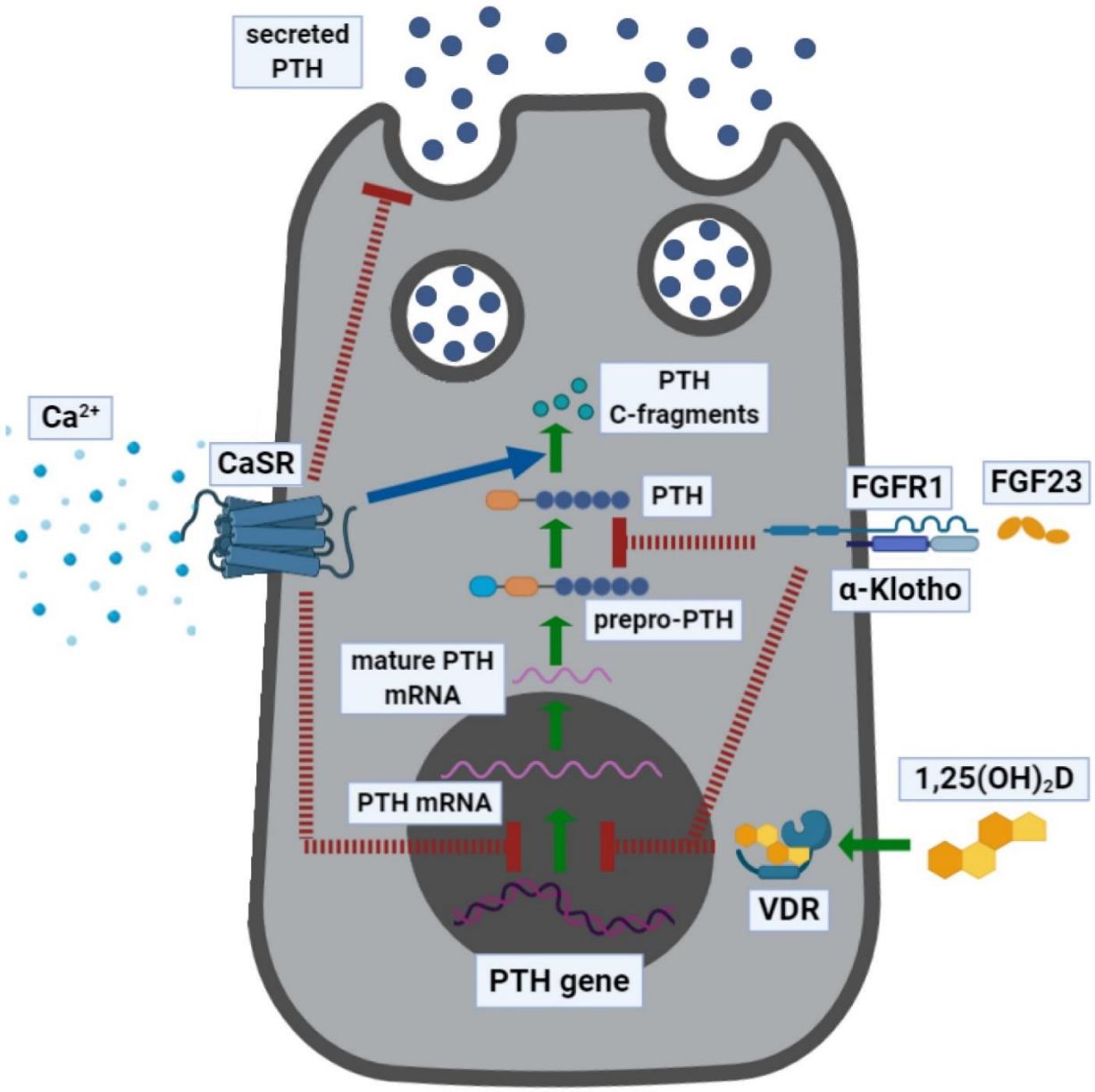
Laboratoire de Biochimie Générale, CHU de Rouen

Laboratoire de Biochimie, CHU de Caen

francois.fraissinet@chu-rouen.fr

guenet-d@chu-caen.fr

Synthèse et régulation de la sécrétion de PTH



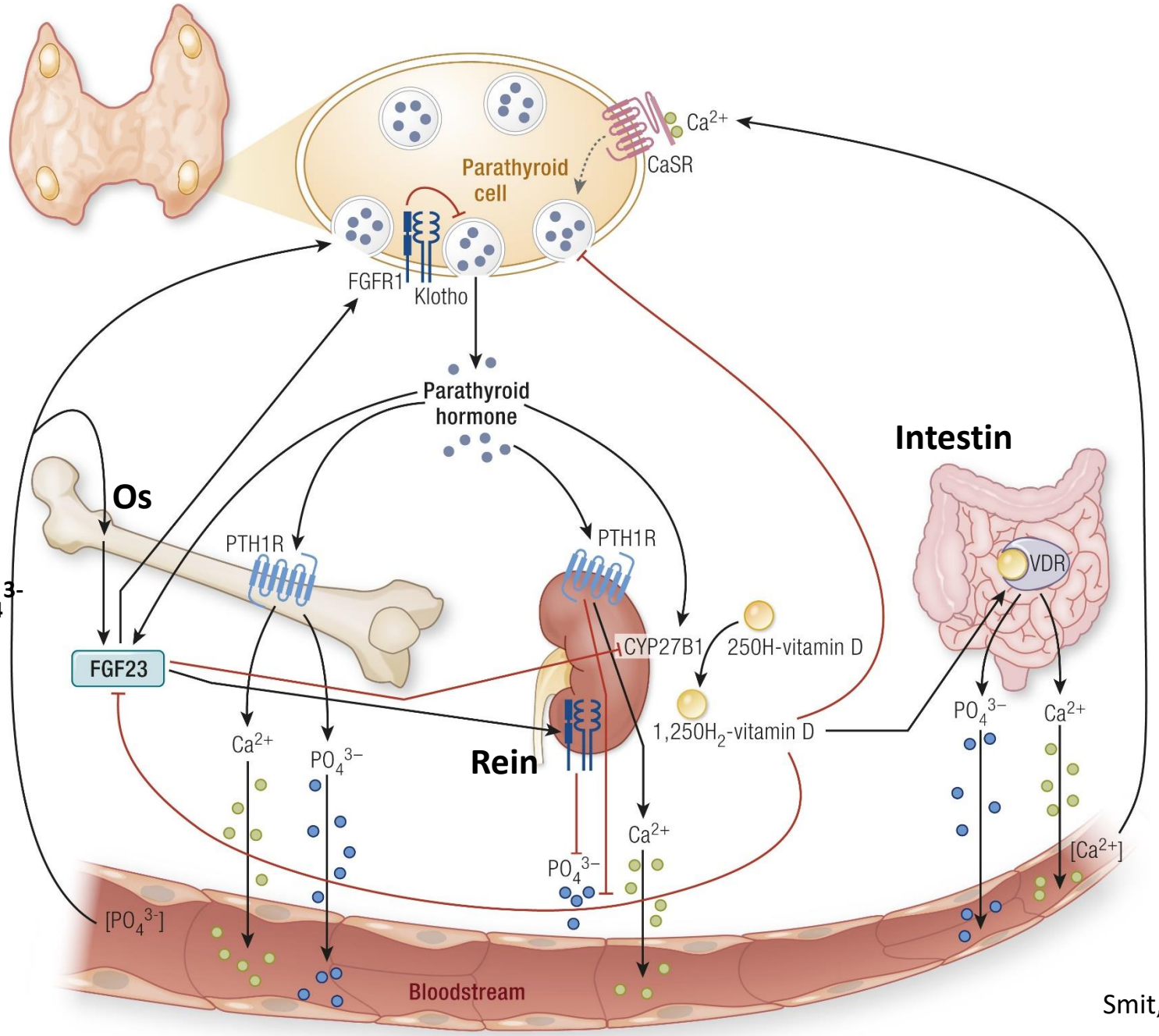
CaSR : Calcium sensor receptor

↗Ca^{2+} ↘PTH

Lombardi, *IJMS*, 2020

Régulation de l'homéostasie du calcium et du phosphore

Hypercalcémiante
Hypophosphorémiante



Relargage Ca^{2+} et PO_4^{3-}

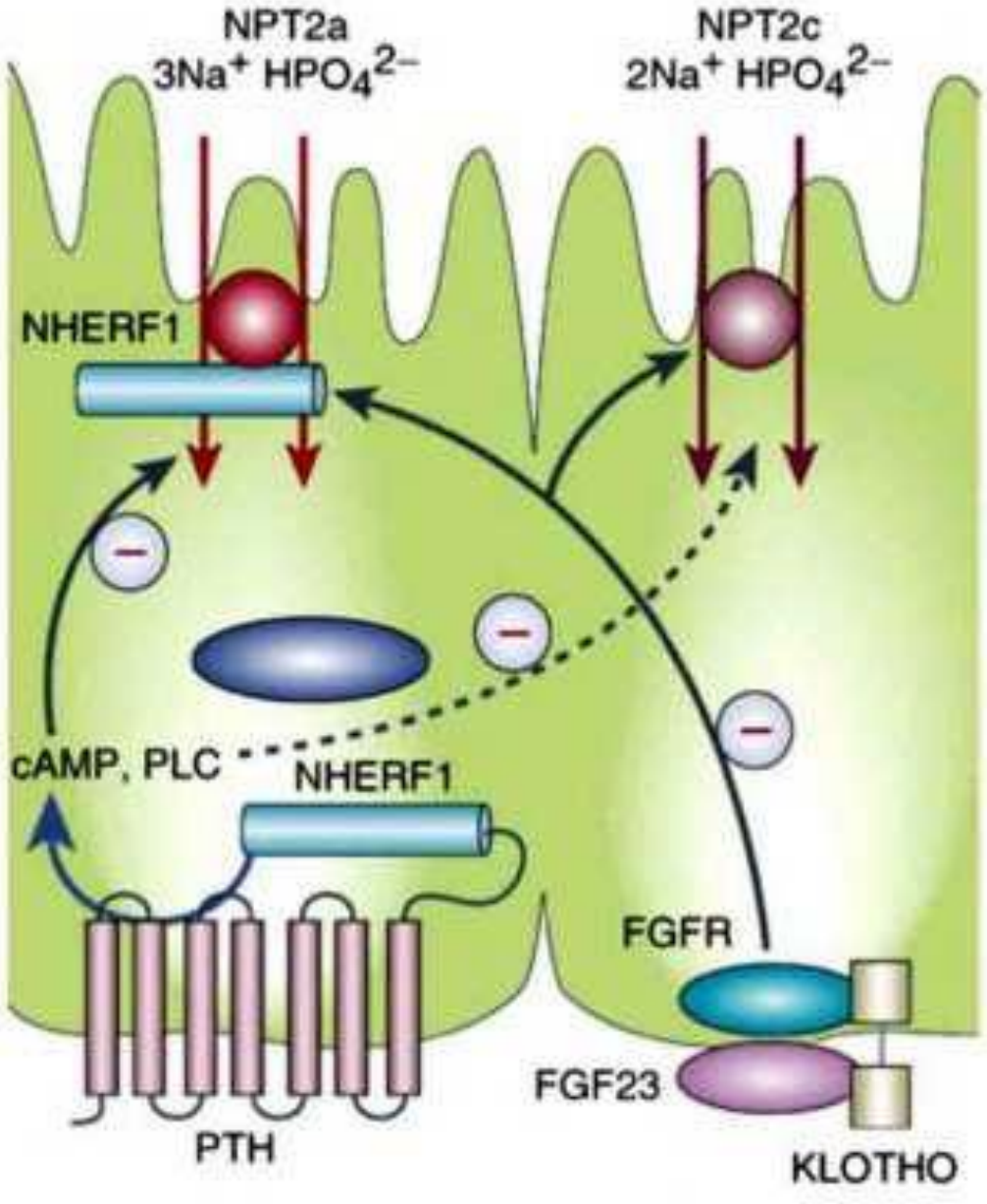
Rein :

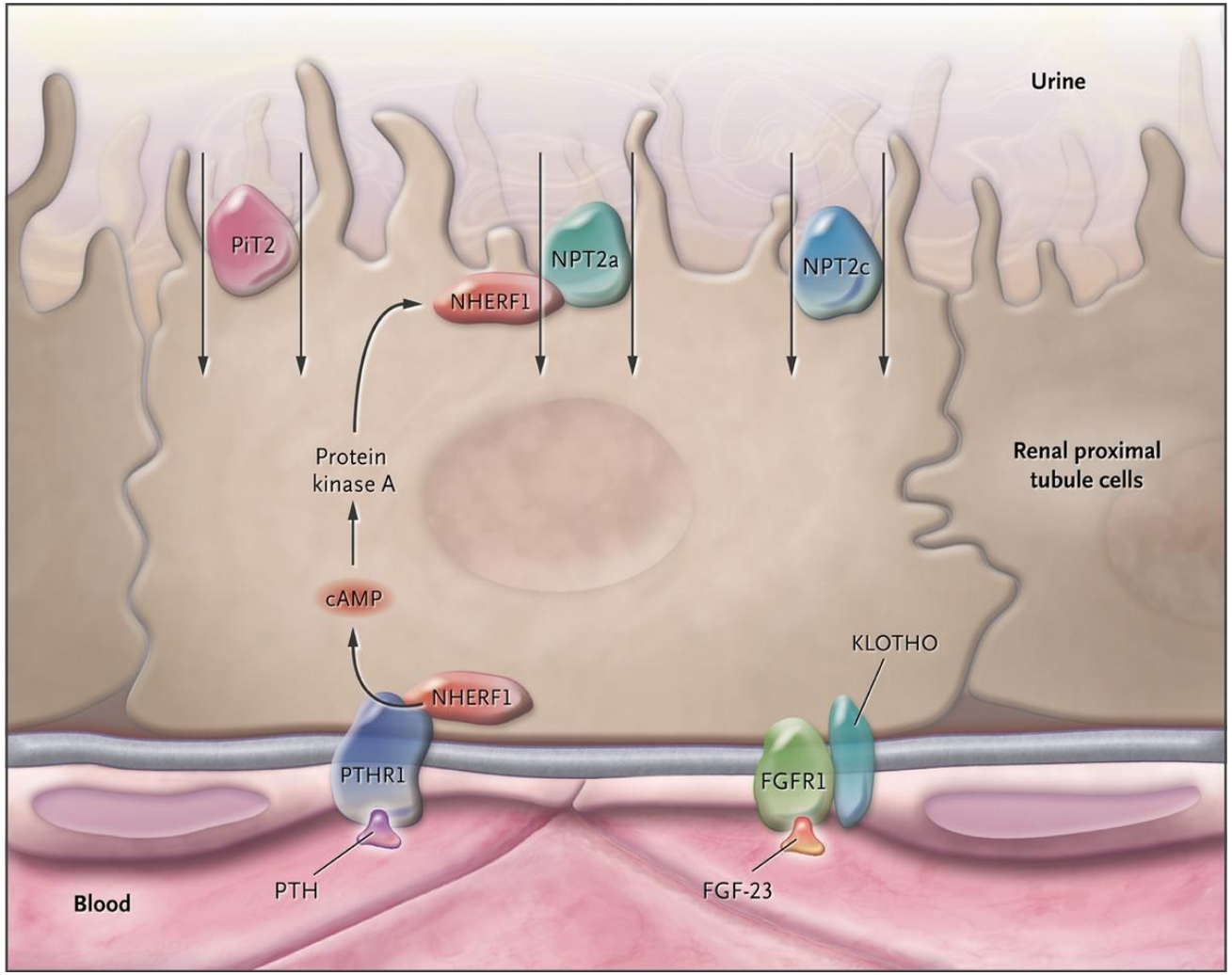
Tube contourné proximal
- Synthèse CYP27B1
- Internalisation NPT2a

Tube contourné distal
- Réabsorption Ca^{2+}

Smit, *Endoc Rev*, 2019

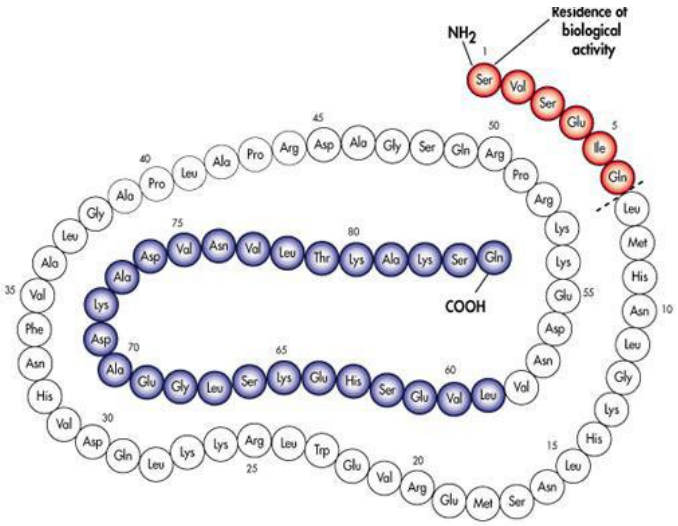
Actions conjointes de la PTH et du FGF23 au niveau rénal





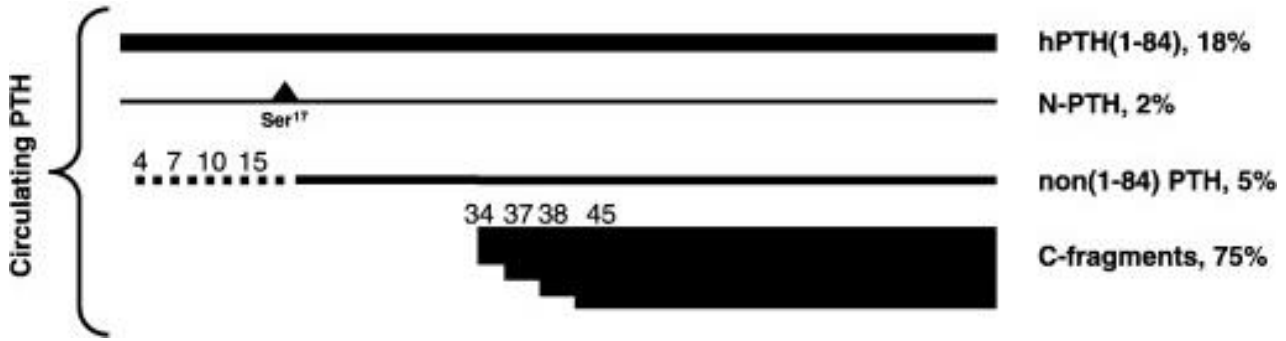
Prié, *NEJM*, 2010

Structure de la PTH, formes circulantes

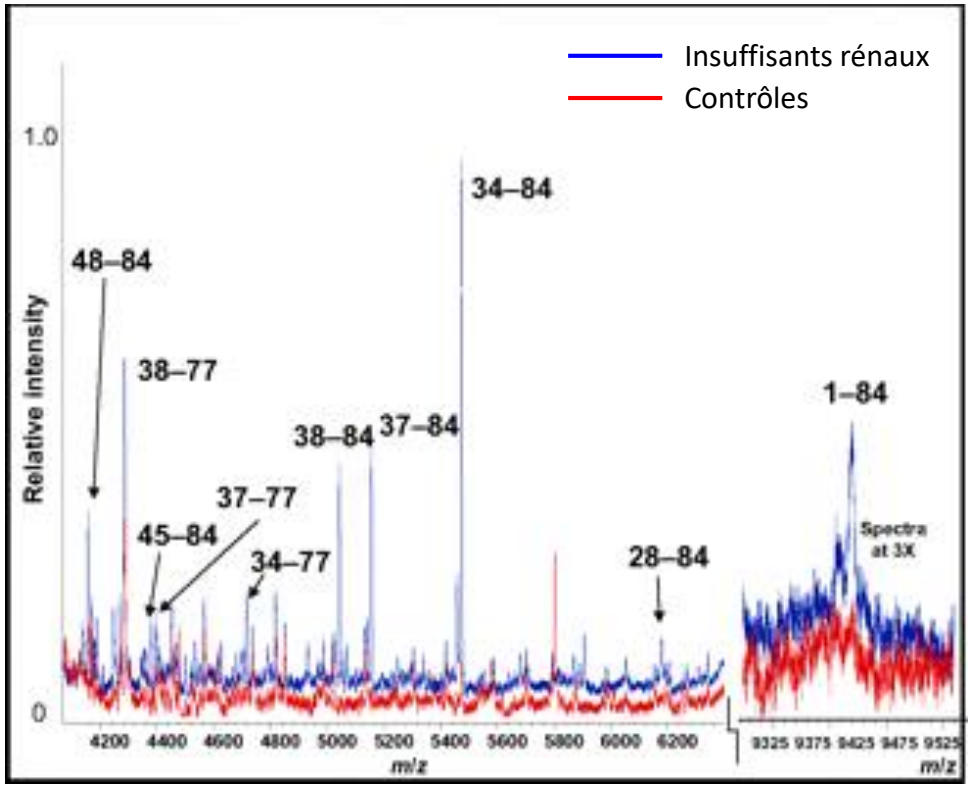


Protéine entière : 84 acides aminés (PTH 1-84)
Premiers acides aminés indispensables à l'activité biologique

Sang : présence de différents fragments circulants



D'Amour, *Clin Biochem*, 2012



Lopez, *Clin Chem*, 2010

Modifications post-traductionnelles

Phosphorylation : sérines 3, 17 et 18,
Position 17 ➔ inactivation Kumar, *ACS Chem Biol*, 2014
« Amino-PTH, N-PTH » : Elévation dans les cancers parathyroïdiens

Oxydation : méthionine 8 et 18

Méthodes de dosage

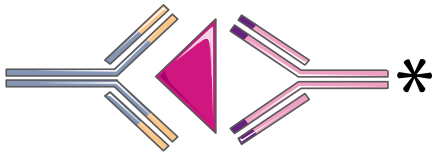
Immunodosages

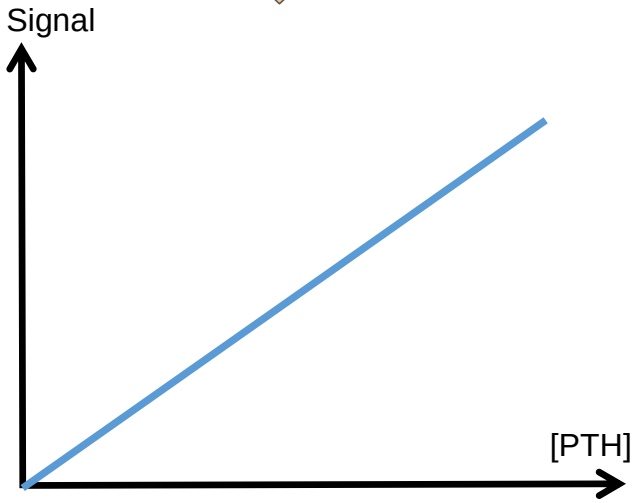
1ère génération : dosages par compétition, anticorps polyclonaux dirigés contre partie C-terminale (53-84 ou 44-68)

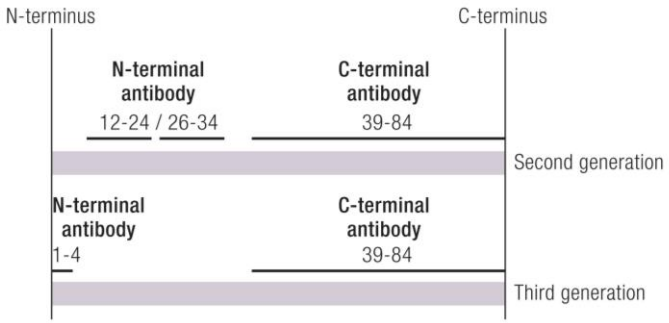
→ **Abandonnés**

2ème génération : méthode sandwich, **PTH intacte**

3ème génération : méthode sandwich, **PTH biointacte**
plus spécifique PTH 1-84





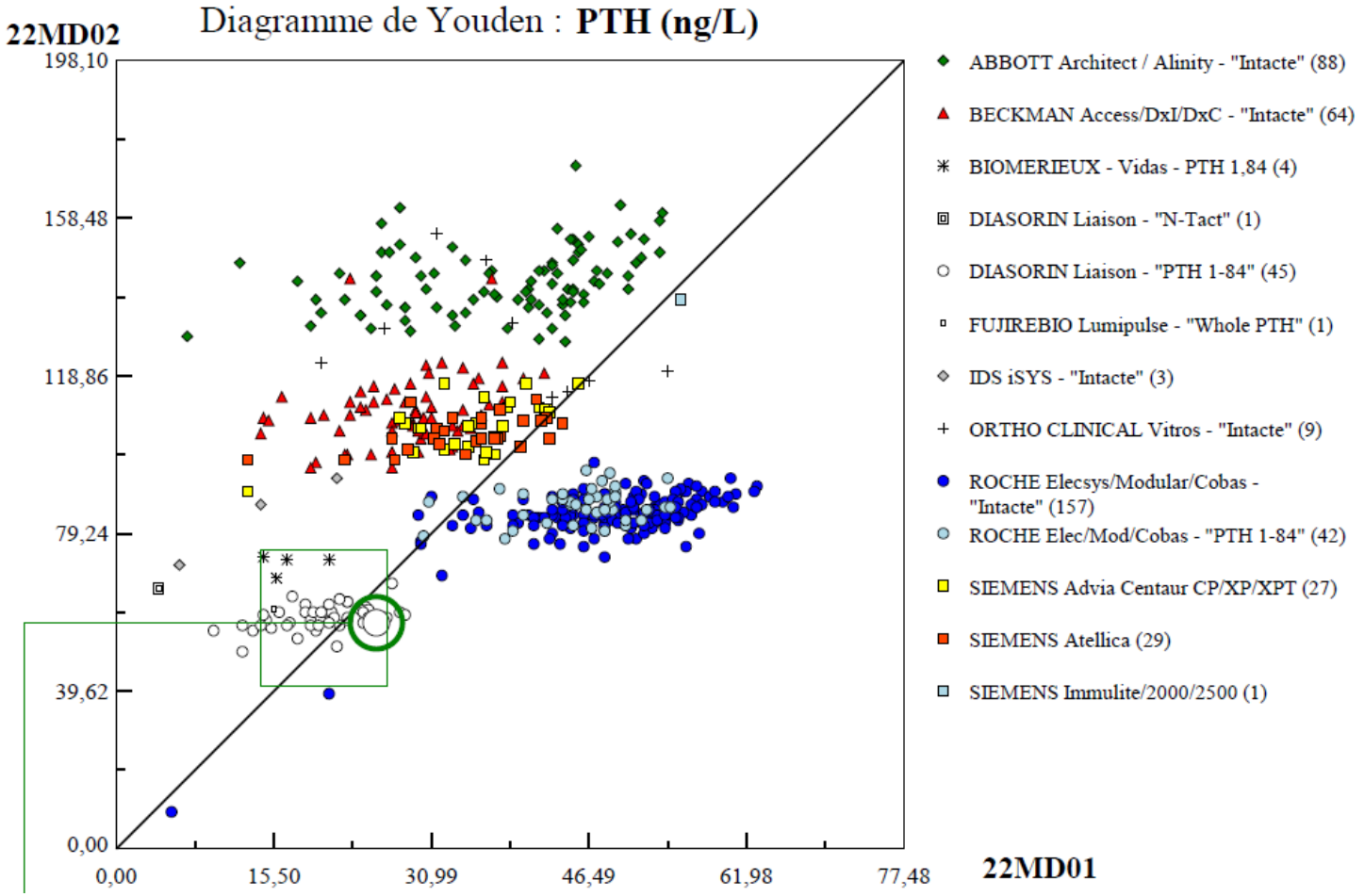


Smit, *Endoc Rev*, 2021

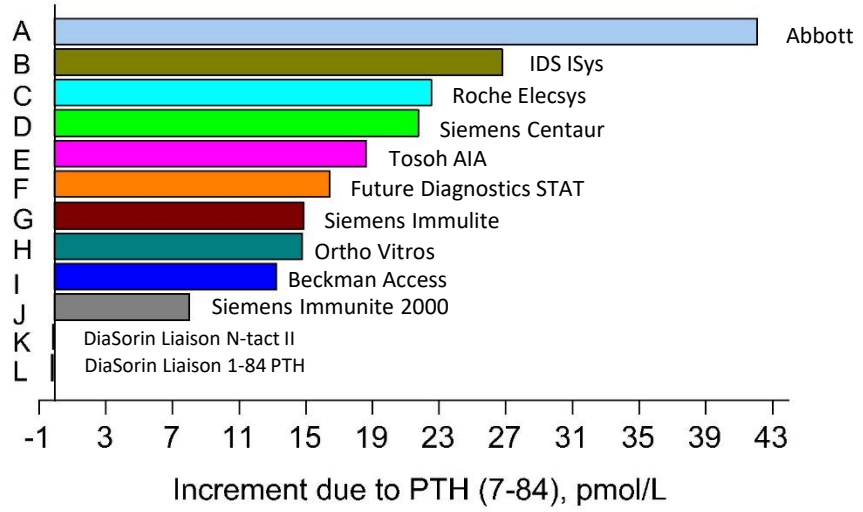
Génération de dosage	PTH 1-84	PTH 7-84	Amino-PTH	Fragments C-terminaux
1ère génération	+	+	+	+
2ème génération	+	+	-	-
3ème génération	+	-	+	-

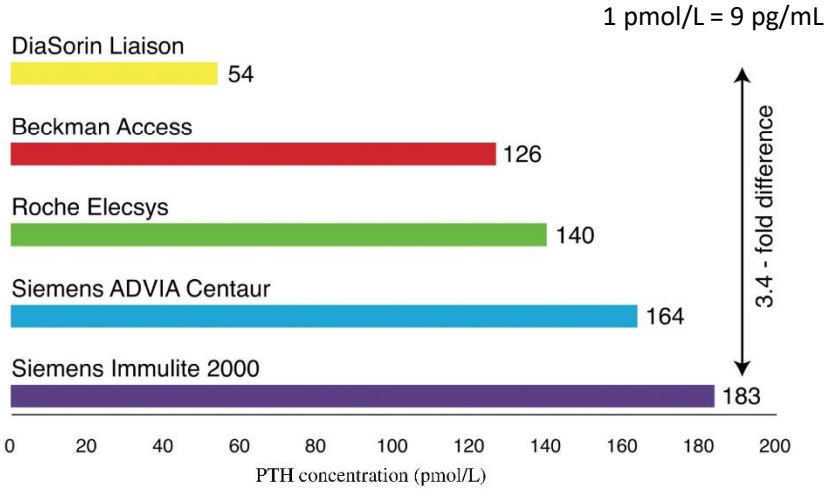
Spectrométrie de masse (recherche, laboratoires très spécialisés) : préparation d'échantillon longue

Comparaisons entre méthodes de dosage



Contrôle de qualité externe, Probioqual





Valeurs de PTH pour un même prélèvement

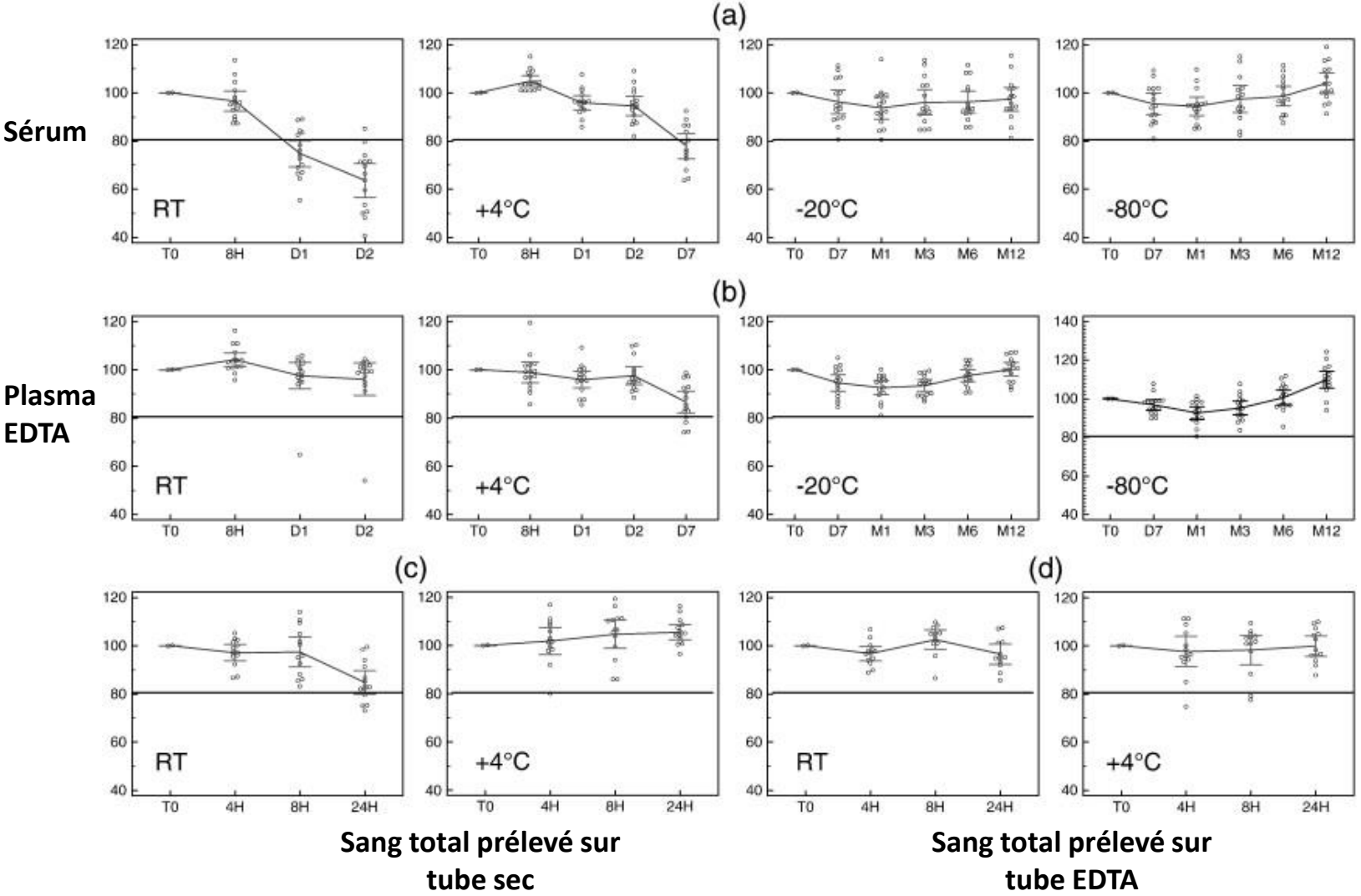
Sturgeon, *Clin Chim Acta*, 2017

Variabilités inter-techniques

Importance d'un suivi avec la même méthode de dosage

Pré-analytique

Prélèvement veineux périphérique (30 % plus élevé sur cathéter central) Vulpio, *Clin Chem*, 2010
Meilleure stabilité sur plasma EDTA par rapport au sérum
Valeurs de référence légèrement plus élevées sur plasma EDTA

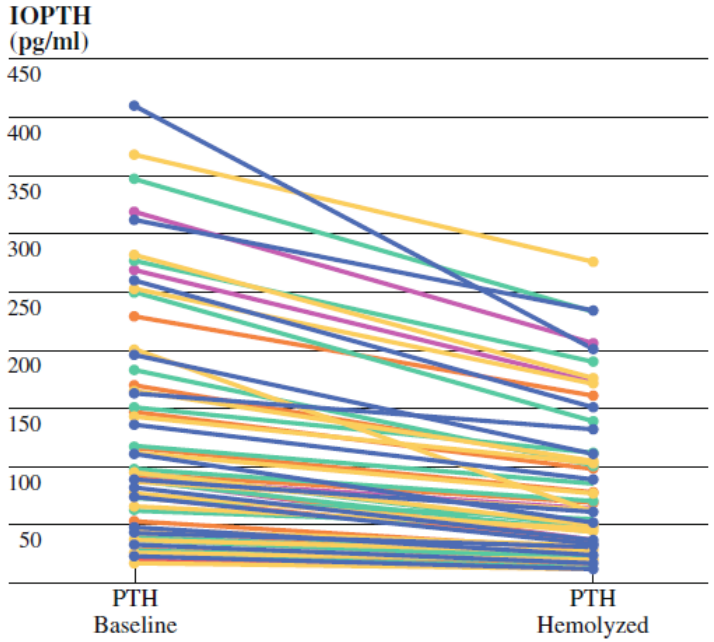


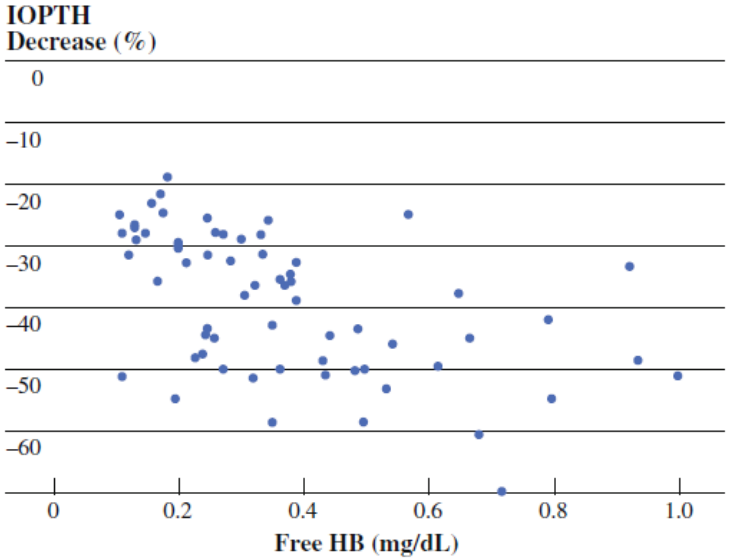
Etude sur 15 patients hémodialysés
Trousse 3G DiaSorin

Sérum : 8 heures à température ambiante
Plasma EDTA : 48 heures

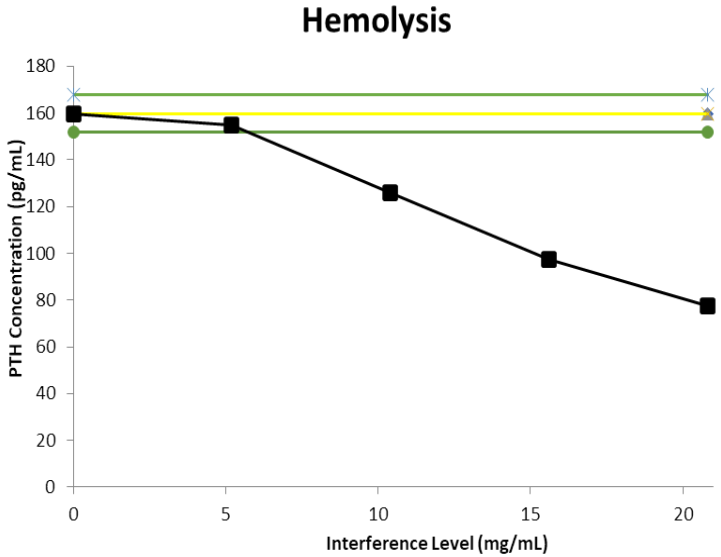
Cavalier, *Clin Chim Acta*, 2012

Influence de l'hémolyse



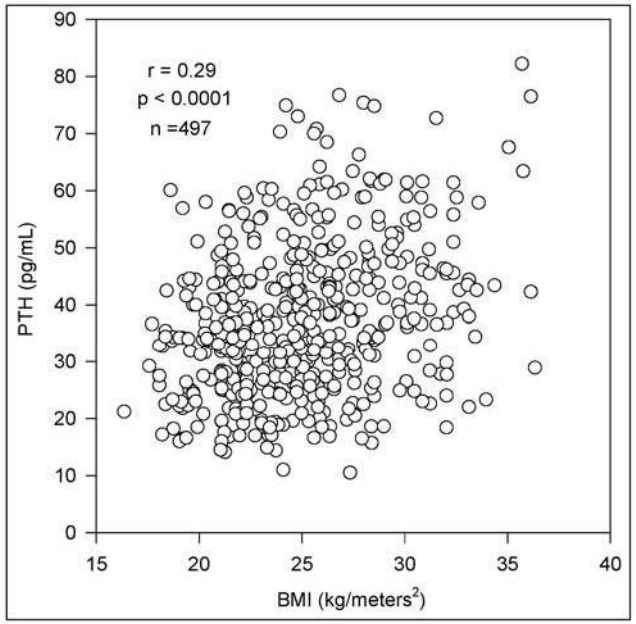


Moalem, **Ann Surg Oncol**, 2010

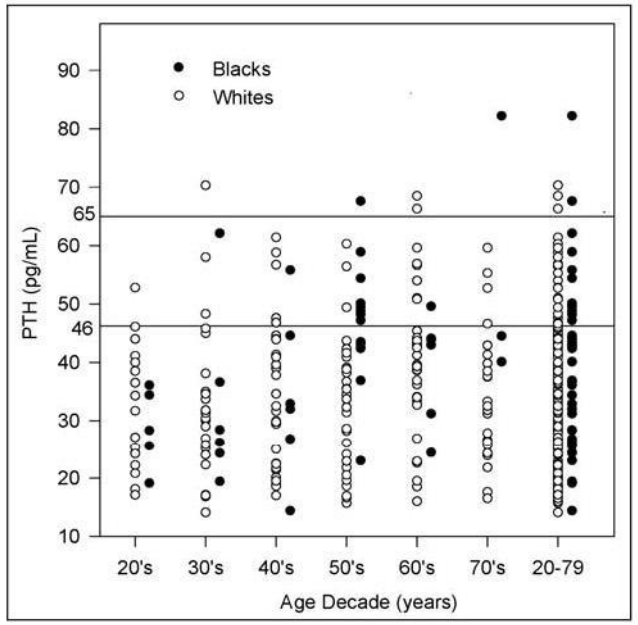


Diminution des concentrations en cas d'hémolyse

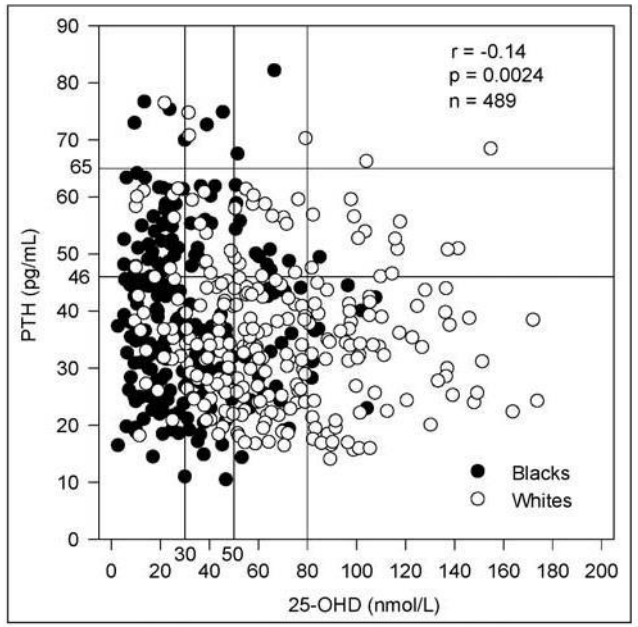
Facteurs influençant la concentration de PTH



BMI

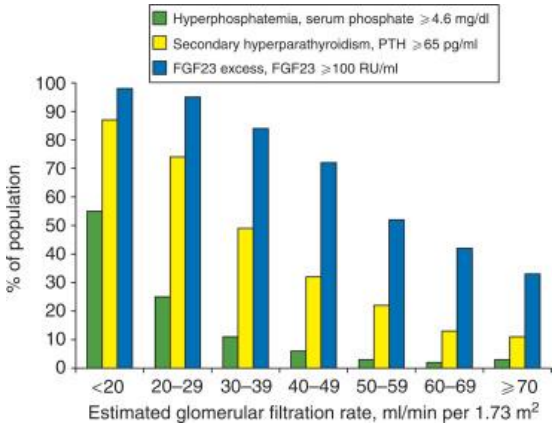


Ethnie



25-hydroxyvitamine D

Aloia, *Endocr Pract*, 2006



DFG

Table 2 PTH concentrations (ng/l) in the normal subjects of the VARIETE study, according to age and serum 25OHD levels.

	n	PTH median (Q1–Q3)	*P* value
Age (years)			
i) 18–29	411	16.9 (14.1–21.2)	vs (ii) and (iii): $P<0.001$
ii) 30–59	307	18.9 (15.3–24.4)	vs (i) and (iii): $P<0.001$
iii) ≥60	180	23.5 (18.9–31.7)	vs (i) and (ii): $P<0.001$
25OHD (ng/ml)			
i) <12	66	26.5 (18.6–33.7)	vs (ii), (iii), and (iv): $P<0.001$
ii) 12–19.9	208	20.5 (16.4–26.5)	vs (i), (iii), and (iv): $P<0.001$
iii) 20–29.9	441	18.0 (15.1–22.7)	vs (i) and (ii): $P<0.001$; vs (iv): $P=0.04$
iv) ≥30	183	17.0 (13.5–21.5)	vs (i) and (ii): $P<0.001$; vs (iii): $P=0.04$

Age

Sourberbielle, *EJE*, 2016

Apports calciques

Traitements : anticonvulsivants, lithium, phosphore

Influence la détermination des valeurs de référence !!!

Quelles valeurs de référence utiliser pour la PTH ?

Trousse	Normes fournisseur	Normes établies (pg/mL)
2ème génération		
Abbott Architect	15 – 68,3	16,3 – 64,7
Beckman Access	12 – 88	10,1 – 47,4
Diasorin Liaison N-tact	17,3 – 72,9	21,3 - 68,2
Ortho Vitros	7,5 – 53,5	10,8 – 47,5
Roche Elecsys	15 – 65	13,7 – 50,2
Scandibodies Total Intact PTH	14 – 66	7,8 – 49,7
Siemens Immulite	12 – 65	5,4 – 57,1
3ème génération		
Diasorin Liaison 1-84	5,5 – 38,4	4,6 – 25,8
Scandibodies Ca-PTH IRMA	5 – 39	6,8 – 30,8

240 sujets en bonne santé
25OHD > 30 ng/mL
DFG (MDRD) > 60 mL/min/1,73m²

Cavalier, *Nephrol Dial Transplant*, 2012

Quelle trousse utiliser en pratique

Deuxième ou troisième génération ?

Les plus

- Meilleure standardisation des méthodes (dosage forme 1-84)
- Pré-analytique : forme 1-84 plus stable

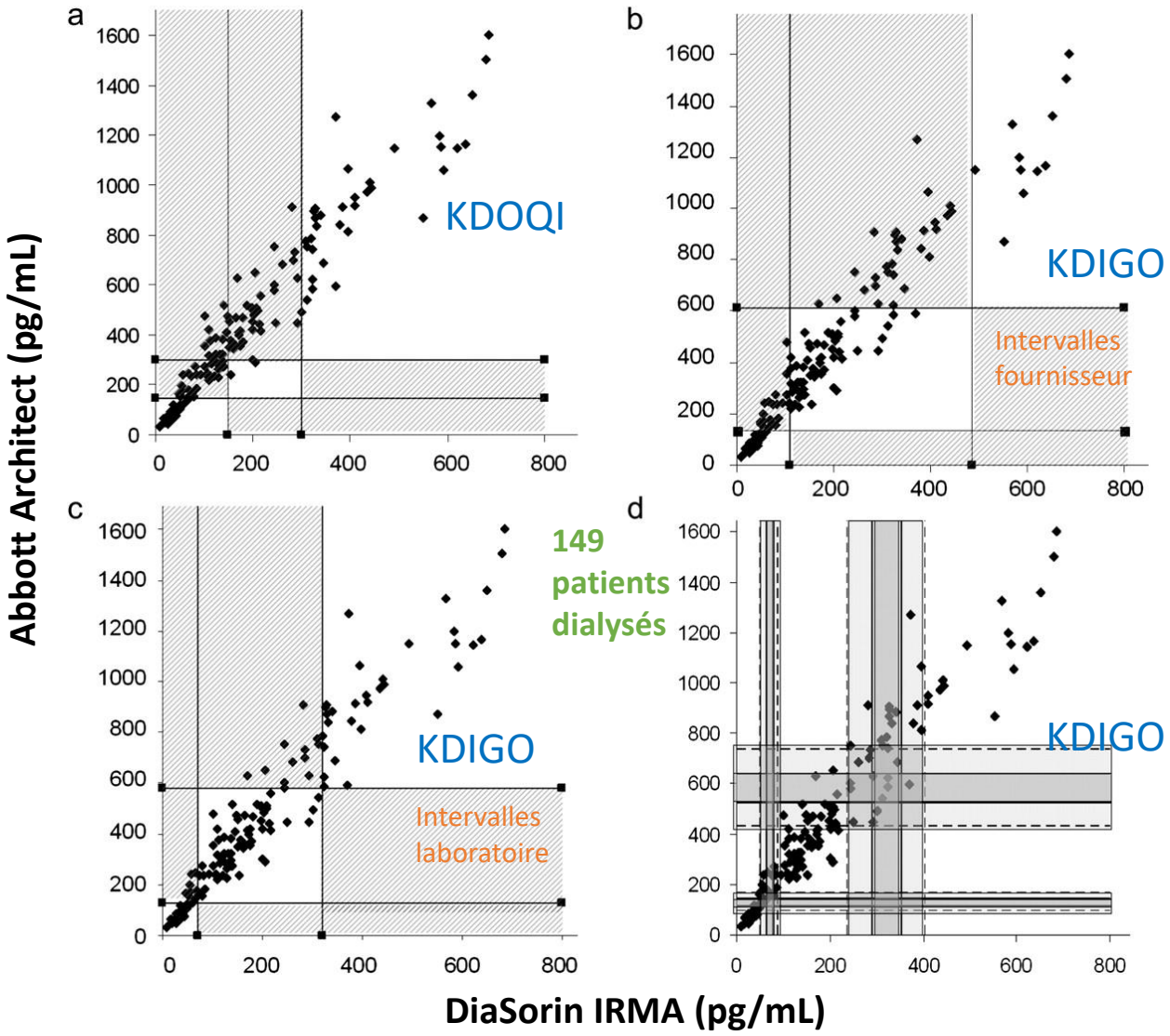
Les moins

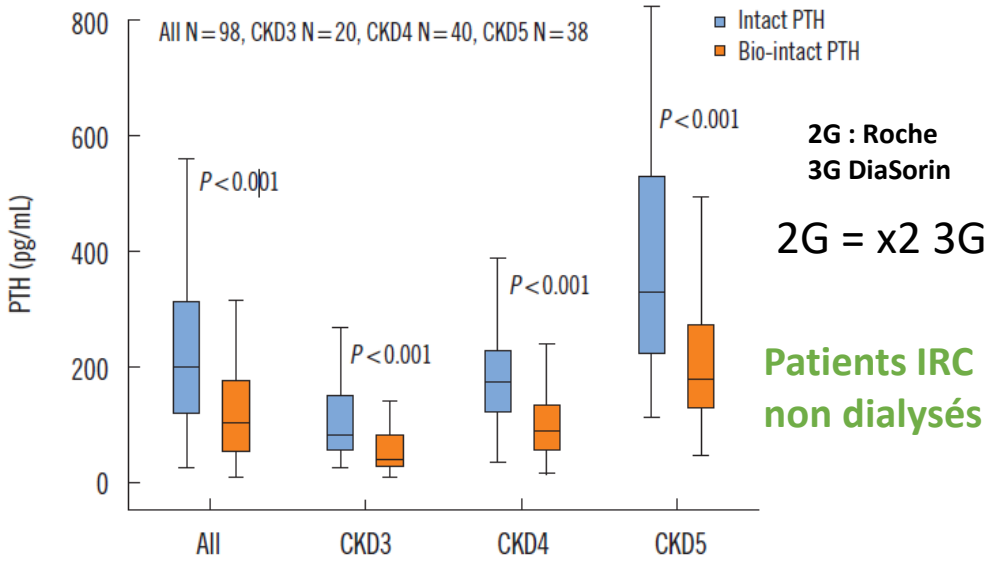
- Méthodes 3G non disponibles sur tous les automates
- Reconnaissance par trousses 3G de forme oxydée en 18
- Recommandations cliniques souvent restées en 2G
- Performances cliniques souvent équivalentes

Patients insuffisants rénaux

Recommandations KDIGO :

- Trousse de deuxième génération
- Stade 5 : PTH entre 2 et 9 fois la valeur haute l'intervalle de référence





Einbinder, *Ann Lab Med*, 2017

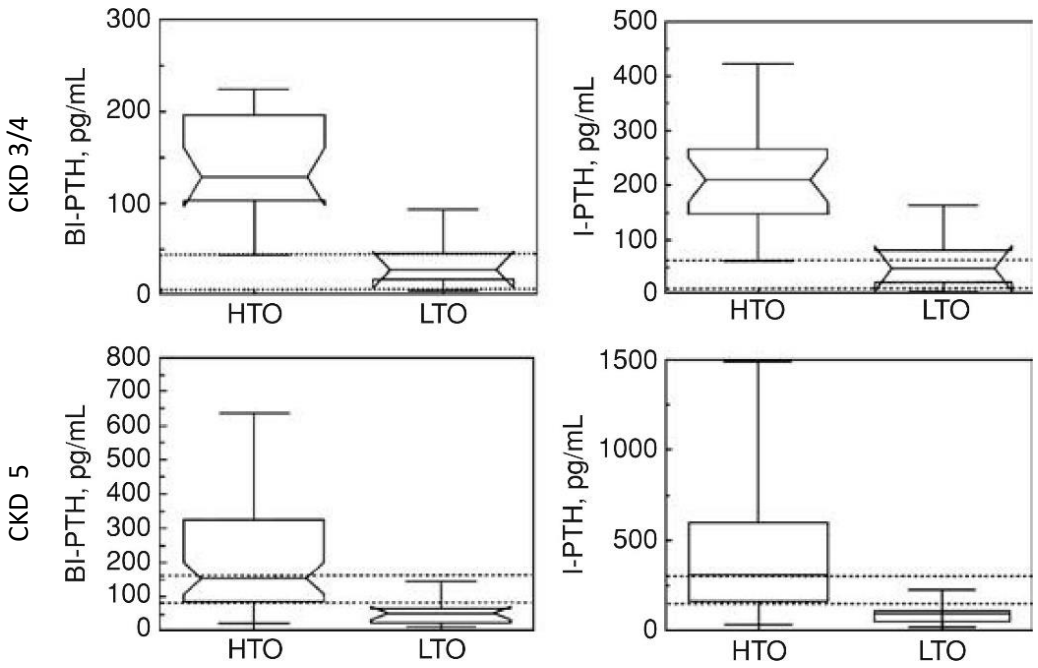
% patients > 9X	DiaSorin IRMA	Abbott Architect
Valeurs fournisseur	7,4	26,8
Valeurs laboratoire	20,8	28,9

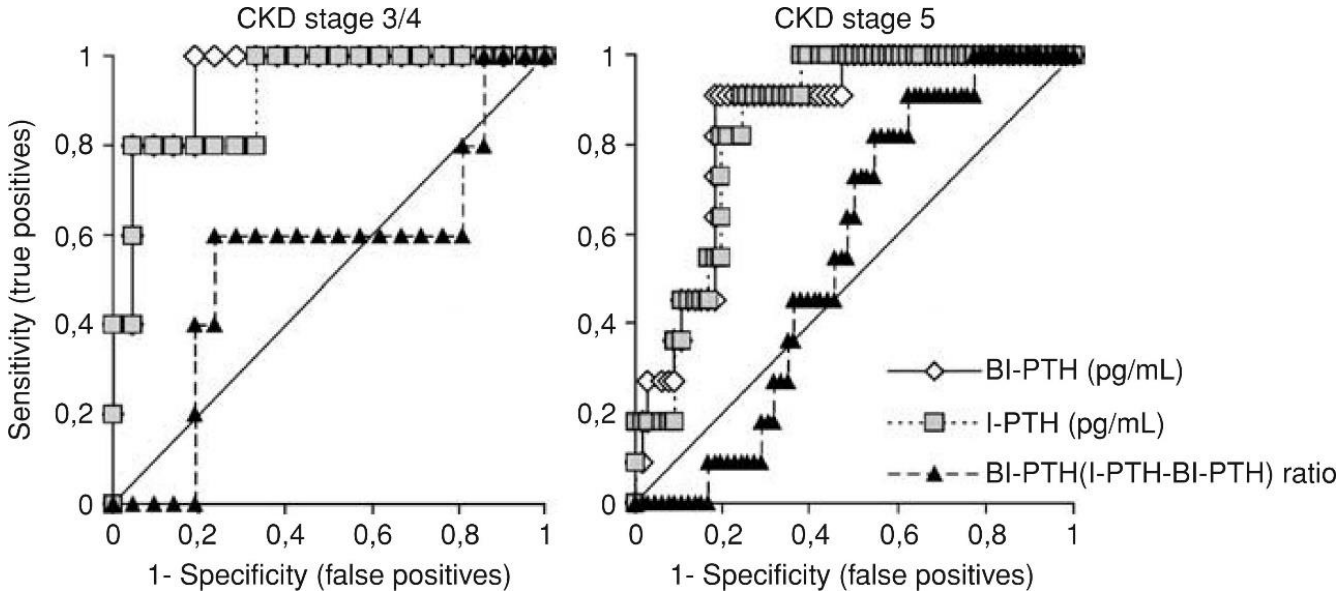
Classification des patients différente et décisions thérapeutiques différentes !!!

Cavalier, *Nephrol Dial Transplant*, 2012

Patients insuffisants rénaux : lien avec ostéodystrophie rénale

132 patients avec biopsie osseuse
Classification en trois groupes (turnover osseux)





Performances similaires entre trousses de deuxième et troisième génération

Lehmann, *Kidney Int*, 2005

Diagnostic de l'hyperparathyroïdie primaire

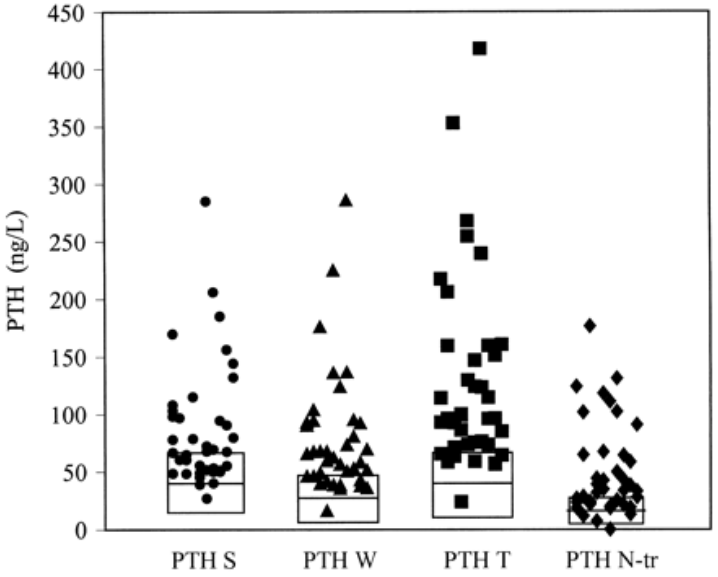
Critères chirurgicaux

- Calcémie > 0,25 mmol/L au dessus des valeurs usuelles
- DFG< 60 mL/min/1,73 m²
- Lithiases
- Néphrocalcinose
- Age < 50 ans
- DMO < 2,5 T score

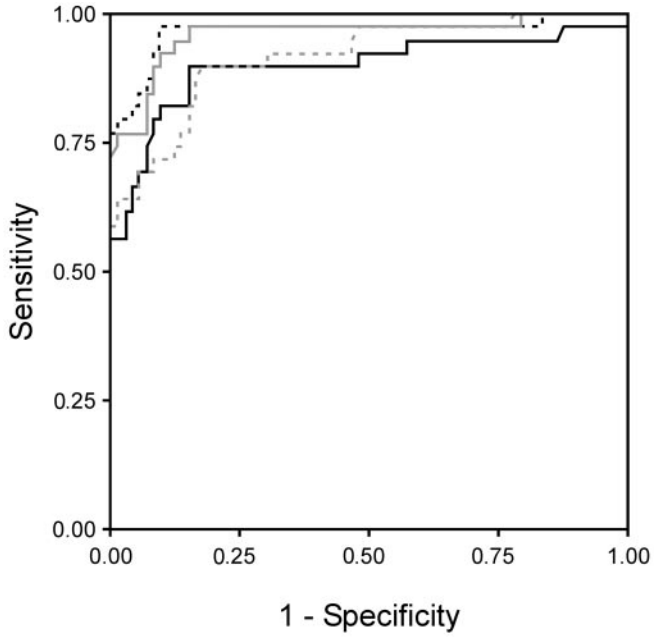
Consensus 2014, dosage trousses de deuxième ou troisième génération

Bilezikian, *JCEM*, 2014

Performances diagnostiques similaires entre les trousses de deuxième et troisième génération



2G 3G



Patients hyperparathyroïdie primaire

Carnevale, *Clin Chem*, 2004

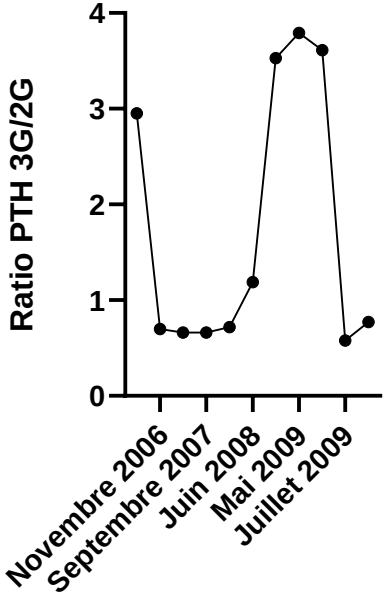
Intérêt du ratio PTH 3G/2G : diagnostic adénome/carcinome parathyroïdien

Ratio PTH 3G/ 2G normalement <1

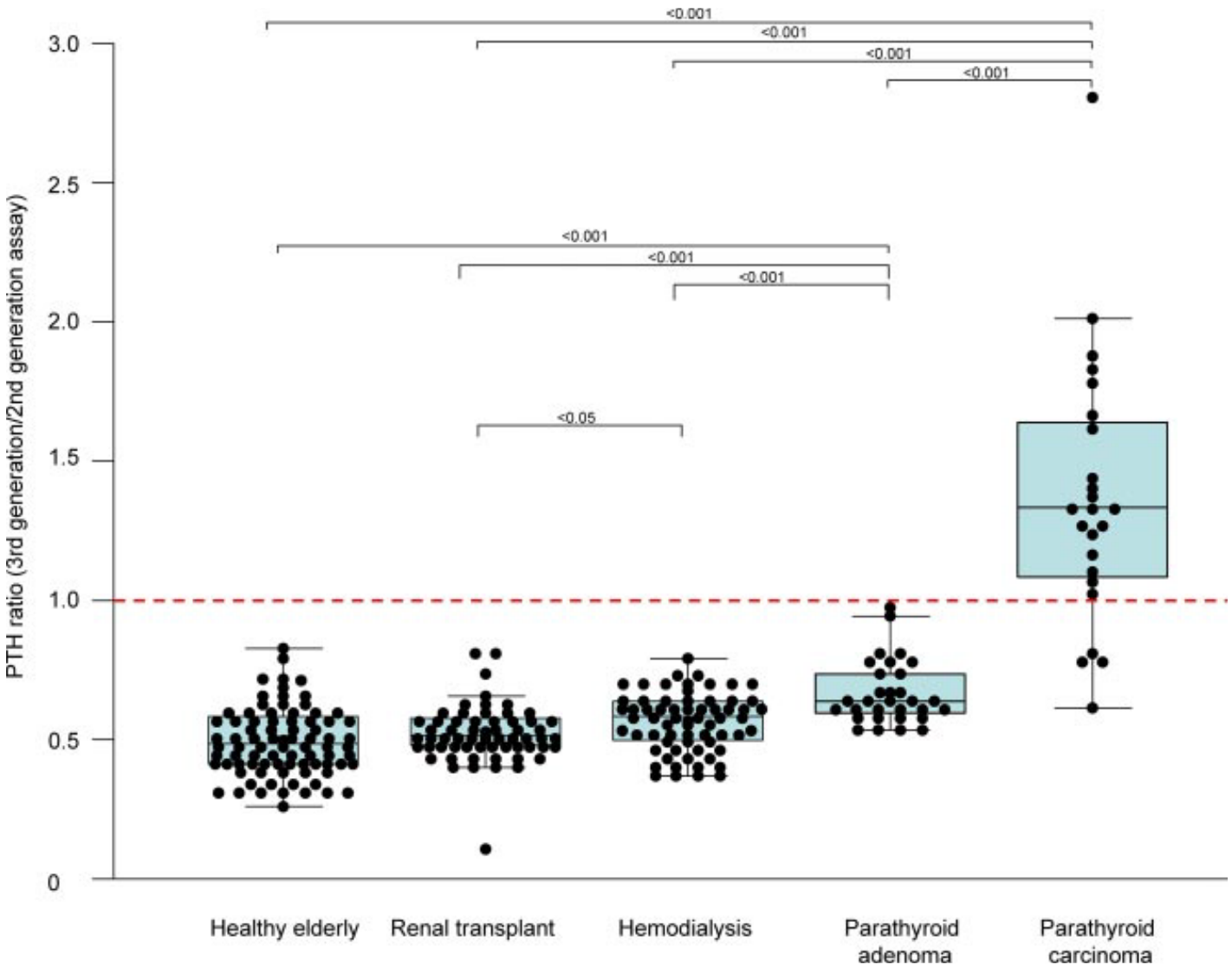
Cancers parathyroïdiens : présence en forte concentration de l'amino-PTH reconnue par les trousses 3G

Utilisation du ratio comme marqueur tumoral pour le suivi

Limites : différences inter-techniques



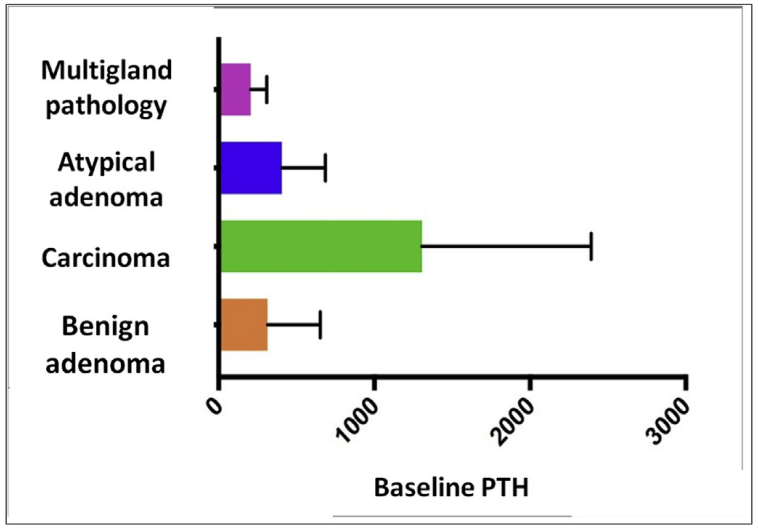
Caron, *Clin Endocrinol*, 2011



Cavalier, *JCEM*, 2010

Dosages per-opératoires de PTH

- Demi-vie courte de la PTH,
- Baisse très rapide après ablation de l'adénome
- Baisse de 50 % de la valeur à T+15 min par rapport à l'incision
- Trousses 3G plus performantes (diminution plus rapide de la PTH)



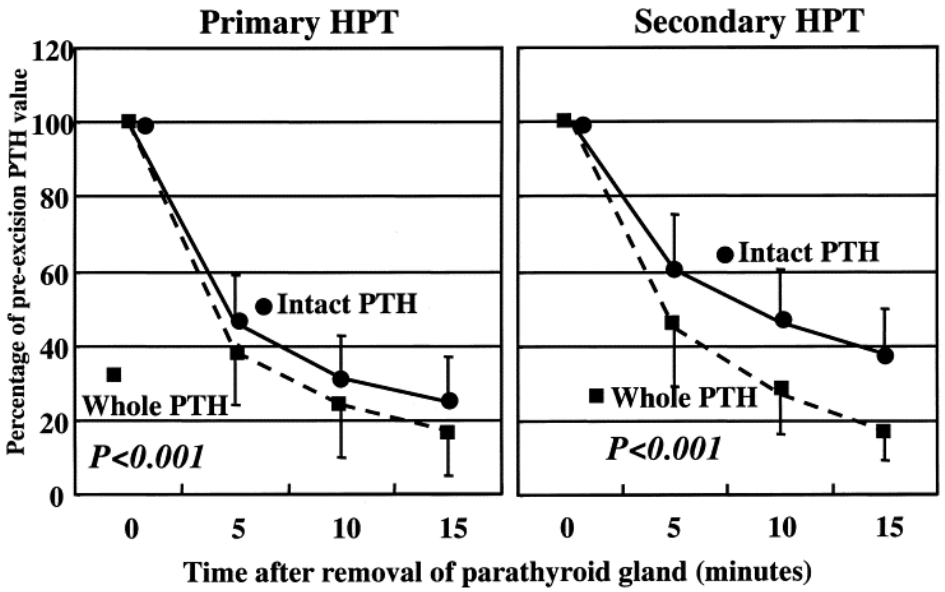
Dobrinja, *Int J Surg*, 2017

Dosages per-opératoires chez une femme de 34 ans

PTH values observed before surgery and during intraoperative measurement with different 2nd and 3rd generation PTH assays showing no decrease at 15 min with 2nd generation assays (in bold) whereas 3rd generation values decrease by 50%.

		Roche Cobas PTH STAT (ng/L)	Roche Cobas PTH 2G (ng/L)	DiaSorin Liaison PTH 2G (ng/L)	DiaSorin Liaison PTH 3G (ng/L)	Fujirebio Lumipulse PTH 3G (ng/L)	Calcium (mmol/L)
Expected range (ng/L)		15–65	15–65	17.3–72.9	5.5–38.4	5.5–31.9	2.15–2.60
Before surgery		221	173	NA	100	107	2.8
Surgery	Incision	293	205	332	112	163	NA
Surgery	Ablation	2385	1691	> 1900	770	915	NA
Surgery	+ 5 min	999	700	985	209	283	NA
Surgery	+ 10 min	674	489	640	117	159	NA
Surgery	+ 15 min	443	301	350	58	87	NA
Day + 1 after surgery		NA	NA	NA	NA	NA	2.3

Cavalier, *CCA*, 2018



Yamashita, *Surgery*, 2004

Conclusions

- Variabilité inter-techniques des dosages de PTH +++
- Performances cliniques équivalentes 2G/3G
- Suivi d’un patient avec la même méthode de dosage
- Efforts de standardisation des méthodes de dosage à poursuivre avec les fournisseurs