



HAL
open science

Le rachitisme hypophosphatémique lié à l’X : histoire naturelle de la maladie par un suivi longitudinal du modèle murin Hyp

Carole-Anne Faraji-Bellee

► **To cite this version:**

Carole-Anne Faraji-Bellee. Le rachitisme hypophosphatémique lié à l’X : histoire naturelle de la maladie par un suivi longitudinal du modèle murin Hyp. Sciences du Vivant [q-bio]. 2017. dumas-01818008

HAL Id: dumas-01818008

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01818008>

Submitted on 18 Jun 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L’archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d’enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License



UNIVERSITÉ
PARIS
DESCARTES

MEMBRE DE

U-S-PC
Université Sorbonne
Paris Cité

AVERTISSEMENT

Cette thèse d'exercice est le fruit d'un travail approuvé par le jury de soutenance et réalisé dans le but d'obtenir le diplôme d'État de docteur en chirurgie dentaire. Ce document est mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt toute poursuite pénale.

Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 122.4

Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 335.2 - L 335.10



UNIVERSITÉ
PARIS
DESCARTES

MEMBRE DE

U-S-PC
Université Sorbonne
Paris Cité

UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES

FACULTÉ DE CHIRURGIE DENTAIRE

Année 2017

N° 057

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

Présentée et soutenue publiquement le : 12 juillet 2017

Par

Carole-Anne FARAJI-BELLE

Le rachitisme hypophosphatémique lié à l'X : histoire naturelle de la maladie par un suivi longitudinal du modèle murin *Hyp*

Dirigée par Mme le Docteur Claire Bardet

JURY

Mme le Professeur Catherine Chaussain

Président

Mme le Docteur Claire Bardet

Assesseur

Mme le Docteur Céline Gaucher

Assesseur

Mme le Docteur Marjolaine Gosset

Assesseur

M. le Docteur Romain Royer

Invité



Tableau des enseignants de la Faculté

DÉPARTEMENTS	DISCIPLINES	PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS	MAÎTRES DE CONFÉRENCES
1	ODONTOLOGIE PÉDIATRIQUE	Mme VITAL Mme DAVIT-BEAL	M. COURSON Mme DURSUN Mme VANDERZWALM Mme JEGAT
	ORTHOPÉDIE DENTO-FACIALE		Mme BENAHMED M. DUNGLAS Mme KAMOUN-GOLDRAT Mme LE NORCY
	SANTÉ COMMUNAUTAIRE ET POPULATIONS SINGULIÈRES	Mme FOLLIGUET M. PIERRISNARD	M. NEBOT
2	PARODONTOLOGIE	Mme COLOMBIER	M. BIOSSE DUPLAN Mme DRIDI Mme GOSSET M. GUEZ
	MÉDECINE ET CHIRURGIE BUCCALES	M. MAMAN	Mme EJEIL M. GAULTIER M. HADIDA M. NGUYEN Mme RADOI
3	ODONTOLOGIE CONSERVATRICE ENDODONTIE	Mme CHEMLA M. LASFARGUES	Mme BESNAULT M. BONTE Mme BOUKPESSI M. DECUP Mme GAUCHER
	PROTHÈSE	M. POSTAIRE	M. CHEYLAN M. DAAS M. DOT M. EID Mme FOUILLOUX-PATEY Mme GORIN M. RENAULT M. RIGNON-BRET M. TIRLET M. TRAMBA Mme WULFMANN
4	PRÉVENTION-ÉPIDÉMIOLOGIE ÉCONOMIE DE LA SANTÉ ET ODONTOLOGIE LÉGALE		Mme GERMA M. PIRNAY M. TAVERNIER
	SCIENCES BIOLOGIQUES	Mme CHAUSSAIN M. GOGLY Mme POLIARD M. ROCHEFORT Mme SEGUIER	M. ARRETO Mme BARDET Mme CHARDIN M. LE MAY M. FERRE (MCU associé) Mme CHERIFI (MCU associée)
	SCIENCES ANATOMIQUES PHYSIOLOGIQUES ET OCCLUSODONTIQUE		M. ATTAL Mme BENBELAID Mme BENOIT M. BOUTER M. CHARRIER M. CHERRUAU M. FLEITER Mme FRON M. SALMON Mme TILOTTA

Janvier 2017

Remerciements

À Mme le Professeur Catherine Chaussain

Docteur en Chirurgie dentaire

Docteur de l'Université Paris Descartes

Habilitée à Diriger des Recherches

Professeur des Universités, Faculté de Chirurgie dentaire Paris Descartes

Praticien Hospitalier, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris

Vice Doyen de la Faculté de Chirurgie dentaire Paris Descartes

Merci de me faire l'honneur de présider ce jury. Merci également d'avoir cru en moi et de m'avoir accueillie si chaleureusement au sein du laboratoire il y a de cela cinq ans maintenant. Merci de m'avoir fait grandir. Et pour tant d'autres choses encore.

À Mme le Docteur Claire Bardet

Docteur de l'Université Pierre et Marie Curie

Maître de Conférences des Universités, Faculté de Chirurgie dentaire Paris Descartes

Merci de m'avoir permis de travailler sur un projet aussi incroyable et passionnant. Je te suis reconnaissante pour tout ce que tu m'apportes chaque jour avec autant de bienveillance et de patience. Merci de m'avoir fait confiance. Et enfin merci pour ton souci du détail sans lequel cette thèse n'aurait pas été la même. Tu es une encadrante formidable, je n'aurais pas pu en espérer de meilleure.

À Mme le Docteur Céline Gaucher

Docteur en Chirurgie dentaire

Docteur de l'Université Paris Descartes

Habilitée à Diriger des Recherches

Maître de Conférences des Universités, Faculté de Chirurgie dentaire Paris Descartes

Praticien Hospitalier, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris

Je vous remercie d'avoir si gentiment accepté de juger ce travail. Un grand merci pour toute la générosité et la patience dont vous avez fait preuve pour me transmettre votre savoir. Cette page ne suffira pas à exprimer toute la gratitude et le profond respect que j'éprouve à votre égard. Vous m'avez fait aimer cet art merveilleux qu'est la dentisterie et vous m'avez donné l'envie de transmettre à mon tour ce que je sais et ce qu'il me reste encore à apprendre.

À Mme le Docteur Marjolaine Gosset

Docteur en Chirurgie dentaire

Docteur de l'Université Pierre et Marie Curie

Habilitée à Diriger des Recherches

Maitre de Conférences des Universités, Faculté de Chirurgie dentaire Paris Descartes

Praticien Hospitalier, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris

Je suis heureuse que vous ayez accepté de juger ce travail. Je tenais à vous remercier d'avoir éveillé en moi un intérêt sans cesse grandissant pour la parodontie grâce à vos enseignements si passionnés. C'est avant tout grâce à vous que cette discipline m'est si chère. Merci également pour votre gentillesse et pour vos encouragements. J'espère un jour pouvoir enseigner avec autant d'engouement.

À M. le Docteur Romain Royer

Docteur en Chirurgie dentaire

Assistant Hospitalo-Universitaire, Faculté de Chirurgie Dentaire Paris Descartes

Je suis ravie que vous ayez accepté de faire partie de mon jury. Je tenais tout d'abord à vous remercier pour tout ce que vous m'avez appris. Vous avez renforcé mon inclination pour la parodontie. Merci d'avoir toujours été disponible lorsque j'en avais besoin. Merci également de m'avoir fait confiance et de m'avoir laissé prendre la main lors de mes premières interventions. Vous avez été un professeur formidable et j'espère rencontrer par la suite d'autres mentors aussi remarquables que vous.

À l'ensemble des membres de l'équipe de Recherche

Merci à tous pour tout ce que nous avons partagé, pour ce que vous m'avez appris, pour le plaisir que j'ai eu à travailler avec vous, pour cette bonne humeur si contagieuse. J'espère que notre collaboration perdurera encore longtemps. Merci à toi Annie et merci à toi Brigitte pour m'avoir épaulée et pour avoir tant partagé avec moi.

À M. le Docteur Alexandre Azoulay

Merci pour tous vos conseils, pour m'avoir appris tant de choses et pour avoir participé également à mon choix de carrière. J'espère que vous avez apprécié travailler avec moi au moins autant que j'ai aimé apprendre de vous.

À Mme le Docteur Sophie Myriam Dridi

Merci d'avoir toujours répondu présente pour moi.

À Mme le Docteur Catherine Besnault

Merci de m'avoir fait aimer votre discipline. Merci pour toutes les astuces que vous m'avez enseignée et merci d'avoir été si gentille avec moi.

À M. le Docteur Thomas Roux

Merci pour tous vos conseils. Vous êtes un professeur génial.

À Mme le Docteur Tchilalo Boukpepsi

Merci pour vos encouragements et votre soutien.

À Mme le Docteur Marianne Bracconi

Merci de m'avoir aidé en santé publique mais surtout merci d'être toi.

À Mme le Docteur Elisabeth Dursun

Merci d'avoir été à l'écoute, merci de tous vos conseils concernant mon projet d'avenir professionnel.

À M. le Docteur Bdéoui

Vous êtes un professeur et une personne formidable. Merci.

À M. le Docteur Stéphane Milliez

Merci pour tout. Vous avez toujours pris le temps pour Laura et moi, même avant votre pause-café de 8h30.

À Mme le Docteur Delphine Schmidt

Merci de m'avoir initié à la chirurgie et de m'avoir tant appris.

À Mme le Docteur Francesca Mangione

Merci de m'avoir aidé lors de mes chirurgies et merci à toi pour tous tes conseils.

À M. le Docteur Philippe Pirnay

Merci à vous de m'avoir permis de suivre ce double cursus et pour avoir su être à l'écoute lorsque j'en avais besoin.

Et un grand merci à tous ceux que je n'ai pas pu citer mais qui ont permis de faire de moi ce que je suis aujourd'hui. Je vous en serai éternellement reconnaissante.

À Laura S.

Merci d'avoir été là à chaque fois que j'en avais besoin, de m'avoir toujours écoutée quand le besoin s'en faisait ressentir. Merci pour tes précieux conseils. Merci d'être toi. Tu es une amie formidable et je te souhaite le meilleur. Surtout n'oublie pas que rien n'est impossible, pourvu qu'on le souhaite vraiment et que l'on soit bien entouré. Tu es et resteras dans mon cœur. Je suis heureuse d'avoir croisé ta route.

Et à ma chère Maman

Ces quelques mots ne suffiront pas à exprimer tout l'amour et toute la reconnaissance que j'éprouve pour toi. Tu me soutiens depuis déjà vingt-cinq ans sans jamais faiblir. Tu es et resteras à jamais celle qui me permet de réaliser mes rêves. Grâce à toi je ne manque de rien. Je n'aurais jamais pu en arriver là où j'en suis sans toi. MERCI.

« Tu es mon rocher, ma forteresse. »

Table des matières

INTRODUCTION	3
1.1 LES RACHITISMES	3
1.2 XLH : LES MÉCANISMES MOLÉCULAIRES.....	5
1.3 XLH : LE PHÉNOTYPE	7
1.4 XLH : LES TRAITEMENTS ACTUELS.....	15
1.5 XLH : LA QUALITÉ DE VIE DES PATIENTS	19
1.6 PRISE EN CHARGE SPÉCIFIQUE DES PATIENTS	21
1.7 LES MODÈLES MURINS DE LA PATHOLOGIE	22
PROBLÉMATIQUES	24
OBJECTIF.....	24
1 : MATÉRIEL ET MÉTHODES	25
1.1 GESTION DES ANIMAUX ET AUTORISATIONS	25
1.2 GÉNOTYPAGE.....	25
1.2.1 <i>Extraction et dosage de l'ADN</i>	25
1.2.2 <i>PCR</i>	26
1.3. ÉTUDE D'IMAGERIE.....	27
1.3.1 <i>Analyses osseuses par X-ray micro computed tomography (Micro-CT)</i>	27
1.3.2 <i>Analyse de la cyphose dorso-lombaire des souris</i>	29
1.4. ÉTUDE HISTOLOGIQUE.....	30
1.4.1 <i>Zones de prélèvement</i>	30
1.4.2 <i>Echantillons non décalcifiés</i>	32
1.4.3 <i>Coloration Von Kossa avec contre coloration au bleu de toluidine</i>	32
1.4.4 <i>Coloration au Trichrome de Goldner modifié</i>	32
1.4.5 <i>Coloration à la Safranine O</i>	33
1.4.6 <i>Analyse de l'activité enzymatique de la phosphatase acide tartrate résistante (TRAP)</i>	33
1.4.7 <i>Analyse de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline (ALP)</i>	34
1.4.8 <i>Immuno-histochimie révélant la présence de l'ostéopontine (OPN)</i>	34
2 : RÉSULTATS	36
2.1 SCORE COMPOSITE DES SOURIS EN FONCTION DU TEMPS	36
2.2. MODIFICATIONS MORPHOLOGIQUES DES VERTÈBRES LOMBAIRES ASSOCIÉES À UNE CYPHOSE DORSO-LOMBAIRE.....	37
2.3 DÉVELOPPEMENT D'ENTHÉSOPHYTES DANS LA RÉGION CALCANÉENNE, PINCEMENT DE L'ARTICULATION TIBIO-ASTRAGALIENNE ET FUSION DES TARSES	42

2.4 EROSION ET PINCEMENT DE L'INTERLIGNE COXO-FÉMORALE.....	44
2.5 EROSIONS DE L'ARTICULATION SACRO-ILIAQUE.....	46
3 : DISCUSSION.....	47
4 : CONCLUSION.....	50
BIBLIOGRAPHIE.....	51
TABLE DES FIGURES.....	54

Introduction

1.1 Les rachitismes

Il existe deux grands types de rachitisme : le rachitisme carenciel et le rachitisme vitamino-résistant¹.

Le rachitisme carenciel est une maladie rare caractérisée par un défaut de minéralisation osseuse. Il est principalement dû aux conditions de vie du patient : mauvaise alimentation, pauvreté, temps de guerre, faible exposition au soleil. Leur phénotype est variable d'un individu à l'autre et le diagnostic peut se faire dès l'enfance ou durant l'adolescence, deux périodes majeures qui nécessitent un apport suffisant en vitamine D pour permettre une bonne croissance staturale. Ce type de rachitisme est plus rare que le rachitisme vitamino-résistant dans les pays occidentaux, notamment grâce à une prévention efficace qui se caractérise par des apports journaliers en vitamine D (400 UI par jour pour les bébés et 600UI pour les enfants, 600UI pour les femmes enceintes) associés à une prise de calcium et par une exposition suffisante de l'enfant aux rayons UVB du soleil².

En 1935, Mc Cune³ décrit des patients atteints d'un rachitisme résistant au traitement par la vitamine D puis, deux ans plus tard, Fuller Albright explique cette résistance par une mutation génique héritable liée au chromosome X⁴. S'il a parfaitement décrit les conséquences de ce groupe de pathologies, les mécanismes moléculaires n'ont été expliqués, en partie, que bien plus tard et sont encore à l'étude aujourd'hui^{5,6}. Les rachitismes vitamino-résistants sont principalement dus à une fuite rénale de phosphate. Il en existe plusieurs types en fonction de leur origine : les rachitismes hypophosphatémiques familiaux, les syndromes de De Toni-Debré-Fanconi, le syndrome de Dent et les rachitismes vitamino-résistants oncogènes. Les rachitismes hypophosphatémiques familiaux regroupent : le rachitisme hypophosphatémique dominant lié à l'X (XLH) qui est le plus fréquent et les rachitismes hypophosphatémiques familiaux à transmission autosomique⁷. Pour les rachitismes vitamino-résistants, la prévention est inefficace et le traitement consistant en l'apport de vitamine D

¹ Dumas, « Les rachitismes vitaminorésistants ».

² Larkins, « Vitamin D deficiency and rickets : consensus at last ».

³ McCune, « Refractory rickets ».

⁴ Albright, Butler, et Bloomberg, « Rickets resistant to vitamin D therapy ».

⁵ Salmon et al., « MEPE-derived ASARM peptide inhibits odontogenic differentiation of dental pulp stem cells and impairs mineralization in tooth models of X-linked hypophosphatemia ».

⁶ Boukpepsi et al., « Osteopontin and the dento-osseous pathobiology of X-linked hypophosphatemia ».

⁷ Dumas, « Les rachitismes vitaminorésistants ».

est souvent insuffisant et doit être maintenu au long court pour éviter la réapparition des manifestations du rachitisme.

Le rachitisme hypophosphatémique lié à l'X est dû à une mutation du gène *Phex* (*Phosphate-regulating gene with Homologies to Endopeptidases on the X chromosome*), situé sur le chromosome X, au locus X p 22.2 - p22.1⁸. Il concerne environ un cas pour 20000 naissances dans le monde⁹ ; Les rachitismes hypophosphatémiques familiaux à transmission autosomique sont moins fréquents et de deux types, selon leur mode de transmission : dominant ou récessif. Ils sont dus à différentes mutations touchant différents gènes codant pour FGF23, DMP1 et SLC34A.

Nous nous intéresserons ici plus particulièrement à l'**hypophosphatémique lié à l'X (XLH)** qui est la forme la plus commune des rachitismes, tous types confondus.

⁸ Francis et al., « A gene (PEX) with homologies to endopeptidases is mutated in patients with X-linked hypophosphatemic rickets ».

⁹ Feng et al., « Osteocyte regulation of phosphate homeostasis and bone mineralization underlies the pathophysiology of the heritable disorders of rickets and osteomalacia ».

1.2 XLH : les mécanismes moléculaires

Le gène *Phex* est situé sur le chromosome X, au locus X p 22.1-22.2 chez l'Homme. Il code pour une métallo-endopeptidase à zinc transmembranaire de 749 acides aminés appelée PHEX (précédemment connu comme PEX) impliquée dans le métabolisme phosphocalcique. Cette protéine est exprimée par les ostéoblastes, les ostéocytes et les odontoblastes. Elle a une forte affinité pour le motif ASARM (Acidic Serine Aspartate-Rich MEPE-associated) retrouvé à la fois en C-terminal de MEPE (Matrix Extracellular Phosphoglycoprotein), et des protéines membres de la famille des SIBLINGs (Small Integrin-Binding Ligand Nlinked Glycoproteins) telle que l'osteopontine (OPN). Cette interaction protéine-protéine régule le clivage du peptide ASARM par des protéinases telles que la cathepsine B.

La déficience de la protéine PHEX due à une mutation du gène dans l'XLH induit un clivage pathologique des SIBLINGs conduisant à une forte accumulation d'OPN et du peptide ASARM dans la matrice extracellulaire de l'os et de la dent. D'après des études *in vitro*, ce peptide ASARM est résistant à la protéolyse et, dès lors qu'il est phosphorylé, il inhiberait la minéralisation en se fixant aux cristaux d'hydroxyapatite. Le peptide ASARM a aussi été retrouvé dans le rein et la circulation sanguine, inhibant en parallèle la recapture du phosphate au niveau des tubules rénaux et des intestins¹⁰¹¹¹²¹³ (*Figure 1*).

FGF23 est un acteur principal de la régulation du métabolisme phosphatique. Il agit à la fois sur le rein et sur la glande parathyroïde ainsi que sur la production de 1,25-dihydroxy-vitamine D (1,25(OH)₂D). C'est un facteur de croissance qui diminue la phosphatémie¹⁴.

Dans le rein, la surexpression de FGF23 provoque une diminution de la réabsorption tubulaire de phosphate. FGF23, en interagissant avec Klotho, l'héparine et les récepteurs au FGF (FGFRs), inhibe la transcription des gènes codant pour des co-transporteurs sodium-phosphate situés à la surface des cellules des tubules proximaux rénaux (Na-Pi IIa et II-c) ainsi qu'au niveau de l'intestin (II-b). Il agit également au niveau de la glande parathyroïde, inhibant la production de parathormone (PTH), une hormone hypophosphatémisante. Enfin, FGF23 diminue la production de 1,25(OH)₂D, ce qui cause une

¹⁰ Opsahl Vital et al., « Tooth dentin defects reflect genetic disorders affecting bone mineralization ».

¹¹ Rowe, « Regulation of bone- renal mineral and energy metabolism : the PHEX, FGF23, DMP1, MEPE ASARM pathway ».

¹² Salmon et al., « MEPE-derived ASARM peptide inhibits odontogenic differentiation of dental pulp stem cells and impairs mineralization in tooth models of X-linked hypophosphatemia ».

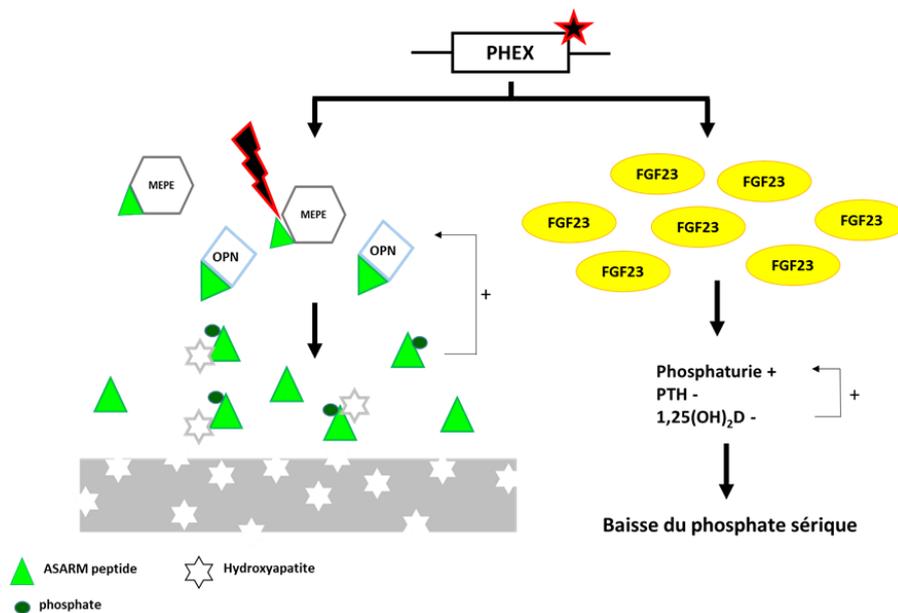
¹³ Boukpepsi et al., « Osteopontin and the dento-osseous pathobiology of X-linked hypophosphatemia ».

¹⁴ Bacchetta, « Le rachitisme hypophosphatémique : une tubulopathie proximale ! »

augmentation de la phosphaturie et il existe un rétrocontrôle positif de la 1,25(OH)₂D et de la PTH sur le FGF23¹⁵.

Lors de l'inhibition du gène *Phex* dans le rachitisme hypophosphatémique lié à l'X, la production de FGF23 est multipliée par 5 puisque PHEX n'exerce plus son rôle d'inhibiteur de FGF23 en le clivant. On comprend alors aisément la baisse de la phosphatémie par fuite rénale au niveau des tubules proximaux¹⁶ (Figure 1).

Figure 1 : Schéma simplifié des mécanismes moléculaires mis en jeu dans le XLH



Source : Auteur

¹⁵ Santos et al., « Hypophosphatemia and growth ».

¹⁶ Pavone et al., « Hypophosphatemic rickets : etiology, clinical features and treatment ».

1.3 XLH : le phénotype

Les patients atteints de XLH présentent un bilan biologique anormal qui permet le diagnostic de la pathologie, entre 3 et 6 mois si les parents sont atteints (hypophosphatémie, hyperphosphaturie, activité de la phosphatase alcaline sérique augmentée, taux de 1,25 dihydroxyvitamine D circulante diminuée et augmentation du taux plasmatique de FGF23), de sévères déformations squelettiques, et des symptômes au niveau de la sphère oro-faciale. Ces atteintes de sévérité variable sont associées à des atteintes rhumatismales plus ou moins importantes selon la localisation¹⁷.

L'XLH provoque en général une croissance anormale qui se traduit à l'âge adulte par une petite taille, signe plus marqué chez les hommes. Certains patients présentent néanmoins une taille normale. Les membres inférieurs sont plus atteints que les membres supérieurs ce qui cause une disproportion. Ce retard semble uniquement dû à l'hypophosphatémie et non pas à un taux anormal d'hormones de croissance¹⁸¹⁹.

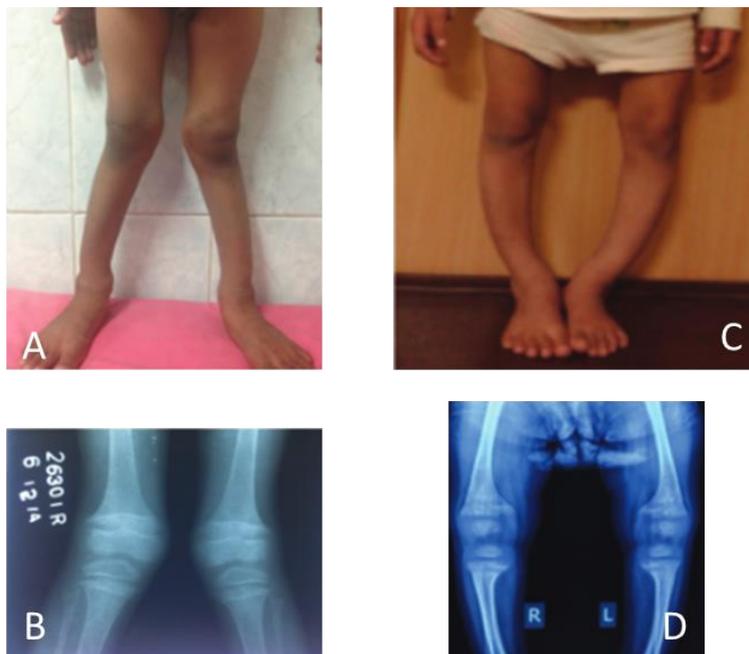
Les patients présentent des déformations sévères au niveau de l'axe des jambes, signe pathognomonique de la maladie qui permet un diagnostic précoce entre 12 et 18 mois si aucun cas n'a encore été décelé dans la famille. Cela va retarder l'apprentissage de la marche et provoquer un "dandinement" (waddling gait). Cette anomalie de l'axe des jambes liée à des torsions ou une courbure du tibia peut être de deux types : genu valgum ou genu varum (Figure 2) et peut être associée à un angle entre la tête du fémur et sa diaphyse anormalement fermé (coxa vara) ou ouvert (coxa valga). Cela entraîne fréquemment des douleurs chroniques et des difficultés à réaliser certaines activités physiques telles que le vélo ou l'équitation.

¹⁷ Ibid.

¹⁸ Santos et al., « Hypophosphatemia and growth ».

¹⁹ Pavone et al., « Hypophosphatemic rickets : etiology, clinical features and treatment ».

Figure 2 : Genu valgum et genu varum



Photographie clinique (A) et radiographie de face des genoux (B) d'un patient âgé de 7 ans atteint de rachitisme présentant un genu valgum bilatéral; Photographies cliniques (C) et radiographie de face des genoux (D) d'un patient âgé de 2,5 ans atteint de rachitisme présentant un genu varum bilatéral

Source : Prakash et al., « Is surgery always indicated in rachitic coronal knee deformities ? : our experience in 198 knees », 2017

Au niveau du poignet on note surtout une malformation du radius plus ou moins marquée selon les patients, causant un bourrelet facilement palpable au niveau de l'épiphyse.

Enfin, au niveau du thorax, on peut observer un « chapelet » de nouures osseuses au niveau des jonctions costo-chondrales appelé « rachitic rosary ».

Ces malformations osseuses pathognomoniques permettent, grâce au contrôle dans le temps de leur développement, de suivre l'évolution et de déterminer la sévérité de la maladie. On les contrôle par palpation au niveau des épiphyses des os longs et par radiographie.

A ces atteintes osseuses sévères sont associées des manifestations cranio-faciales et ORL, musculaires et rhumatismales.

Les anomalies dentaires sont décrites depuis 1960²⁰. Les patients présentent de nombreux abcès dentaires spontanés qui affectent les deux dentures, sans cause apparente de traumatisme ou de carie^{21,22,23,24} (Figure 3A et B). Le CAOD est alors plus élevé chez les patients²⁵.

- A l'examen clinique, les dents paraissent saines, ce qui complique le diagnostic et la discrimination de la dent causale.

- Radiographiquement, la pulpe camérale est hypertrophique avec des cornes proéminentes atteignant la jonction émail-dentine, typique des taurodontismes²⁶. Des cas de dysplasie radiculaire ont également été rapportés²⁷.

- Histologiquement, quelques anomalies de l'émail sont visibles telles que des fissures et des microcracks. De plus, la minéralisation de la dentine est anormale et on peut observer des calcosphérites incomplètement fusionnés, séparés par de larges zones inter globulaires non minéralisées (Figure 3.C à F), défauts confirmés par imagerie microCT^{28,29,30,31}. Ces défauts seraient dus à une accumulation de peptides ASARMS dans la matrice extra cellulaire des espaces inter globulaires de la dentine, empêchant la différenciation des odontoblastes et réduisant l'expression des gènes impliqués dans la production des protéines matricielles et la minéralisation de la matrice dentinaire.

Ces deux phénomènes expliquent sans doute la propagation rapide des bactéries à travers l'émail et la dentine ainsi que le développement des abcès spontanés.

Plus récemment ont été démontrées une prévalence et une sévérité accrues aux maladies parodontales comparées aux patients non atteints de XLH, avec des pertes d'attache plus importantes

²⁰ Harris et Sullivant, « Dental sequelae in deciduous dentition in vitamin D resistant rickets : case report ».

²¹ Gaucher et al., « Dentin noncollagenous matrix proteins in familial hypophosphatemic rickets ».

²² Boukpepsi et al., « Dentin alteration of deciduous teeth in human hypophosphatemic rickets ».

²³ Opsahl Vital et al., « Tooth dentin defects reflect genetic disorders affecting bone mineralization ».

²⁴ Linglart et al., « Therapeutic management of hypophosphatemic rickets from infancy to adulthood ».

²⁵ Chaussain-Miller et al., « Dental abnormalities in patients with familial hypophosphatemic vitamin d-resistant rickets : prevention by early treatment with 1-hydroxyvitamin D ».

²⁶ Ribeiro et al., « Enamel and dentin mineralization in familial hypophosphatemic rickets : a micro-CT study ».

²⁷ Foster et al., « Rare bone diseases and their dental, oral, and craniofacial manifestations ».

²⁸ Opsahl Vital et al., « Tooth dentin defects reflect genetic disorders affecting bone mineralization ».

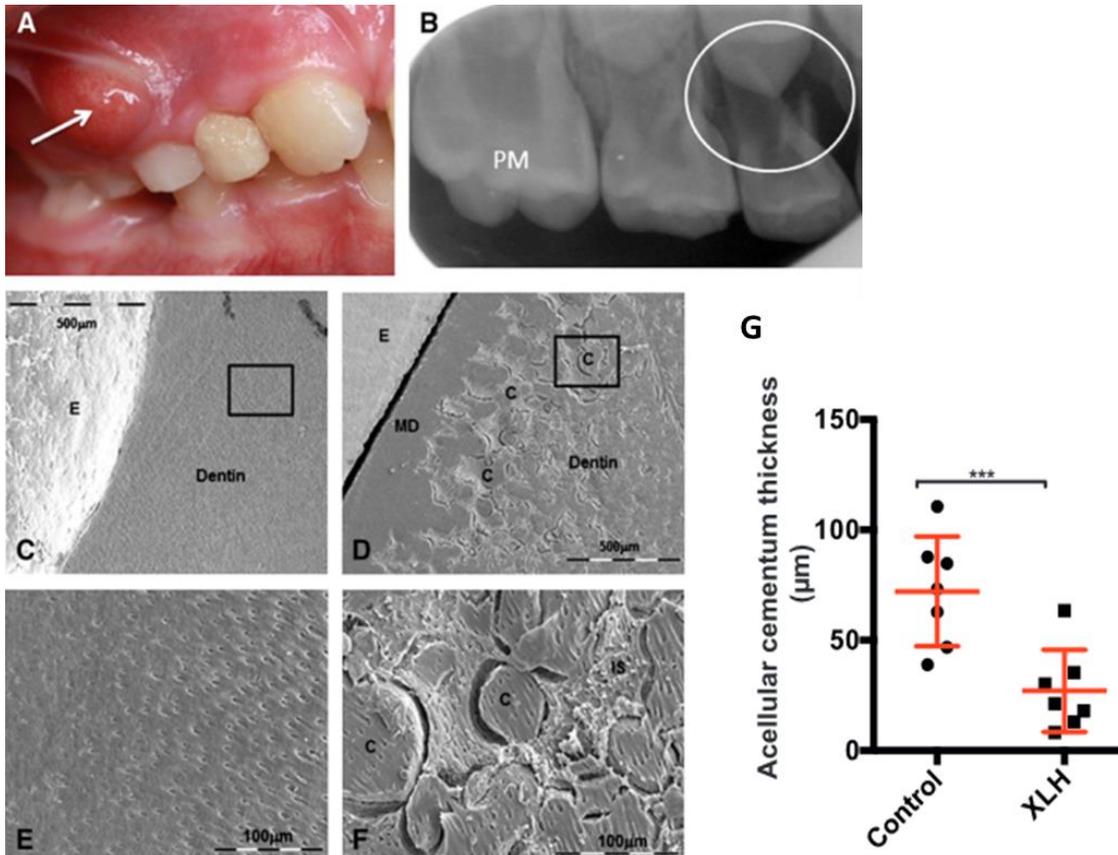
²⁹ Pereira et al., « Dental alterations associated with X-linked hypophosphatemic rickets ».

³⁰ Gaucher et al., « Dentin noncollagenous matrix proteins in familial hypophosphatemic rickets ».

³¹ Ribeiro et al., « Enamel and dentin mineralization in familial hypophosphatemic rickets : a micro-CT study ».

et des poches plus profondes pour des inflammations gingivales équivalentes³²³³. La perte d'attache est causée par une hypoplasie du cément acellulaire (Figure 3.G) et un manque d'attache du ligament parodontal.

Figure 3 : Phénotype dento-parodontal du XLH



Photographie clinique (A) et radiographie rétro-alvéolaire (B) d'un abcès dentaire sur une molaire temporaire sans antécédent de traumatisme ou de carie.

Coupes dentaires observées au microscope électronique à balayage. Minéralisation dentinaire homogène d'une dentine saine (C) et défaut de minéralisation de la dentine hypophosphatémique, excepté au niveau du manteau dentinaire [MD] (D) ; Dentine normale à plus fort grossissement (E) ; Dentine pathologique (F) à plus fort grossissement présentant des calcosphères [C] entre les espaces inter globulaires [IS] ;

Affinement du cément acellulaire chez les patients (G).

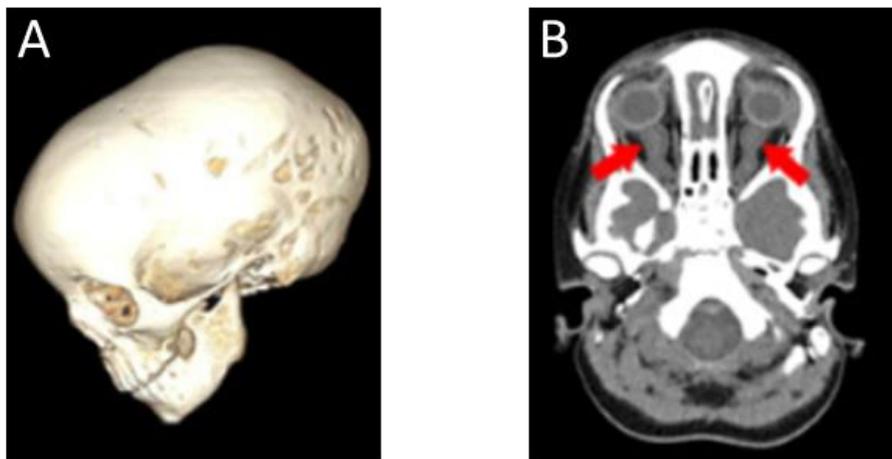
Source : A à F. Opshal Vital et al., « Tooth dentin defects reflect genetic disorders affecting bone mineralization », 2012 et Dr Douyère (Hôpital Bretonneau) ; G. Bioso Duplan et al., « Phosphate and vitamin D prevent periodontitis in X-linked hypophosphatemia », 2016

³² Ye et al., « Periodontal status of patients with hypophosphatemic rickets : a case series ».

³³ Bioso Duplan et al., « Phosphate and vitamin D prevent periodontitis in X-linked hypophosphatemia ».

Au niveau du crâne, les patients ont un élargissement des sutures avec un retard de fermeture de la fontanelle antérieure. On peut observer un craniotabès (ramollissement et diminution de l'épaisseur des os du crâne, en particulier les os pariétaux et occipitaux), modifiant la forme générale du crâne. Une cranosynostose (fusion prématurée de la suture sagittale) apparaît en général vers deux ou trois ans, causant un allongement du crâne dans le sens antéro-postérieur (scaphocéphalie) (Figure 4. A) et conduisant à une élévation de la pression intracrânienne et à un œdème papillaire³⁴³⁵ (Figure 4.B).

Figure 4 : Scaphocéphalie et œdème papillaire chez un enfant de 3 ans



Scanner d'une enfant de 3 ans atteinte de XLH montrant un allongement du crâne suggérant une fusion précoce de la suture sagittale (A) ; coupe scanner axiale du cerveau de la même patiente montrant un élargissement des gaines des nerfs optiques dû à un œdème papillaire (flèche rouge) (B)

Source : Foster et al., « Rare bone diseases and their dental, oral, and craniofacial manifestations »,

2014

³⁴ Dagi Glass, Forcht Dagi, et Dagi, « Papilledema in the setting of X-linked hypophosphatemic rickets with craniostynostosis ».

³⁵ Foster et al., « Rare bone diseases and their dental, oral, and craniofacial manifestations ».

Les patients atteints de XLH développent, à l'âge adulte uniquement³⁶, des déficiences auditives pouvant aller jusqu'à la surdité ainsi que des vertiges³⁷³⁸³⁹⁴⁰. Les causes de ces pertes auditives évolutives ne sont pas encore complètement élucidées. Une étude publiée en 1984⁴¹ a montré que sur 25 patients atteints de XLH, 12 présentaient des pertes auditives subjectives et 2 avaient des épisodes de tintements, surdité et vertiges rappelant la maladie de Ménière. Des tests ont montré que 19 patients avaient des pertes auditives de type neurosensoriel dans les basses et hautes fréquences avec une perturbation de la fonction de la cochlée associée à des hydrops endolymphatiques. Ce sont des anomalies de résorption de l'endolymphe qui conduisent à une distension du labyrinthe membraneux. L'étude de O'Malley⁴² a, quant à elle, démontré que les 11 patients atteints d'XLH inclus avaient tous de l'ostéosclérose généralisée et un affinement de l'os pétreux, avec un rétrécissement du méat acoustique interne dans sa partie moyenne, données validées en 2009⁴³.

Ils présentent également des atteintes au niveau musculaire⁴⁴⁴⁵. Ils ont à la fois un déficit de leur fonction musculaire et une faible densité musculaire. Ces modifications sont indépendantes du genre du patient et sont présentes chez les jeunes même si l'atteinte progresse avec l'âge. Elles sont dues à la fois à une qualité musculaire moindre (la densité musculaire est plus faible et leur infiltration graisseuse plus grande) et à une quantité plus faible puisque les membres des patients sont plus courts. Les déformations des membres inférieurs jouent également un rôle dans cette faiblesse musculaire.

³⁶ Fishman et al., « Hearing impairment in familial X-linked hypophosphatemic rickets ».

³⁷ Davies, Kane, et Valentine, « Impaired hearing in X-linked hypophosphataemic (vitamin-D-resistant) osteomalacia ».

³⁸ O'Malley et al., « The petrous temporal bone and deafness in X-linked hypophosphataemic osteomalacia ».

³⁹ Pantel et al., « Hearing loss and fluctuating hearing levels in X-linked hypophosphataemic osteomalacia ».

⁴⁰ Linglart et al., « Therapeutic management of hypophosphatemic rickets from infancy to adulthood ».

⁴¹ Davies, Kane, et Valentine, « Impaired hearing in X-linked hypophosphataemic (vitamin-D-resistant) osteomalacia ».

⁴² O'Malley et al., « The petrous temporal bone and deafness in X-linked hypophosphataemic osteomalacia ».

⁴³ Pantel et al., « Hearing loss and fluctuating hearing levels in X-linked hypophosphataemic osteomalacia ».

⁴⁴ Veilleux et al., « Abnormalities in muscle density and muscle function in hypophosphatemic rickets ».

⁴⁵ Veilleux et al., « The muscle-bone relationship in X-linked hypophosphatemic rickets ».

Enfin, l'XLH s'accompagne de nombreuses lésions structurales rhumatismales dégénératives⁴⁶⁴⁷⁴⁸ telles que de l'arthrose, des fractures incomplètes des os longs, des ostéophytes (excroissances osseuses au niveau des surfaces articulaires synoviales) et des enthésopathies (minéralisations ectopiques au niveau des sites d'insertion des tendons et ligaments, généralement dans les sites de fibrocartilage) (Figure 5). Ces manifestations cliniques peuvent limiter les fonctions et sont souvent douloureuses. Beck-Nielsen et al. (2009)⁴⁹ ont montré que parmi les patients inclus dans leur étude, 1/4 des moins de 40 ans et près de 60% des plus de 40 ans présentaient de l'arthrose au niveau des hanches, des genoux ou des chevilles. 85% des patients de plus de 40 ans avaient des enthésopathies et des calcifications entre les vertèbres.

- La formation des enthésopathies seraient dues à une expansion du fibrocartilage minéralisé dans la zone d'insertion des tendons et ligaments, en lien avec l'augmentation de la production de FGF23 dans l'organisme ou à une augmentation des contraintes mécaniques, et non pas à une formation osseuse par des ostéoblastes ni à une réaction inflammatoire contrairement aux enthésopathies retrouvées dans la spondylarthrite rhumatoïde⁵⁰.

- Concernant les ostéoarthropathies, Liang et al. (2011)⁵¹ ont montré une diminution de 50% de l'épaisseur du cartilage articulaire du genou chez le modèle murin de la pathologie (*Hyp*), causée par une absence de minéralisation par les chondrocytes articulaires à 7 mois et un envahissement vasculaire important alors que ce tissu est normalement avasculaire, rendant l'articulation plus susceptible aux ostéophytes.

A l'âge adulte des douleurs articulaires au niveau des hanches, genoux et poignets sont fréquemment reportées mais les douleurs sévères ne le sont qu'à partir de 40 ans. Quelques cas de sténoses vertébrales ont été reportés dues à des ostéophytes mais cela reste une complication rare de la maladie.

⁴⁶ Beck-Nielsen et al., « Phenotype presentation of hypophosphatemic rickets in adults ».

⁴⁷ Karaplis et al., « Mineralizing enthesopathy is a common feature of renal phosphate-wasting disorders attributed to FGF23 and is exacerbated by standard therapy in *Hyp* mice ».

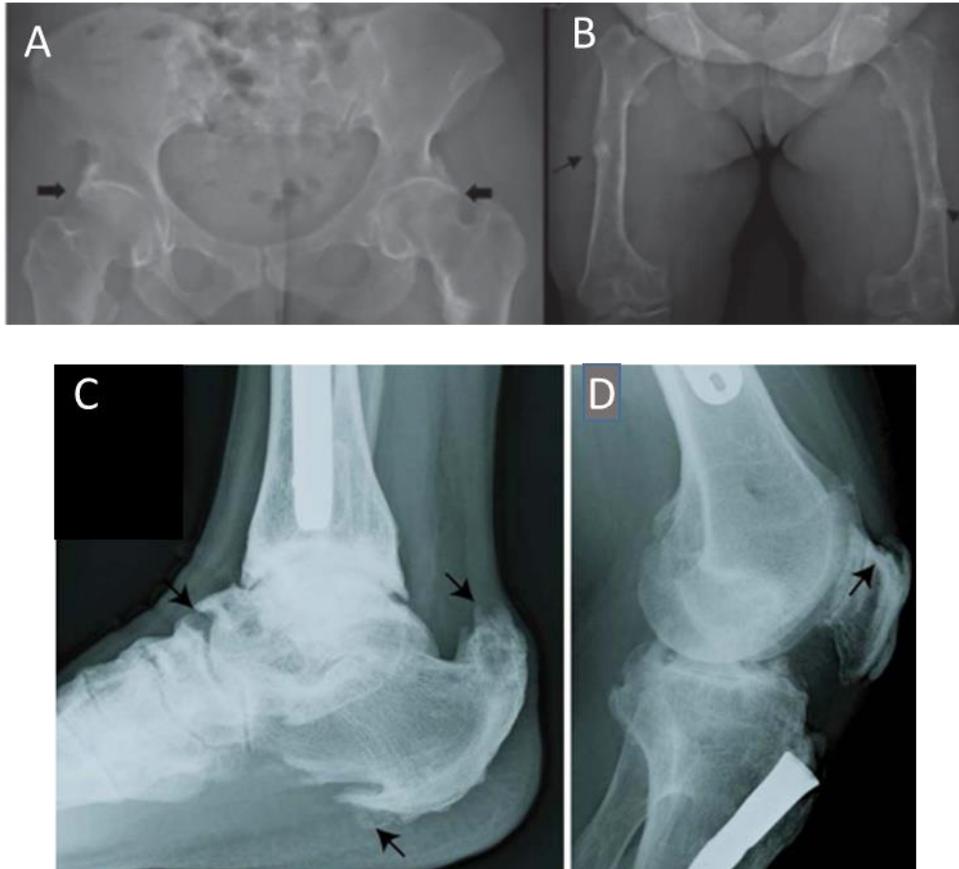
⁴⁸ Liang, VanHouten, et Macica, « An atypical degenerative osteoarthropathy in *Hyp* mice is characterized by a loss in the mineralized zone of articular cartilage ».

⁴⁹ Beck-Nielsen et al., « Phenotype presentation of hypophosphatemic rickets in adults ».

⁵⁰ Liang et al., « Survey of the enthesopathy of X-linked hypophosphatemia and its characterization in *Hyp* mice ».

⁵¹ Liang, VanHouten, et Macica, « An atypical degenerative osteoarthropathy in *Hyp* mice is characterized by a loss in the mineralized zone of articular cartilage ».

Figure 5 : Lésions rhumatismales chez l'adulte



Arthrose au niveau de l'articulation coxo-fémorale (A) ; Fracture fémorale (B) ; Enthésopathie proéminente et minéralisation progressive au site d'insertion du tendon d'Achille (flèches) (C) ; Calcification du ligament patellaire (D)

Source : A et B. Che et al., « Impaired quality of life in adults with X-linked hypophosphatemia and skeletal symptoms », 2016 ; C et D. Liang et al., « Survey of the enthesopathy of X-linked hypophosphatemia and its characterization in *Hyp* mice », 2009

1.4 XLH : les traitements actuels

Les objectifs principaux de traitement chez l'enfant sont les suivants : réduire les douleurs osseuses en quelques semaines, s'approcher du taux normal d'ALP en 6 à 12 mois, améliorer la vitesse de croissance en 1 an, restaurer une croissance rectiligne des membres inférieurs en 3-4 ans et améliorer la santé bucco-dentaire⁵².

Pour y répondre, les traitements ont évolué avec la compréhension des mécanismes de la maladie et, depuis les années 70, dès l'enfance, ils consistent en une supplémentation en phosphore oral en prises multiples pendant la journée (40 à 60 mg/kg/jr) et en un analogue de vitamine D activée (1 alpha dihydroxy vitamine D) (alfacalcicol 1 dose de 1 à 3 microg/kg/jr selon la période de croissance ou calcitriol 2 doses/jr de 0,5 à 1,5microg/kg/jr)⁵³⁵⁴⁵⁵. De nombreuses visites médicales pour surveiller le bilan biologique des patients et le risque d'apparition d'hypercalcémie et d'hyperparathyroïdisme sont nécessaires. La compliance du patient est indispensable pour limiter le développement des signes de la maladie et permettre un redressement des jambes (Figure 6). Mais malgré cela, des chirurgies ostéo-articulaires peuvent être indispensables au niveau des membres inférieurs (jambes arquées) et ne pas suffire à rétablir un alignement satisfaisant des os. La récurrence est non négligeable même avec un traitement médical adapté et bien suivi et il faut en général attendre la fin de la croissance pour réaliser ces chirurgies (Figure 7). Le risque élevé de fracture chez ces patients peut également conduire à des chirurgies reconstructrices (hanche, fémur, tibia...)⁵⁶.

⁵² Linglart et al., « Therapeutic management of hypophosphatemic rickets from infancy to adulthood ».

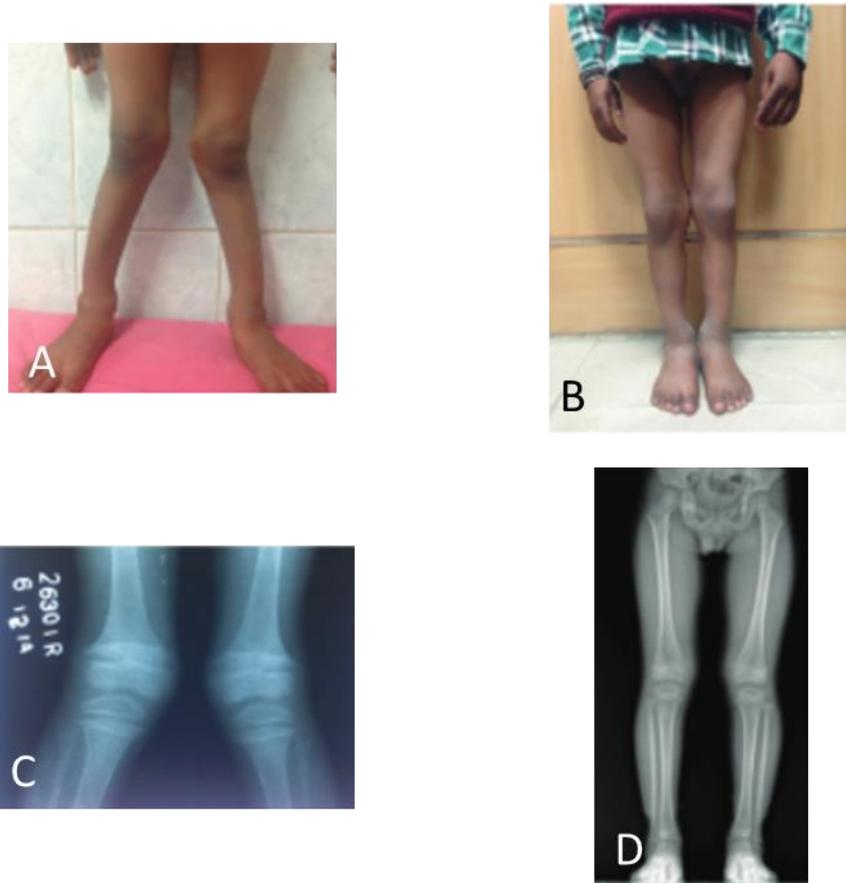
⁵³ Carpenter et al., « A clinician's guide to X-linked hypophosphatemia ».

⁵⁴ Linglart et al., « Therapeutic management of hypophosphatemic rickets from infancy to adulthood ».

⁵⁵ Pavone et al., « Hypophosphatemic rickets : etiology, clinical features and treatment ».

⁵⁶ Gizard et al., « Analyse critique des complications du traitement chirurgical des déformations des membres chez des enfants ayant un rachitisme hypophosphatémique ».

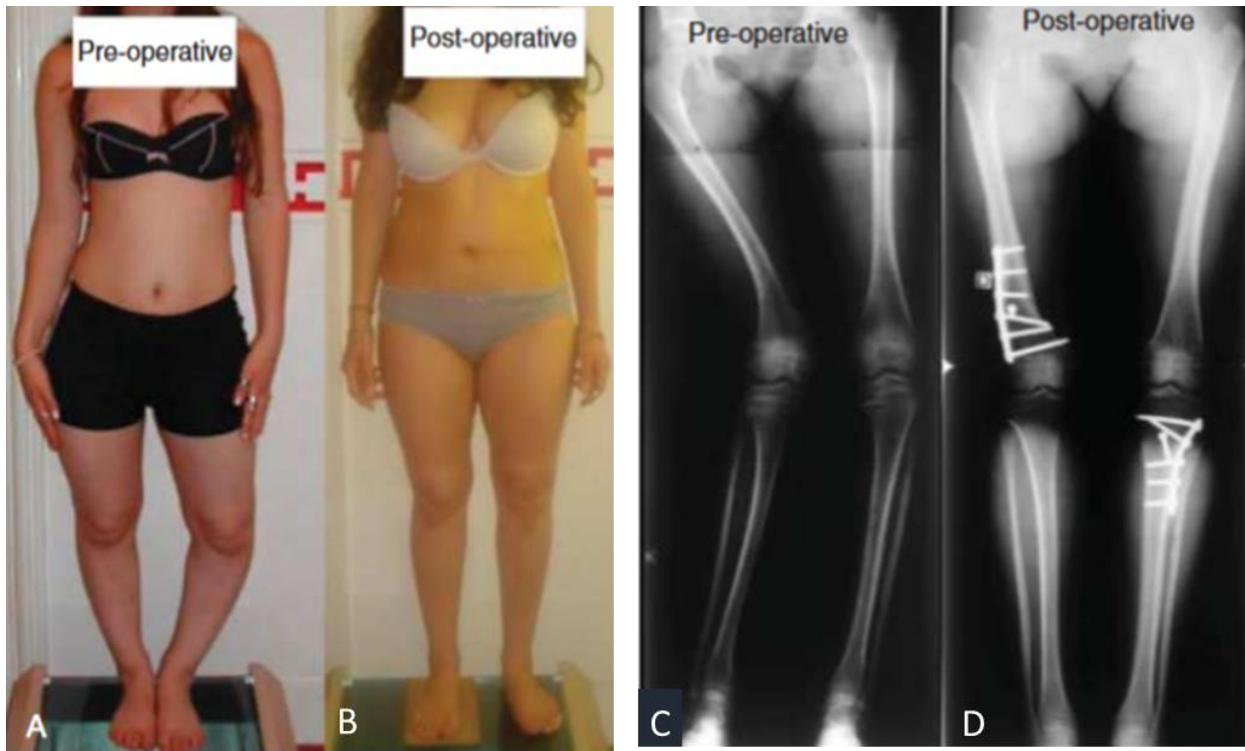
Figure 6 : Effets d'un an de traitement sur le genu valgum d'un patient de 7 ans



Photographie clinique (A) et radiographie des genoux de face (C) d'un patient de 7 ans présentant un genu valgum ; photographie clinique du même patient après 7 mois de traitement (B) et radiographies de ses jambes de face (D) après 1 an de traitement

Source : Prakash et al., « Is surgery always indicated in rachitic coronal knee deformities? Our experience in 198 knees », 2017

Figure 7 : Résultats de chirurgies d'ostéotomie chez une adolescente



Photographies cliniques et radiographies des jambes de face d'une patiente avant (A et C) et après (B et D) chirurgies d'ostéotomie

Source : Linglart et al., « Therapeutic management of hypophosphatemic rickets from infancy to adulthood », 2014

A l'âge adulte, beaucoup de patients arrêtent leur traitement à cause des multiples contraintes qui lui sont associés (prises multiples, goût des préparations). Il n'y a pas de consensus pour le prolonger. En général les patients qui continuent le traitement sont ceux qui sont douloureux ou ceux pour qui il existe une indication spécifique : fractures incomplètes des os longs, opérations chirurgicales d'ostéoplasties ou de pose d'implants dentaires afin d'améliorer le remodelage osseux, femmes enceintes pour lesquelles les besoins en phosphate et en calcium sont plus importants. Ces patients prennent des sels phosphatés 2 fois par jour et de la vitamine D activée. En poursuivant le traitement chez l'adulte, les douleurs musculaires et articulaires diminuent ; néanmoins, les enthésopathies s'aggravent : les traitements actuels semblent n'avoir que peu ou pas d'effet sur l'apparition de ces minéralisations ectopiques, suggérant qu'elles sont inhérentes à la maladie et non pas corrélées à l'ostéomalacie.

Les complications dues aux traitements sont en général un problème d'équilibre de la balance phosphate-calcitriol pouvant conduire à une hyper calciurie (liée à un excès de calcitriol) ou à un hyper parathyroïdisme (lié à un excès de phosphate stimulant la PTH et causant aussi la baisse de la calcémie) et évoluer vers le développement de néphrocalcinoses et d'une insuffisance rénale⁵⁷. On ne cherche donc pas une normalisation du phosphate sérique, simplement à l'augmenter.

Pour éviter les complications il faut réaliser des analyses biologiques tous les 3 mois : un dosage du calcium, du phosphore, de la créatinine et des phosphatases alcalines sériques, un dosage de la calciurie et de la créatininurie dans un échantillon d'urine sur 24 heures. Le PTH sérique doit également être évalué tous les 6 mois et une échographie rénale effectuée pour détecter les hypercalciuries.

⁵⁷ Pavone et al., « Hypophosphatemic rickets : etiology, clinical features and treatment ».

1.5 XLH : la qualité de vie des patients

L'XLH est une maladie lourde qui cause de nombreux symptômes. Les patients voient leur qualité de vie significativement diminuée comparativement à la population générale mais aussi à des patients atteints de maladies chroniques telle que l'arthrite rhumatoïde ou la spondylarthrite axiale, cette dernière étant une pathologie similaire sur le plan des symptômes squelettiques au XLH. Ils présentent de nombreuses lésions structurales telles que les enthésopathies au niveau de la colonne vertébrale lombaire, au niveau du pelvis et des talons, les ostéophytes et l'arthrose. En plus de la perte fonctionnelle qu'engendrent ces désordres, les patients montrent des douleurs évolutives et une fatigue musculaire significative⁵⁸⁵⁹ .

La plupart des patients rapportent des difficultés à effectuer les tâches quotidiennes. 92% d'entre eux relatent un inconfort ou une douleur et un quart présente des douleurs sévères ou extrêmes contre 41,6% dans la population générale. 83% évoquent des problèmes de mobilité contre 36%⁶⁰. A cela s'ajoutent la surdité évolutive et les problèmes dentaires et parodontaux déjà cités précédemment. Or une mauvaise santé orale a un impact négatif sur la qualité de vie⁶¹.

Les traitements actuels ont permis d'améliorer certains des points cités ci-dessus, tels que les maladies parodontales⁶². Ils restaurent une attache parodontale efficace et limitent les pertes dentaires (Figure 8. A et B). Le risque de développer une parodontite est alors le même chez les patients XLH et dans la population générale. Ces traitements permettent également, lorsque la compliance du patient durant l'enfance est bonne, d'améliorer la minéralisation de la dentine des dents permanentes. Néanmoins, si le patient cesse de prendre son traitement pendant quelques mois durant la phase d'établissement de la couronne dentaire, cela se répercute de manière directe sur la minéralisation dentinaire (Figure 8. C et D). La dentine, contrairement à l'os, n'est pas impliquée dans le métabolisme phosphocalcique. Ces défauts de minéralisation alors « enregistrés » dans le tissu sont observables sur coupes histologiques ou vues microscopiques de dents de patients, reflétant la compliance des patients. D'autre part, les techniques de prophylaxie au niveau des dents (scelllements de sillons à renouveler fréquemment) diminuent l'apparition d'abcès spontanés sans les éviter complètement. L'étude de Che et al.⁶³ a montré que le traitement par une supplémentation en

⁵⁸ Che et al., « Impaired quality of life in adults with X-linked hypophosphatemia and skeletal symptoms ».

⁵⁹ Forestier-Zhang et al., « Health-related quality of life and a cost-utility simulation of adults in the UK with osteogenesis imperfecta, X-linked hypophosphatemia and fibrous dysplasia ».

⁶⁰ Ibid.

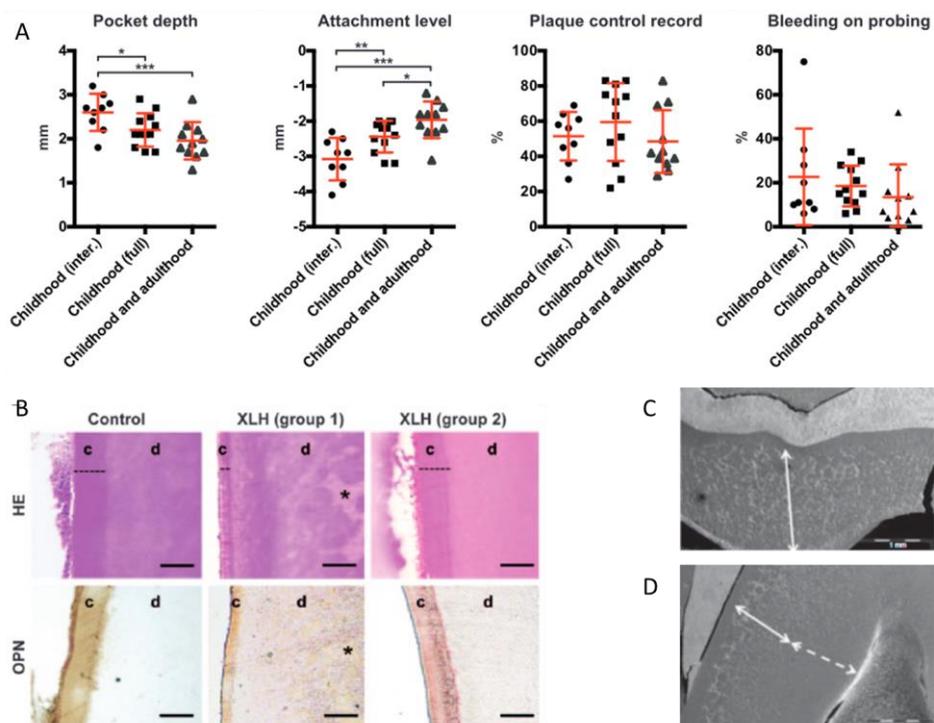
⁶¹ Needleman et al., « Impact of oral health on the life quality of periodontal patients ».

⁶² Biosse Duplan et al., « Phosphate and vitamin D prevent periodontitis in X-linked hypophosphatemia ».

⁶³ Che et al., « Impaired quality of life in adults with X-linked hypophosphatemia and skeletal symptoms ».

phosphate et en vitamine D améliorerait le moral des patients. Les traitements actuels sont néanmoins très contraignants, obligeant le patient à se plier à une posologie pluriquotidienne de phosphate qui a un goût très désagréable et ce dès l'enfance et durant toute sa vie s'il veut limiter au maximum l'apparition de l'ensemble des symptômes évolutifs de la maladie. Il ne faut pas non plus oublier les nombreuses visites médicales nécessaires pour surveiller le bilan biologique des patients et les risques d'hypercalcémie et d'hyperparathyroïdisme dus au dosage des traitements.

Figure 8 : Amélioration du phénotype dentaire des patients grâce au traitement



(A) Profondeur de poche, niveau d'attache, contrôle de plaque et saignement au sondage de patients ayant suivi un traitement intermittent durant l'enfance (childhood (inter.) : groupe 1), régulier pendant l'enfance (childhood (full) : groupe 2) ou durant l'enfance et à l'âge adulte avec une bonne compliance (childhood and adulthood : groupe 3). On note la plus forte amélioration de la santé parodontale pour les patients du 3^{ème} groupe pour un contrôle de plaque équivalent. (B) une bonne compliance au traitement durant l'enfance permet de recouvrir une épaisseur de ciment (c) satisfaisante et d'améliorer la minéralisation de la dentine (d). (C) Molaire permanente d'un patient XLH n'ayant pas été traité durant l'enfance. (D) Molaire d'un patient traité durant l'enfance mais tardivement : on note qu'une partie de la dentine externe présente des calcosphérites non fusionnés correspondant à l'absence de traitement durant l'enfance (flèche blanche pleine).

Source : A et B. Bioso Duplan et al., « Phosphate and vitamin D prevent periodontitis in X-linked hypophosphatemia, 2017 ; C. Linglart et al., Therapeutic management of hypophosphatemic rickets from infancy to adulthood », 2014

1.6 Prise en charge spécifique des patients

Le XLH est une maladie rare, ce qui implique une prise en charge spécifique des patients à différents niveaux. Afin de faciliter leur accès aux soins, plusieurs organismes vont se relayer : la filière de santé maladie rare, les centres de référence et les associations de patients.

Le centre de référence du métabolisme du calcium et du phosphore facilite l'accès au diagnostic et aux soins des patients tout en leur évitant de multiplier les consultations médicales. Il regroupe en un même siège (hôpital universitaire Bicêtre, Paris Sud) de nombreux spécialistes tels que des chirurgiens orthopédistes, des endocrinologues, des neurochirurgiens, des ORL, des radiologues, des diététiciens ou encore des chirurgiens-dentistes pour assurer une prise en charge globale du patient. En collaboration avec l'association RVRH XLH créée en 2011, le centre met en place chaque année des ateliers où patients et praticiens se rencontrent et parlent de différents aspects de la maladie. Ils permettent aux malades de rencontrer d'autres malades et ainsi de pouvoir partager leur expérience. Ils se sentent ainsi moins seuls. Ces journées sont également l'occasion pour eux de consulter l'ensemble des spécialistes regroupés dans le centre de référence. Depuis 2016, Le centre de référence fait désormais partie du réseau européen BOND (« bone rare disease network »), une collaboration qui permettra d'améliorer la connaissance de l'histoire naturelle de la maladie en facilitant le partage de données.

D'autre part, la filière santé des maladies rares de l'os, du calcium et du cartilage (OSCAR) créée en 2014 coordonne différents acteurs : les centres de références et les centres de compétence (qui permettent un suivi des patients à proximité de leur domicile), les associations de patients, les professionnels du secteur médico-social, les laboratoires d'analyse et de diagnostic moléculaire, les unités de recherche et les sociétés savantes. Cela permet d'améliorer la prise en charge des patients à un niveau supérieur mais également de développer la Recherche et de former les différents professionnels de santé.

1.7 Les modèles murins de la pathologie

Le modèle murin hypophosphatemic (*Hyp*) de la maladie a été découvert fortuitement en 1966 dans le laboratoire canadien Jackson au Canada par l'équipe d'Eicher et collaborateurs⁶⁴. Ils ont identifié une nouvelle mutation dominante située sur la partie distale d'un gène appelé *Hyp* qui correspond au gène *Phex* chez l'humain, sur le même chromosome X.

Il existe aujourd'hui 3 types différents de souris *Hyp* selon les mutations du gène *Phex*⁶⁵ :

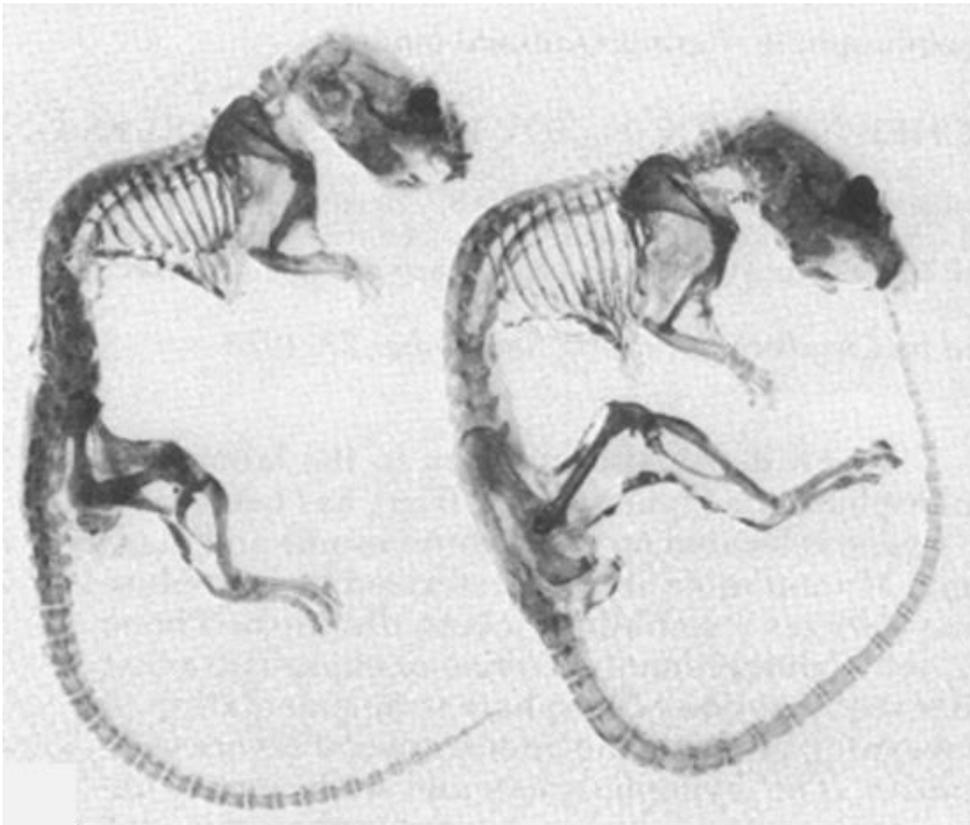
- B6.Cg-*Phex*^{HYP/J} (*Phex*^{Hyp}): la mutation est une délétion incluant les exons 16 à 22 du gène (Ce sont les souris qui sont utilisées dans cette étude)
- B6.C-*Phex*^{HYP-Duk/J} (*Phex*^{Hyp-Duk}) : la mutation consiste en une délétion d'au moins 30 kb contenant les exons 13 et 14 du gène.
- C57BL/6-*Phex*^{Hyp-2J/J} (*Phex*^{Hyp-2J}) : la délétion concerne au moins 7,3 kb, contenant l'exon 15 (Ce type ne possède pas de phénotype auditif de surdité connu).

La souris *Phex*^{Hyp} possède un phénotype similaire à celui des patients atteints de XLH : hypophosphatémie, hyperphosphaturie, normocalcémie, pas d'hyperparathyroïdisme et un taux de phosphatase alcaline augmenté. Les souris sont fertiles même si les femelles le sont plus. Elles ont un déficit auditif de l'oreille moyenne et interne dont l'origine n'est pas encore connue. Elles présentent un poids plus faible que les souris wildtypes, des os longs plus courts, plus fins et plus mous, une queue plus courte, des cartilages de conjugaison désorganisés et des minéralisations ectopiques comme les patients XLH ainsi que des dents et un parodonte anormaux. On peut les reconnaître des wildtypes dès 20 à 30 jours grâce à la taille plus faible de leurs membres inférieurs et de leur queue (Figure 9).

⁶⁴ Eicher et al., « Hypophosphatemia : mouse model for human familial hypophosphatemic (vitamin D-resistant) rickets ».

⁶⁵ The Jackson laboratory, « B6.Cg-*Phex*^{Hyp/J} »; The Jackson laboratory, « B6.C-*Phex*^{Hyp-Duk/J} »; The Jackson laboratory, « C57BL/6-*Phex*^{Hyp-2J/J} ».

Figure 9 : Photographies des squelettes d'une souris *Hyp* et d'une souris WT de 5 mois



Squelettes d'une souris mâle Hyp de 5 mois à gauche et d'une souris mâle WT de même lignée à droite. Le mâle Hyp est plus petit, a une queue moins longue et présente une cyphose dorso-lombaire.

Source : Eicher et al., « Hypophosphatemia: mouse model for human familial hypophosphatemic (vitamin D resistant) rickets », 1976

Problématiques

Les atteintes rhumatismales des patients atteints d'XLH impactent significativement leur qualité de vie⁶⁶. Malgré l'avancée des connaissances scientifiques concernant les mécanismes mis en jeu dans le développement de l'XLH, la survenue paradoxale de minéralisations ectopiques et les causes de ces atteintes restent encore inexpliquées.

Objectif

L'objectif principal de cette étude a été de valider l'utilisation du modèle murin *Hyp* dans l'étude de la survenue et du développement des manifestations rhumatismales afin de pouvoir, par la suite, étudier l'impact des thérapeutiques actuelles et novatrices sur celles-ci.

J'ai ainsi étudié l'histoire naturelle du développement des atteintes rhumatismales liées à l'XLH au travers d'une étude longitudinale par imagerie scanner microCT du modèle murin *Hyp* (entre 3 et 12 mois) et complété les données acquises par une étude histologique à 3 et 12 mois.

⁶⁶ Che et al., « Impaired quality of life in adults with X-linked hypophosphatemia and skeletal symptoms ».

1 : Matériel et méthodes

1.1 Gestion des animaux et autorisations

Le modèle murin Hypophosphatemic (*Hyp*) a été obtenu du laboratoire Jackson (Bar Harbor, ME, Etats Unis). Des femelles hétérozygotes *Hyp/X* et des mâles wildtypes (WT) ont été croisés afin d'obtenir les mâles *Hyp*⁻⁰ (n=6) et WT (n=6) de même lignée, utilisés pour cette étude. Des morceaux de queue ou d'oreille ont été prélevés pour le génotypage. Les souris ont été hébergées dans un environnement à température ambiante (23±2°C), à lumière contrôlée avec un accès illimité à l'eau et une nourriture en granules standards (rodent diet 3800PMS10, Provimi Kliba, Kaiseraugst, Switzerland).

Le sacrifice des souris a été réalisé par méthode chimique.

Toutes les expérimentations de cette étude ont été menées conformément aux guidelines ARRIVE et le protocole a été approuvé par le Comité de Soins Animaux des Services Vétérinaires Français (DPP Hauts de Seine, France ; numéro d'agrément C-9204901).

1.2 Génotypage

1.2.1 Extraction et dosage de l'ADN

Protocole d'extraction d'ADN (« EZ-10 Spin genomics DNA minipreps animal Kit ») :

- 30 mg de tissus (oreille ou queue) sont coupés et placés dans un tube stérile de 1,5ml puis lysés avec 300µl de solution d'ACL (animal cell lysis solution) et 20µl de protéinase K.
- Après incubation à 55°C jusqu'à lyse complète du tissu (au moins 2 heures), le mélange est ramené à température ambiante et centrifugé à 10000G pendant 5 min à température ambiante.
- 300µl de surnageant sont récupérés et transférés sur une colonne avec filtre (fournie dans le kit) puis mélangés avec 300µl de solution AB par centrifugation à 2000G durant 2 min.
- on y ajoute 500µl de solution de lavage et on centrifuge à 8000G durant 2 min. (étape renouvelée une fois)
- La colonne est placée sur un tube propre stérile et on ajoute 35 à 50 µl de tampon d'élution au centre de la membrane de la colonne. Elle est ensuite centrifugée à 8000G pendant 1 min pour éluer l'ADN.

L'ADN ainsi obtenu a ensuite été dosé à partir d'1µl d'éluat à l'aide du NanoDrop ND200 ThermoScientific.

1.2.2 PCR

Primers :

- *Hyp* WT/R 5'-GAT GAA AAG CCT GCA GTT-3'
- *Hyp* WT/F 5'-CAG GTC ACA TGC TTA CAG-3'
- *Hyp* Mut/R 5'-ACA TTT CTT GGG AAA GGT G-3'
- *Hyp* Mut/F 5'-GAC AGA GTC AAA TTC TGG CCC-3'

Bandes attendues après migration (Figure 10) :

- Une bande à 351 pb : *Hyp*
- Une bande à 235 pb : WT

Master mix pour une réaction (pour 2µl d'ADN) :

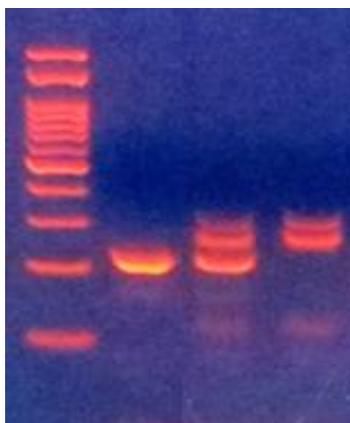
MQ H2O	15.15µl
10X Buffer	2.5µl
10mM dNTPs	0.5µl
10µM HYP WT/F primer	1µl
10µM HYP WT/R primer	1µl
10µM HYP Mut/F primer	1µl
10µM HYP Mut/R primer	1µl
50µM MgCl2	0.75µl
Taq polymerase*	0.1µl

**Taq Polymerase : Invitrogen™ Platinum™ DNA Polymerase (ThermoFisher)*

Cycles de PCR pour 25 µl :

94°C – 5min	} X36 cycles
94°C – 30s (dénaturation)	
58°C – 30s (hybridation)	
72°C – 30s (élongation)	
72°C – 5min	
4°C (pause)	

Figure 10 : Résultat de PCR



100 pb, WT, Femelle Hyp, Mâle Hyp

Source : Auteur

1.3. Etude d'imagerie

1.3.1 Analyses osseuses par X-ray micro computed tomography (Micro-CT)

Pour l'analyse de leur structure osseuse, les souris ont été anesthésiées (isoflurane, induction à 3–4% sous flux d'air à 0.8–1.5 L/min; 1.5–2% sous 400–800 mL/min ensuite). L'imagerie a été réalisée grâce au scanner haute résolution (Quantum FX Caliper, Life Sciences, Perkin Elmer, Waltham, MA, United States) de la plateforme d'imagerie du vivant Paris Descartes (PIV) micro-CT du laboratoire EA2496, Montrouge, France. Les images tridimensionnelles ont été acquises avec une taille de voxels isotropes de $20 \times 20 \times 20 \mu\text{m}^3$ (90 kV, 160 mA, 180s) à 3, 6, 9 et 12 mois pour les régions d'intérêt suivantes : corps entier, dorso-lombaire, lombo-sacrée, membre inférieur droit. Puis, à partir des données obtenues, des films parcourant les régions d'intérêt selon un axe choisi ont été extraits en utilisant le logiciel d'imagerie Osirix software 5.8 (Pixmeo, Switzerland). Deux rhumatologues de l'équipe du Dr Karine Briot de l'hôpital Cochin à Paris ont ensuite analysé les images des régions d'intérêt grâce à une grille de cotation établie en amont (Figure 11).

Figure 11 : Grille de cotation

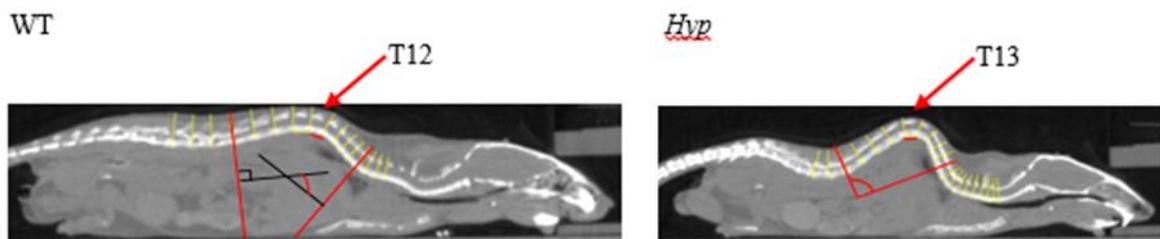
<p>1. <u>Articulations sacro-iliaques</u></p> <p>0 = aucune anomalie 1 = douteux</p> <p>-Erosion concernant la berge sacrée de la surface</p> <p>2 = de 0 à 25% 2,25 = 25% à 50% 2,50 = 50% à 75% 2,75 = 75% à <100% 3 = totalité de la berge sacrée</p> <p>-Erosion concernant la berge iliaque de la surface</p> <p>2 = 0 à 25% 2,25 = 25% à 50% 2,50 = 50% à 75% 2,75 = 75% à <100% 3 = totalité de la berge iliaque</p> <p>➔ A coter des 2 côtés</p>	<p>3. <u>Calcification(s) (hanches, patte arrière, rachis)</u></p> <p>Nombre de calcifications</p> <p>Et pour chaque calcification :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Visite 3 mois <p>0 = pas de calcification 1 = douteux 2 = calcification certaine (lecture à 3 mois)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Visite de suivi : <p>+0 = Stable 0,5 = Augmentation de moins 50 % du volume de la visite précédente 1 = Augmentation de plus 50 % du volume de la visite précédente</p>	<p>5. <u>Enthésophyte de la crête iliaque</u></p> <p>0 = aucune anomalie Oui=1 : présent Uni ou bilatéral à renseigner</p> <p>En coupe coronale :</p> <p>- pseudo élargissement de la SI G : non (0), oui (1) -pseudo élargissement de la SI D : non (0), oui (1)</p>
<p>2. <u>Enthésophytes du rachis</u></p> <p>0 = pas de pont 1 = douteux 2 = 0 à 25 % de l'interligne 2,25 = 25% à 50% de l'interligne 2,50 = 50% à 75% de l'interligne 2,75 = 75% à <100% de l'interligne 3 = pont complet</p> <p>➔ Pour chaque vertèbre</p>	<p>4. <u>Enthésophyte calcaneum+patte arrière</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Visite à M3 : <p>0 = aucune 1 = douteux 2 = présente</p> <ul style="list-style-type: none"> • Visite de suivi : <p>+0 = Stable 0,5 = Augmentation de moins 50 % du volume de la visite précédente 1 = Augmentation de plus 50 % du volume de la visite précédente</p> <p>➔ Uni ou bilatéral à renseigner</p>	<p>6. <u>Hanche : articulation des hanches</u></p> <p>Coxofémorale</p> <p>0 = aucune anomalie 1 = douteux 2 = pincement de 25 à 50 % de l'interligne 2,5 = de 50 à 75 % 2,75 = de 75 à <100 % 3 = pincement complet</p> <p>➔ A coter des 2 côtés</p>

Source : Faraji-Bellée et al., « Long-term skeletal complications in aging *Hyp* mice : osteoarthritis and enthésopathies as common feature of X-linked hypophosphatemia », Journées françaises de biologie des tissus minéralisés, 2017

1.3.2 Analyse de la cyphose dorso-lombaire des souris

L'emplacement et l'angulation de chacune des vertèbres dorso-lombaires des souris WT et *Hyp* à 3, 6, 9 et 12 mois ont été repérés sur des acquisitions sagittales issues des scanners corps entier grâce au logiciel ImageJ (Rasband, W.S., ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <https://imagej.nih.gov/ij/>, 1997-2016). L'angle de la cyphose dorso-lombaire a été défini, pour les souris *Hyp*, comme l'angle formé par la tangente au plateau inférieur de L4 et la tangente au plateau supérieur de T9 (ce qui correspond à 4 vertèbres de part et d'autre de la vertèbre apicale T13). Pour les souris WT, la vertèbre apicale étant T12, l'angle de la cyphose dorso-lombaire a été défini comme l'angle formé par la tangente au plateau inférieur de L3 et la tangente au plateau supérieur de T8 (Figure 12). Un script MATLAB (MATLAB 6.0, The MathWorks Inc., Natick, MA, 2000) a été développé en interne pour mesurer cet angle pour chaque souris, à tous les âges.

Figure 12 : Mesure de l'angle de cyphose dorso-lombaire



Source : Auteur

Les influences du temps et de la maladie ont été caractérisées à l'aide du test 2way RM ANOVA (Repeated Measure ANOVA, équivalent à un test One Way ANOVA pour des groupes non indépendants) suivi de comparaisons multiples avec correction de type Sidak. L'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel GraphPad Prism (GraphPad Prism version 6.0 for Mac) et les différences entre les groupes ont été considérées significatives pour $p < 0,05$.

1.4. Etude histologique

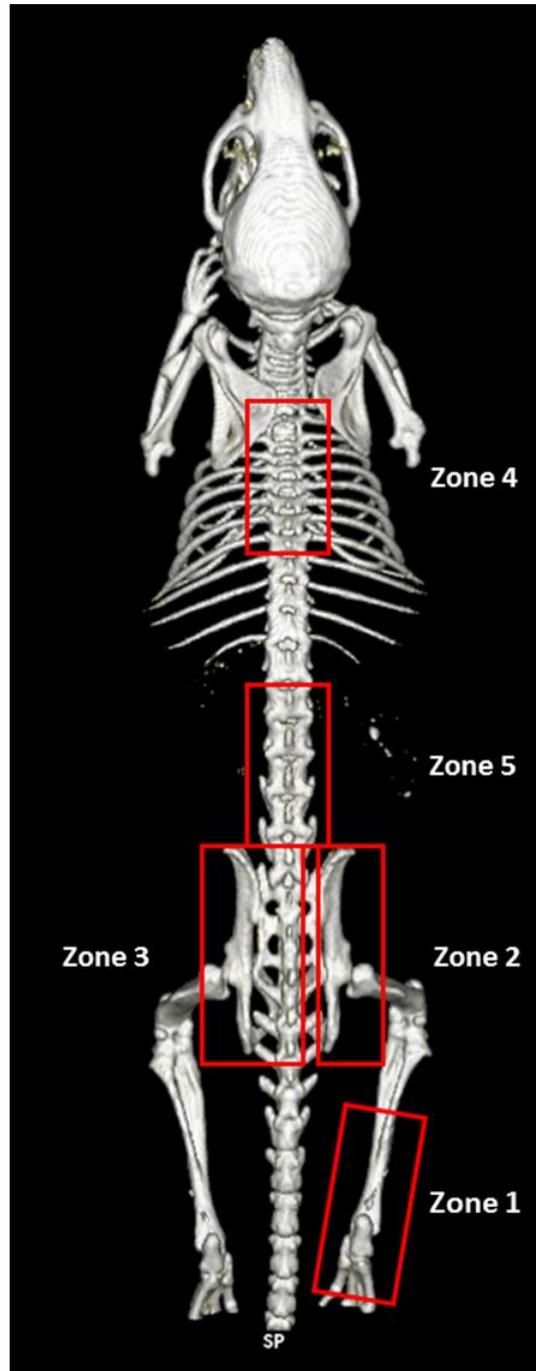
1.4.1 Zones de prélèvement

Les souris ont été sacrifiées par méthode chimique à 3 (n=2) et 12 mois (n=10).

Les échantillons non décalcifiés ont ensuite été fixés en alcool 70° avant d'être inclus en résine méthyl méthacrylate. Plusieurs zones ont été prélevées : les pattes droite et gauche qui ont été coupées en para sagittal (échantillons comprenant les deux tiers inférieurs du tibia et de la fibula, le calcaneum et la patte sans les phalanges ; zone 1), la moitié du bassin (incluant l'articulation coxo-fémorale et l'os iliaque ; zone 2) coupée frontalement, l'autre moitié du bassin coupée de manière axiale en partant de la crête iliaque (incluant l'os iliaque, les vertèbres sacrées en regard et l'articulation coxo-fémorale ; zone 3) et les vertèbres de part et d'autre de la cyphose dorso-lombaire (prélèvement des vertèbres à partir de la lordose cervicale jusqu'à 2 vertèbres avant celle qui constituait le sommet de la cyphose, c'est-à-dire T13 pour les souris *Hyp* et T12 pour les WT ; et les vertèbres partant de la 3ème vertèbre après la vertèbre apicale jusqu'au début de la lordose lombaire ; zone 4 et 5) (Figure 13).

Remarque : Au début de mon master les échantillons 12 mois étaient déjà fixés. J'ai donc préparé ces échantillons pour l'inclusion (dissection fine et nettoyage). J'ai par contre réalisé intégralement le prélèvement et la préparation des échantillons 3 mois, et j'ai inclus l'ensemble des échantillons pour mes analyses histologiques. Seules les histologies à 12 mois sont présentées ici, les analyses des échantillons 3 mois étant en cours.

Figure 13 : zones de prélèvement



Source : Auteur

1.4.2 Echantillons non décalcifiés

Les échantillons non décalcifiés sont déshydratés dans des bains de degrés croissants d'alcool puis fixés et inclus en résine méthyl méthacrylate (Merck, Darmstadt, Germany) polymérisée à -20°C pendant au minimum 48 heures⁶⁷. Les blocs sont ensuite coupés grâce au microtome (Polycut E microtome, Leica, Wetzlar, Germany) (coupes de 5 microns).

1.4.3 Coloration Von Kossa avec contre coloration au bleu de toluidine

Après déplastification au méthoxyethyl acétate et réhydratation des coupes, celles-ci sont colorées par une solution de nitrate d'argent à 5% pendant 30 minutes à l'abri de la lumière, rincées à l'eau distillée, plongées dans une solution de carbonate de sodium formaldéhyde 2 minutes puis rincées de nouveau. Une contre coloration au bleu de Toluidine a ensuite été réalisée : les coupes sont marquées au bleu de Toluidine pendant 10 minutes puis rincées dans un tampon (0,63g d'acide citrique, 0,30g de phosphate disodique, 400ml d'eau distillée) à pH 3,8. Elles sont passées successivement dans de l'alcool butylique tertiaire (ABT), un mélange d'ABT et de toluène puis dans du toluène avant d'être montées à l'Eukitt.

Cette coloration transforme les sels de calcium en sels d'argent, permettant après exposition à la lumière de mettre en évidence les sites de calcification sur la coupe.

1.4.4 Coloration au Trichrome de Goldner modifié

Les coupes non décalcifiées sont déplastifiées puis réhydratées ; elles sont plongées dans de l'hématoxyline de Weigert préalablement filtrée durant 25 minutes puis rincées. Puis elles sont marquées successivement à la Fuschine-Ponceau de Masson pendant 17 minutes, à l'Orange G acide phosphotungstique 7 minutes puis au Vert Lumière de Masson pendant 20 minutes, rincées à chaque fois à l'acide acétique 1% Borel. Les lames sont ensuite déshydratées à l'alcool 100° pendant 5 minutes. Elles sont passées dans du toluène puis montées à l'Eukitt.

⁶⁷ Baroukh et al., « Osteoclasts differentiate from resident precursors in an in vivo model of synchronized resorption : a temporal and spatial study in rats ».

Cette coloration met en évidence les fibres de collagène qui apparaissent en vert (Vert Lumière), les noyaux cellulaires en bleu foncé ou noir (hématoxyline), les cytoplasmes en rose/rouge (Fuscine-Ponceau) et les hématies en orange (Orange G).

1.4.5 Coloration à la Safranine O

Après déplastification et réhydratation des coupes, elles sont marquées pendant 10 minutes à l'hématoxyline de Weigert filtrée, rincées pendant 10 minutes puis marquées au fast green 5 minutes et rincées à l'acide acétique 1%. Elles sont enfin marquées à la safranine O pendant 5 minutes. Elles sont déshydratées puis passées dans du toluène afin d'être montées à l'Eukitt.

La safranine O va se lier aux protéoglycanes du cartilage et former un complexe rouge. La contre coloration à l'hématoxyline permettra de marquer les noyaux cellulaires en bleu-noir.

1.4.6 Analyse de l'activité enzymatique de la phosphatase acide tartrate résistante (TRAP)

Les coupes non décalcifiées sont déplastifiées et réhydratées puis marquées à l'abri de la lumière avec une solution à pH 5,2 contenant :

- 10 mg de naphthol ASTR phosphate
- 50 µl de NN diméthyl formaldéhyde
- 10 ml de tampon acétate au pH 5,2
- 230 mg de tartrate de sodium
- et 10 mg de Fast Red TR Salt

Elles sont incubées à 37°C pendant 1 heure puis rincées à l'eau distillée. Les lames sont montées avec une goutte d'eau et une lamelle.

La coloration de la phosphatase acide tartrate-résistante permet de visualiser l'activité des ostéoclastes.

1.4.7 Analyse de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline (ALP)

Les coupes non décalcifiées sont déplastifiées et réhydratées. Elles sont ensuite pré incubées dans du Tris-Triton 0,1% pendant 10 minutes, rincées au Tris 0,1 M à pH 9.

La solution suivante est préparée extemporanément à l'abri de la lumière :

- 5,35 mg de naphthol ASTR phosphate sont dissouts dans 100µl de diméthyl formamide
- Ajout de 8 mg de Fast blue RR salt
- Ajout de 10 ml de Tris 0.1M à pH 9
- Ajout de 3,33mg de MgCl₂
- Ajuster la solution à pH 9 puis filtrer. La solution obtenue doit être jaune.

Les coupes sont incubées avec cette solution 30 minutes à 37°C puis rincées au Tris 0,1M pH 9.

Les lames sont ensuite montées avec une goutte d'eau et une lamelle.

L'activité de la phosphatase alcaline reflète ici l'activité ostéoblastique.

1.4.8 Immuno-histochimie révélant la présence de l'ostéopontine (OPN)

1er jour :

Les coupes non décalcifiées sont déplastifiées puis réhydratées. Elles sont plongées dans une solution de glycine à 1% (2g de glycine dans 200 ml de PBS 1X) durant 5 minutes sous agitation puis rincées au PBS 1X.

Après avoir entouré les coupes de Dakopen, chacune reçoit 100µl de solution bloquante pendant 60 minutes à température ambiante sous agitation :

- Préparation du PBS Tween 0.05%+1% BSA :
 - 10ml PBS 1X
 - 20 µl Tween 20 dilué au ¼
 - 100 mg BSA
- 5 ml de la solution vont servir à constituer la solution bloquante à 10% de sérum de chèvre :
 - Enlever 500 µl des 5 ml
 - Ajouter 500 µl de SN de chèvre
- Les 5 autres millilitres constituent la solution diluante pour préparer l'anticorps primaire dilué au 1/20ème.

Après les 60 minutes de blocage, les lames sont égouttées, séchées et recouvertes d'anticorps au 1/20ème (sauf la coupe témoin qui est recouverte de solution diluante). Les lames sont incubées avec l'anticorps primaire 12 heures à 4°C sous agitation en chambre humide.

2ème jour :

Les lames sont rincées au PBS 1X 3 fois pendant 10 minutes sous agitation.

Les lames sont de nouveau séchées et on ajoute 100 µl par coupe d'anticorps secondaire biotinilé utilisé au 1/200ème qu'on laisse incubé 90 minutes à température ambiante sous incubation.

Les lames sont rincées au PBS 1X 3 fois pendant 10 minutes sous agitation.

Les peroxydases endogènes sont inhibées avec du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) à 3% 30 minutes à 37°C.

Les lames sont rincées 2 fois pendant 10 minutes au PBS 1X sous agitation puis 1 fois pendant 10 minutes au PBS 3% NaCl puis incubées avec le complexe Avidine Biotine pendant 60 minutes sous agitation.

Elles sont rincées au PBS 3% NaCl 2 fois 10 minutes sous agitation puis au Tris HCl à pH 7,6 10 minutes sous agitation :

- Pour 200 ml, peser 1.22g de Tris dans 200 ml d'eau
- ajuster le pH à 7,6 avec du HCl ½ pur

La solution DAB est préparée dans un tube stérile recouvert d'aluminium en mélangeant un comprimé de DAB (3.3 diaminobenzidine tablets SIGMAFAST D4293 50 sets) à 6,6 ml d'eau et un comprimé d'urée H₂O₂ (SIGMAFAST), puis filtrée 2 fois à 0,22µm.

Après rinçage au Tris, chaque coupe *Hyp* est révélée avec son témoin WT en parallèle à la DAB sous microscope. Puis les coupes sont rincées à l'eau distillée pour stopper la réaction.

2 : Résultats

2.1 Score composite des souris en fonction du temps

Le résultat des scores composites des souris pour les différentes régions d'intérêt a montré que les souris *Hyp*, contrairement aux souris WT, présentent dès 3 mois un phénotype rhumatismal très marqué, variable selon les individus et qui s'aggrave avec le temps : elles développent des enthésopathies, des érosions au niveau articulaire et des ossifications (Figure 14).

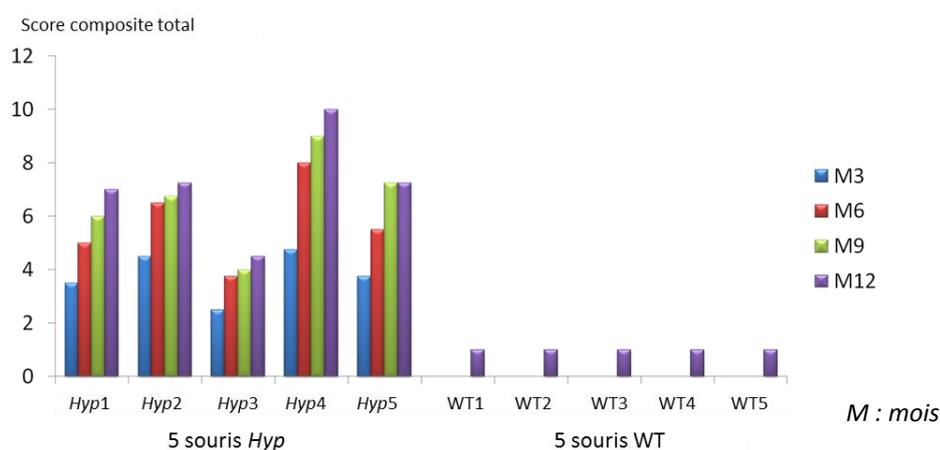
- Toutes les souris *Hyp* ont un score élevé d'érosion osseuse au niveau de l'articulation sacro-iliaque avec un score de 2.5 à 3 mois et 2.85 à 12 mois.

- Quatre des cinq souris *Hyp* ont une arthrose au niveau de l'articulation coxo-fémorale avec un score de 0 à 3 mois et 1.8 à 12 mois.

- Au niveau de la patte arrière, quatre souris *Hyp* ont des calcifications des tarse avec un score de 1 à 3 mois et 2.1 à 12 mois. Deux souris *Hyp* ont aussi une enthésopathie calcanéenne visible.

- Aucune des souris ne présentait d'enthésopathie au niveau du rachis sur les coupes scanner.

Figure 14 : histogramme représentant le score composite par souris au cours du temps

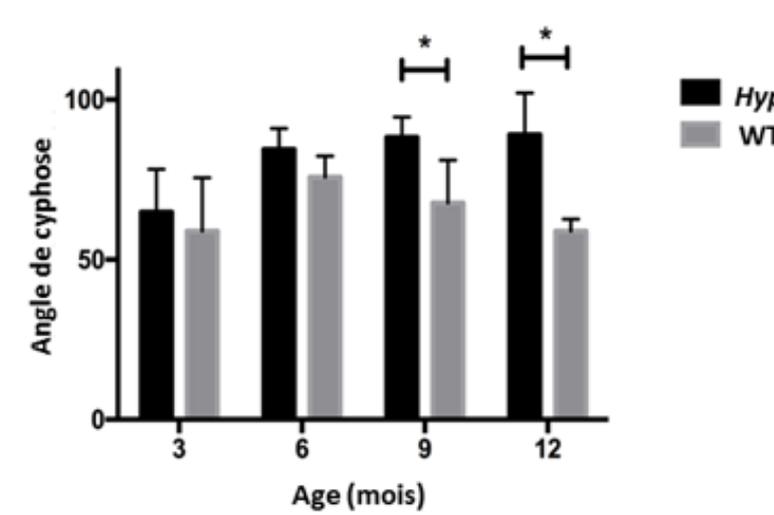


Source : Faraji-Bellée et al., « Long-term skeletal complications in aging *Hyp* mice : osteoarthritis and enthésopathies as common feature of X-linked hypophosphatemia », Journées françaises de biologie des tissus minéralisés, 2017

2.2. Modifications morphologiques des vertèbres lombaires associées à une cyphose dorso-lombaire

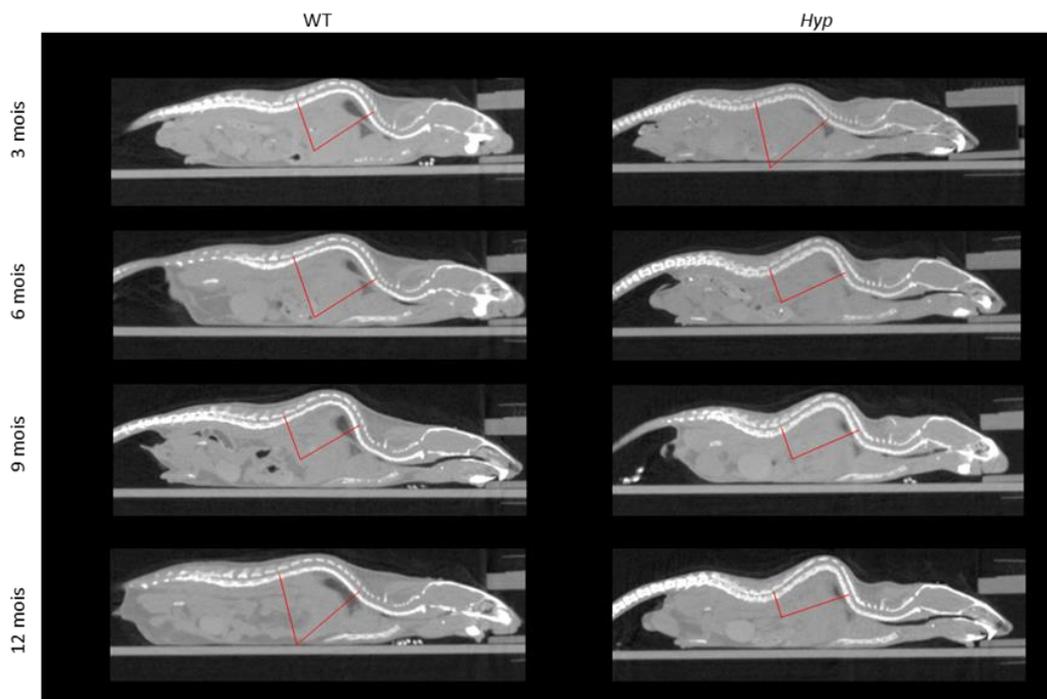
L'analyse des données microCT à 3, 6, 9 et 12 mois a révélé le développement au cours du temps d'une cyphose dorso-lombaire chez les souris *Hyp* (Figure 15). A 3 et 6 mois, aucune différence n'est observée entre les WT et les *Hyp* avec une légère augmentation de l'angle de cyphose entre les deux groupes. Puis, à partir de 9 mois l'angle des WT décroît de façon significative ($p < 0,05$) par rapport aux *Hyp* où l'angle augmente inversement jusqu'à 12 mois (Figure 16).

Figure 15 : Histogramme représentant la mesure de l'angle de cyphose dorso-lombaire en fonction de l'âge des souris



Source : Auteur

Figure 16 : Représentation de l'angle de cyphose dorso-lombaire pour une souris *Hyp* et une souris WT au cours du temps



Source : Auteur

Les vertèbres en aval de la vertèbre apicale à la cyphose (après T12 pour les souris WT, après T13 pour les *Hyp*) montrent également des différences morphologiques sur les scanners du rachis (Figure 17). Les vertèbres chez la souris *Hyp* apparaissent plus larges et courtes avec une forme modifiée (au niveau ventral), notamment L2 par rapport à la L1 chez la WT (qui sont situées au même niveau de la cyphose ; rectangles rouges de la Figure 17). En revanche, les scanners ne révèlent pas la présence de minéralisation pathologique au niveau du ligament antérieur ou postérieur dans les régions intervertébrales.

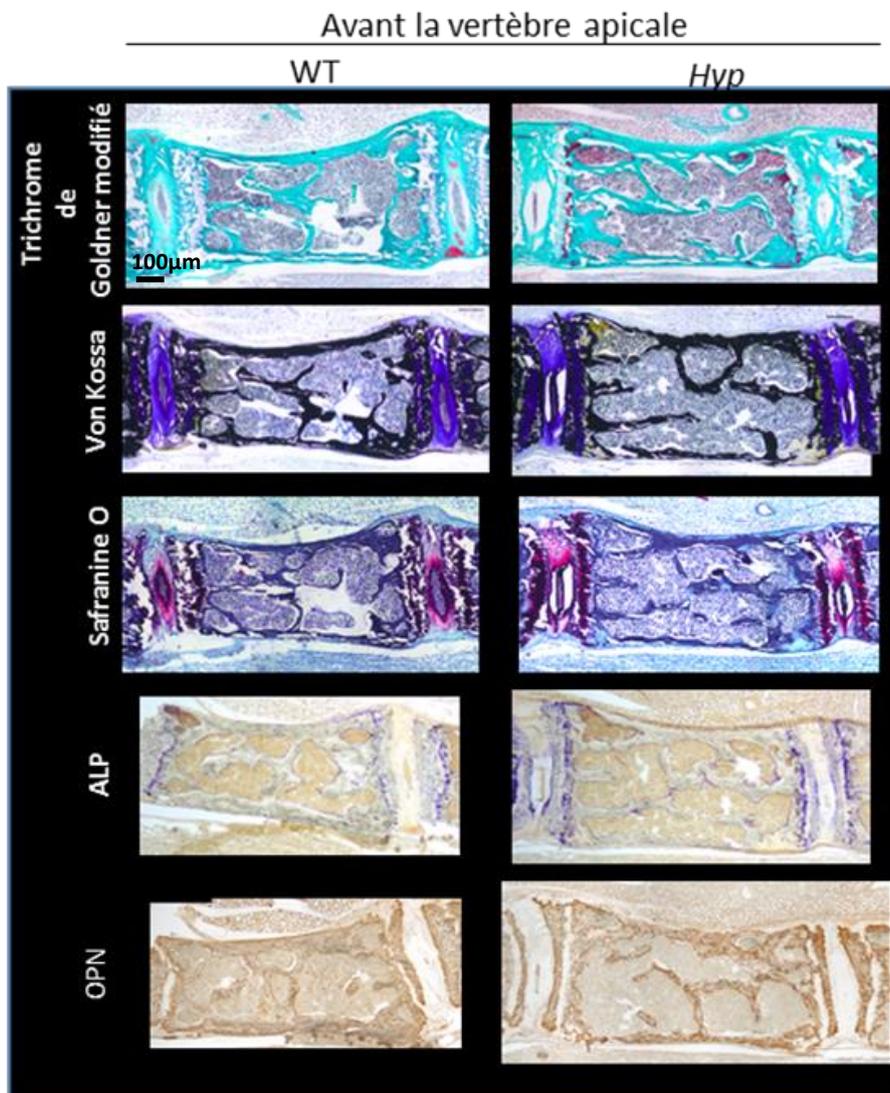
Figure 17 : Coupes scanner microCT de la colonne vertébrale dorso-lombaire d'une souris WT (à gauche) et d'une souris *Hyp* (à droite) à 12 mois



Source : Auteur

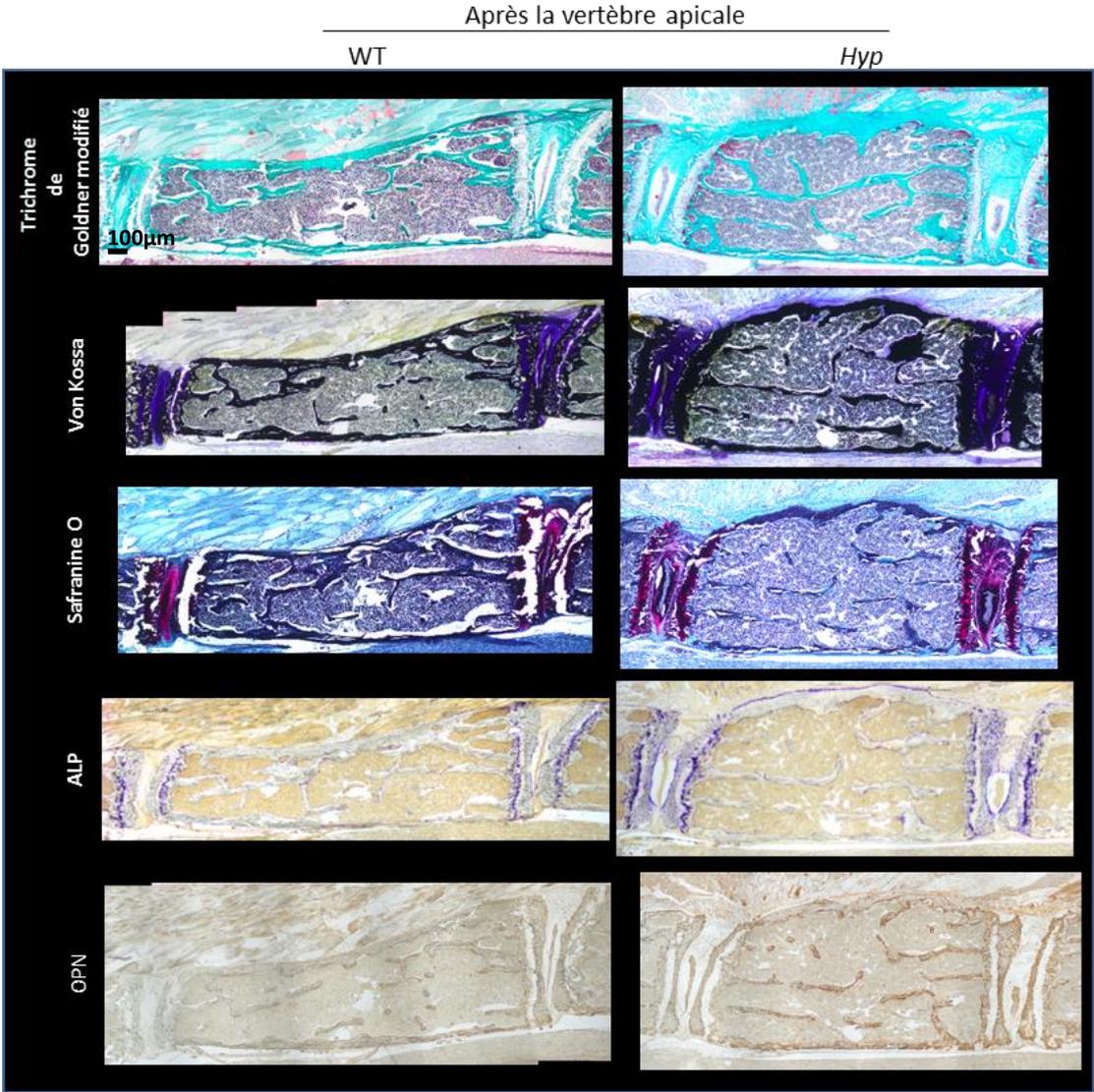
Les analyses histologiques confirment ces résultats. La coloration Von Kossa montre une corticale irrégulière et plus épaisse, notamment du côté ventral de la vertèbre (en haut des coupes histologiques sur les Figures 18 et 19) et la zone intervertébrale est moins organisée. Les différences les plus nettes sont observées pour les vertèbres après la cyphose. Les disques vertébraux sont plus tassés, avec une désorganisation des fibres collagéniques, comme le montre le Trichrome de Goldner modifié et les vertèbres sont plus courtes et plus larges. L'activité ALP est plus élevée au niveau de la corticale ventrale. Pour finir, on note un marquage pour l'OPN augmenté sur l'ensemble des trabéculations osseuses et corticales.

Figure 18 : Colorations histologiques de coupes minéralisées d'une vertèbre dorsale située avant la vertèbre apicale à 12 mois (zone 4 de la figure 12)



Source : Auteur

Figure 19 : Colorations histologiques de coupes minéralisées d'une vertèbre lombaire située après la vertèbre apicale à 12 mois (zone 5 de la figure 12)



Source : Auteur

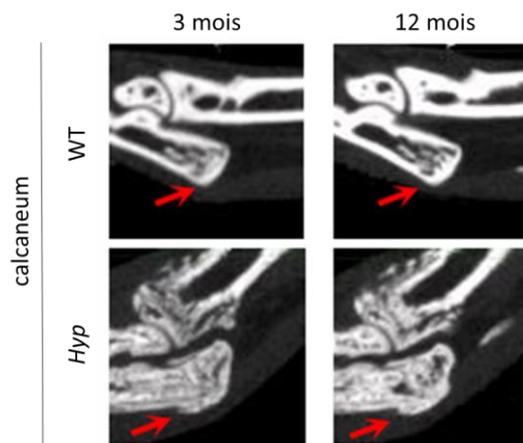
2.3 Développement d'enthésophytes dans la région calcanéenne, pincement de l'articulation tibio-astragaliennne et fusion des tarse

Des enthésophytes apparaissent précocement (dès 3 mois) et de manière bilatérale chez les souris *Hyp* dans la région du calcanéum (Figure 20). Les colorations Von Kossa mettent en évidence la minéralisation des insertions des fibres collagéniques tendineuses conduisant à une expansion de la minéralisation du fibrocartilage des enthèses. L'activité enzymatique ALP est, de façon globale, augmentée chez la souris *Hyp* et l'activité TRAP diminuée. On n'observe pas de modification de ces activités associée aux enthésopathies à 12 mois. Cependant l'expression de l'OPN est diminuée chez la souris *Hyp* en particulier dans la zone d'expansion de la minéralisation du fibrocartilage (Figure 21).

D'autre part, les souris *Hyp* présentent un pincement de l'articulation tibio-astragaliennne, visible au scanner ainsi que sur les coupes histologiques, avec un faible marquage TRAP du cartilage articulaire et une augmentation du signal ALP, suggérant un déséquilibre de la balance résorption/apposition associée à une diminution de l'expression d'OPN (Figure 21).

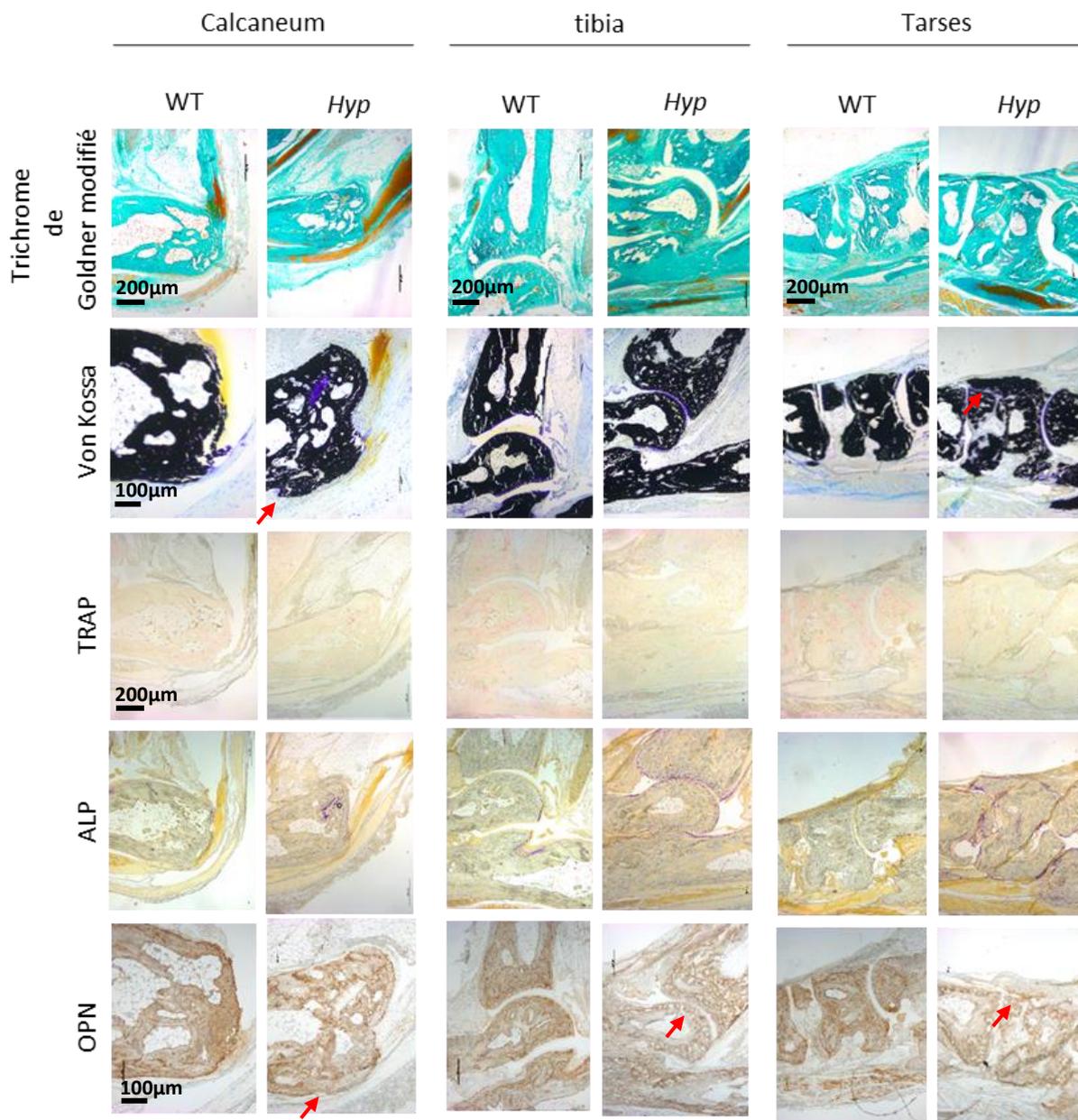
Enfin, on note une modification de forme associée à des calcifications ectopiques et une fusion des tarse chez les souris malades. Là encore, l'activité de l'ALP est augmentée au niveau des articulations inter tarsiennes et l'activité de la TRAP diminuée. De façon intéressante l'expression de l'OPN est globalement diminuée avec une expression très faible au niveau des calcifications ectopiques (Figure 21).

Figure 20 : Coupes sagittales microCT de la région calcanéenne d'une souris WT et d'une souris *Hyp* à 3 et 12 mois. (zone 1 de la figure 12)



Source : Auteur

Figure 21 : Colorations histologiques de coupes minéralisées sagittales de patte arrière à 12 mois (zone 1 de la figure 12)

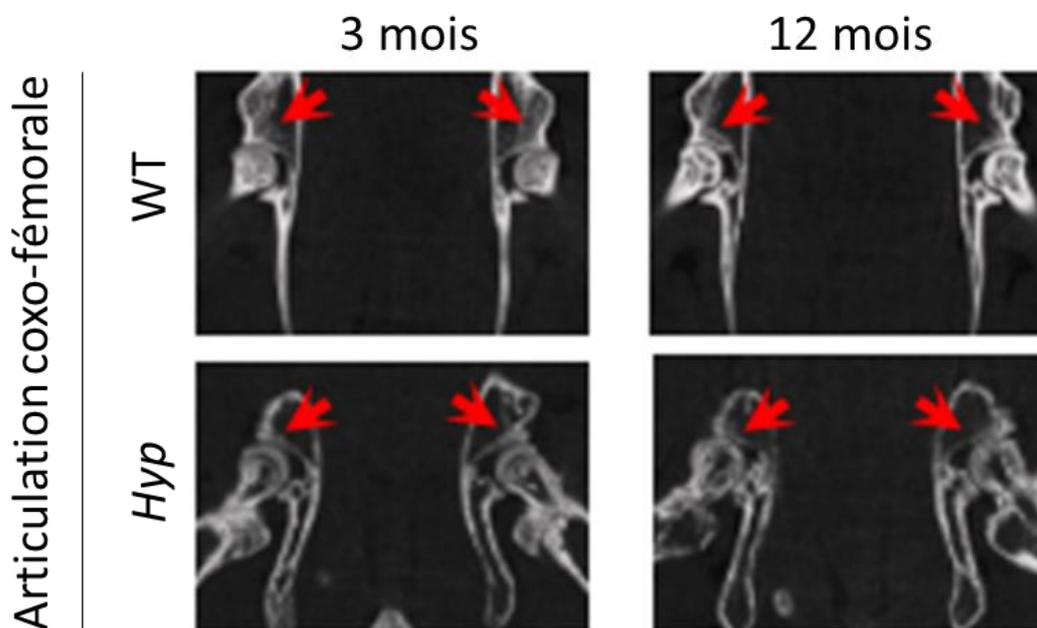


Source : Auteur

2.4 Erosion et pincement de l'interligne coxo-fémorale

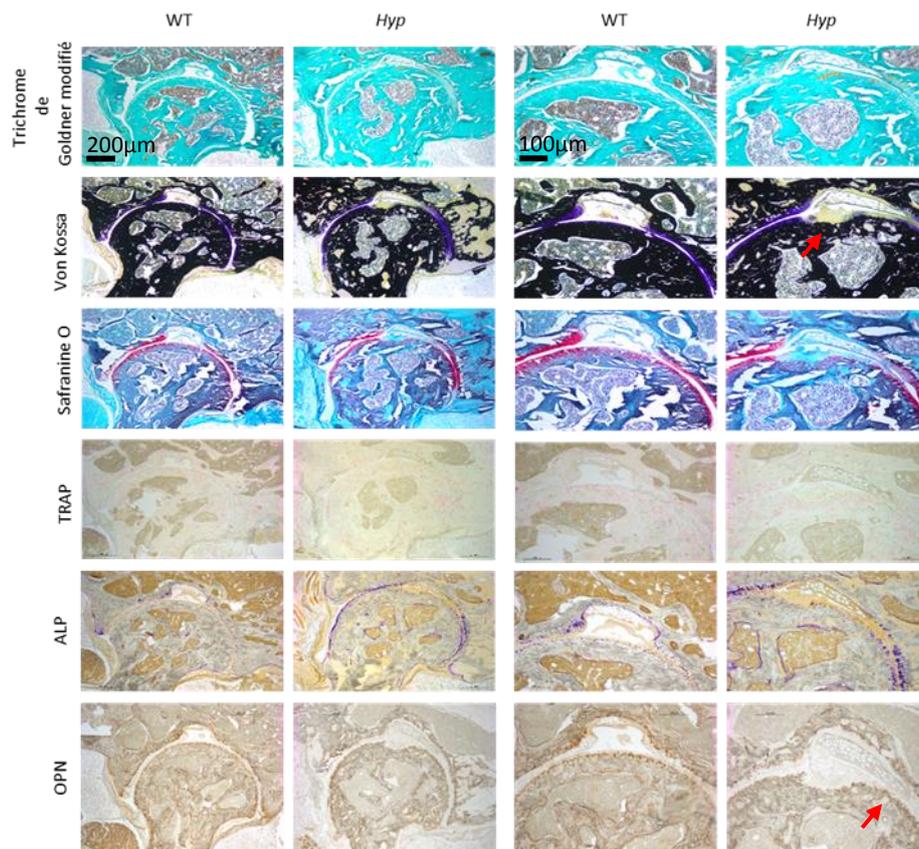
Les données d'imagerie ont montré le développement au cours du temps d'un pincement articulaire au niveau coxo-fémoral chez les souris *Hyp*, observable à partir de 9 mois, confirmé par les histologies à 12 mois (Figures 22 et 23). A 12 mois, des zones cartilagineuses sont érodées à la fois chez les WT et les *Hyp*, bien que plus développées chez ces dernières, notamment en regard de la fovea. Une absence complète de marquage à la safranine O et d'argent métallique ou de bleu de Toluidine sur la coloration au Von Kossa est observée dans cette zone, confirmant la dégénérescence du cartilage et la désorganisation de sa structure intrinsèque. La zone de cartilage articulaire semble également plus large chez les souris *Hyp*. Comme pour la patte, l'activité TRAP est diminuée et le marquage ALP augmenté sur l'ensemble de la zone articulaire sauf en regard de la fovea où les deux marquages sont quasi nuls. L'expression d'OPN est globalement diminuée, comme précédemment. On peut remarquer sur ces histologies, en particulier les colorations au Von Kossa, l'augmentation du ratio os trabéculaire/os cortical, pathognomonique des souris *Hyp* et visible en radiographie.

Figure 22 : Coupes coronales microCT des articulations coxo-fémorales d'une souris WT et d'une souris *Hyp* à 3 et 12 mois (zone 2 de la figure 12)



Source : Auteur

Figure 23 : Colorations histologiques de coupes minéralisées de l'articulation coxo-fémorale d'une souris WT et d'une souris *Hyp* à 12 mois (zone 2 de la figure 12)

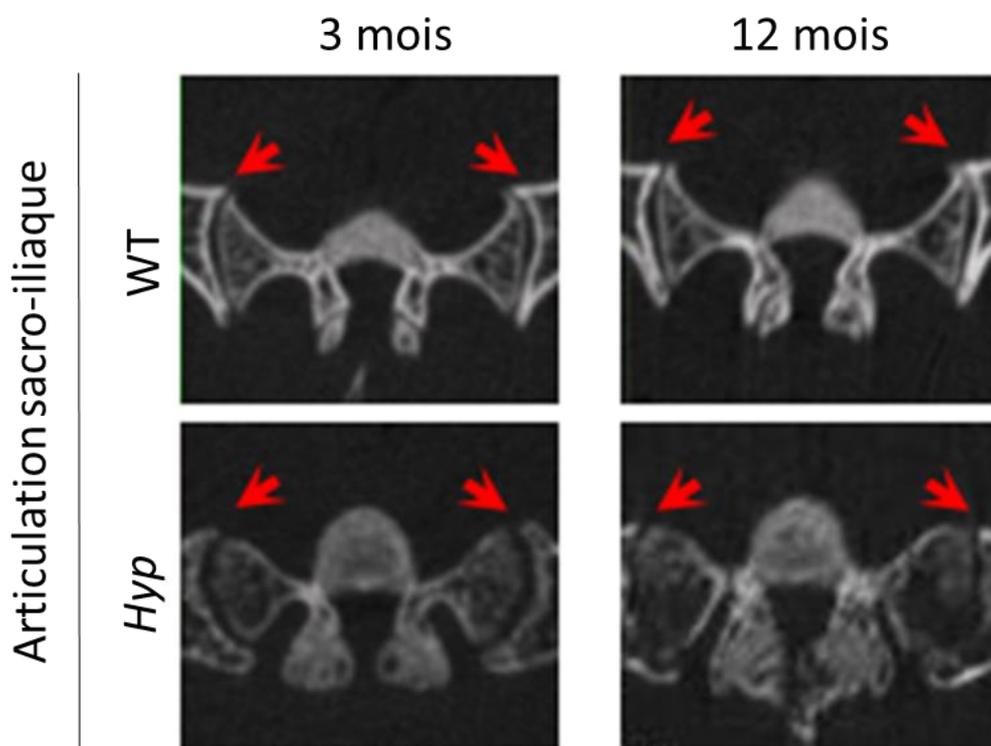


Source : Auteur

2.5 Erosions de l'articulation sacro-iliaque

L'analyse radiographique a montré une érosion des berges sacrée et iliaque de l'articulation sacro-iliaque de manière précoce (dès 3 mois) avec une aggravation au cours du temps (Figure 24).

Figure 24 : Coupes axiales microCT de l'articulation sacro-iliaque d'une souris WT et d'une souris *Hyp* à 3 et 12 mois (zone 3 de la figure 12)



Source : Auteur

3 : Discussion

L'ensemble de mes résultats montre que les souris *Hyp* développent des manifestations rhumatismales comparables à celles retrouvées chez l'Homme au cours du vieillissement.

Comme les patients atteints de XLH, les souris présentent des variabilités phénotypiques. Cependant, le score composite établi a montré que toutes les souris *Hyp* développent des lésions sévères dès 3 mois et que celles-ci s'aggravent au cours du temps, avec des scores plus élevés pour chacune des régions d'intérêt.

Les souris *Hyp* présentent une arthrose dégénérative au niveau sacro-iliaque et coxo-fémoral⁶⁸ et des enthésopathies au niveau calcanéen⁶⁹ de façon similaire aux patients atteints de XLH. En revanche le développement de la cyphose chez les souris *Hyp* n'est pas retrouvé chez ces patients et pourrait s'expliquer par les différences de contraintes mécaniques qui s'exercent sur le rachis dorso-lombaire associées à la motilité quadrupède de la souris et l'accumulation de matrice ostéoïde non minéralisée. Ces déformations dorso-lombaires sont assez similaires aux torsions et courbures tibiales retrouvées dans les phénomènes de genu valgum ou genu varum qui se forment très tôt chez l'enfant⁷⁰. De plus, on retrouve une forte accumulation d'OPN dans la vertèbre *Hyp* associée aux défauts de minéralisation, en particulier dans la matrice extracellulaire hypominéralisée de l'espace periosctéocytaire⁷¹. L'accumulation de SIBLINGs phosphorylées dans l'os telle que l'OPN jouerait un rôle d'inhibiteur de minéralisation qui favoriserait le déséquilibre de la balance phosphate-pyrophosphate (Pi-PPi) en faveur du PPI impliqué dans la physiopathologie de l'XLH⁷².

De façon intéressante, au niveau des autres sites étudiés (os appendiculaires et articulations), l'expression de l'OPN est diminuée. Concernant la matrice extracellulaire osseuse, nos résultats sont assez surprenants et suggèrent l'implication d'autres mécanismes dans les défauts de minéralisation au cours du vieillissement, en particulier l'implication d'autres protéines de la même famille SIBLINGs, telles que DMP1 ou MEPE. Pour ce qui est du cartilage, nos résultats sont en accord avec ceux de Liang

⁶⁸ Che et al., « Impaired quality of life in adults with X-linked hypophosphatemia and skeletal symptoms ».

⁶⁹ Liang et al., « Survey of the enthesopathy of X-linked hypophosphatemia and its characterization in Hyp mice ».

⁷⁰ Pavone et al., « Hypophosphatemic rickets : etiology, clinical features and treatment ».

⁷¹ Boukpepsi et al., « Osteopontin and the dento-osseous pathobiology of X-linked hypophosphatemia ».

⁷² Murali et al., « Excessive osteocytic FGF23 secretion contributes to pyrophosphate accumulation and mineralization defect in Hyp mice ».

et al.⁷³ qui ont montré une diminution des facteurs de la matrice extracellulaire, dont OPN, impliqués dans la différenciation terminale des chondrocytes articulaires chez la souris *Hyp*. Une correction de l'hypophosphatémie améliorerait la qualité du cartilage, suggérant que le phosphate est un régulateur clé dans le processus associé aux défauts de minéralisation du cartilage articulaire. De plus, l'OPN jouerait un rôle dans la destruction du cartilage en favorisant l'angiogenèse et en induisant l'apoptose des chondrocytes articulaires⁷⁴. Nos résultats suggèrent que la sous-expression de l'OPN au niveau des zones articulaires des souris *Hyp* pourrait être liée à un mécanisme de protection afin de réduire ces phénomènes d'apoptose et de ralentir la dégénérescence otéarthropathique.

De façon générale, que ce soit au niveau des sites osseux ou articulaire étudiés, les activités enzymatiques de la TRAP et de l'ALP sont respectivement diminuées et augmentées chez la souris *Hyp* comparé à la souris WT^{75/76/77}. Les zones de calcifications ectopiques au niveau du calcanéum ou des tarses présentent une augmentation de l'activité de l'ALP chez la souris *Hyp*, au niveau de l'enthèse et des minéralisations ectopiques des tarses. Cependant, l'absence d'accumulation d'OPN dans ces régions suggère des mécanismes de développement spécifiques.

Les analyses histologiques des souris à 3 mois permettront de préciser l'ensemble de ces phénomènes.

Mon travail permet donc de valider l'utilisation de la souris *Hyp* comme modèle des symptômes rhumatismaux associés à l'XLH et va permettre d'étudier et de comprendre l'apparition et la progression de ces symptômes. De plus, ce modèle va pouvoir être utilisé en pré-clinique afin d'étudier l'efficacité des traitements actuels et de nouvelles biothérapies actuellement à l'étude sur ces symptômes et donc de donner une indication de l'impact de ces traitements sur la qualité de vie des patients. En effet, une étude clinique chez l'Homme est en cours aux USA, au Canada et en Europe pour tester l'efficacité d'un nouveau traitement pour le rachitisme hypophosphatémique lié à l'X : un anticorps monoclonal anti FGF23 (KRN23), neutralisant l'effet du FGF23⁷⁸. Chez l'Homme,

⁷³ Liang, VanHouten, et Macica, « An atypical degenerative osteoarthropathy in Hyp mice is characterized by a loss in the mineralized zone of articular cartilage ».

⁷⁴ Yumoto et al., « Osteopontin deficiency protects joints against destruction in anti-type II collagen antibody-induced arthritis in mice ».

⁷⁵ Liang et al., « Survey of the enthesopathy of X-linked hypophosphatemia and its characterization in Hyp mice ».

⁷⁶ Liang, VanHouten, et Macica, « An atypical degenerative osteoarthropathy in Hyp mice is characterized by a loss in the mineralized zone of articular cartilage ».

⁷⁷ Murali et al., « Excessive osteocytic FGF23 secretion contributes to pyrophosphate accumulation and mineralization defect in Hyp mice ».

⁷⁸ Aono et al., « Therapeutic effects of anti-FGF23 antibodies in hypophosphatemic rickets/osteomalacia ».

l'administration de KRN23 améliore la réabsorption rénale du phosphate, permettant une normalisation de la phosphatémie avec un effet prolongé et une augmentation de la vitamine D activée sérique⁷⁹. Elle améliore ainsi le phénotype des patients (croissance, leg bowing). Ce traitement aurait pour avantage de diminuer drastiquement le nombre de prises médicamenteuses pour le patient (2 injections par mois) et faciliterait donc leur compliance et leur qualité de vie. Il diminuerait également les effets secondaires du traitement actuel. Néanmoins, les conséquences de ce traitement sur les lésions rhumatismales sont encore peu connues et pourront être étudiées sur le modèle murin *Hyp*.

⁷⁹ Carpenter et al., « Randomized trial of the anti-FGF23 antibody KRN23 in X-linked hypophosphatemia ».

4 : Conclusion

La souris *Hyp* présente des manifestations rhumatologiques similaires à celles que développent les patients atteints de XLH au cours du temps, ce qui permet de valider ce modèle pour l'étude du développement de ces symptômes. La compréhension de l'évolution de la maladie nous permettra d'une part de déterminer les facteurs prédictifs/explicatifs de sa progression et d'autre part d'évaluer l'efficacité de nouvelles biothérapies dans l'amélioration de la qualité de vie des patients telles que le nouveau traitement en cours de phase II/III d'essai clinique en Amérique du nord et en Europe : un anticorps monoclonal anti FGF23 (KRN23), neutralisant l'effet du FGF23.

Cette thèse met également en avant l'ensemble des données actuelles de la science concernant l'histoire du XLH et les points spécifiques qu'il reste encore à éclaircir, notamment en ce qui concerne les mécanismes physiopathologiques de développement de la maladie.

Bibliographie

- Albright, F., A. M. Butler, et E. Bloomberg. « Rickets resistant to vitamin D therapy ». *American journal of diseases of children* 54, n° 3 (1937): 529- 47. doi:10.1001/archpedi.1937.01980030073005.
- Aono, Y., Y. Yamazaki, J. Yasutake, T. Kawata, H. Hasegawa, I. Urakawa, T. Fujita, et al. « Therapeutic effects of anti-FGF23 antibodies in hypophosphatemic rickets/osteomalacia ». *Journal of bone and mineral research* 24, n° 11 (2009): 1879- 88. doi:10.1359/jbmr.090509.
- Bacchetta, J. « Le rachitisme hypophosphatémique : une tubulopathie proximale ! » *Archives de pédiatrie* 22, n° 5(1) (2015): 48- 49. doi:10.1016/S0929-693X(15)30025-7.
- Baroukh, B., M. Cherruau, C. Dobigny, D. Guez, et J. L. Saffar. « Osteoclasts differentiate from resident precursors in an in vivo model of synchronized resorption : a temporal and spatial study in rats ». *Bone* 27, n° 5 (2000): 627-634. doi:10.1016/S8756-3282(00)00372-0.
- Beck-Nielsen, S. S., K. Brusgaard, L. M. Rasmussen, K. Brixen, B. Brock-Jacobsen, M. R. Poulsen, P. Vestergaard, et al. « Phenotype presentation of hypophosphatemic rickets in adults ». *Calcified tissue international* 87, n° 2 (2010): 108- 19. doi:10.1007/s00223-010-9373-0.
- Biosse Duplan, M., B. R. Coyac, C. Bardet, C. Zadikian, A. Rothenbuhler, P. Kamenicky, K. Briot, A. Linglart, et C. Chaussain. « Phosphate and vitamin D prevent periodontitis in X-linked hypophosphatemia ». *Journal of dental research*, 2016, 1- 8. doi:10.1177/0022034516677528.
- BoukpeSSI, T., B. Hoac, B. R. Coyac, T. Leger, C. Garcia, P. Wicart, M. P. Whyte, et al. « Osteopontin and the dento-osseous pathobiology of X-linked hypophosphatemia ». *Bone* 95 (2017): 151- 61. doi:10.1016/j.bone.2016.11.019.
- BoukpeSSI, T., D. Septier, S. Bagga, M. Garabedian, M. Goldberg, et C. Chaussain-Miller. « Dentin alteration of deciduous teeth in human hypophosphatemic rickets ». *Calcified tissue international* 79, n° 5 (2006): 294- 300. doi:10.1007/s00223-006-0182-4.
- Carpenter, T. O., E. A. Imel, I. A. Holm, S. M. Jan de Beur, et K. L. Insogna. « A clinician's guide to X-linked hypophosphatemia ». *Journal of bone and mineral research* 26, n° 7 (2011): 1381- 88. doi:10.1002/jbmr.340.
- Carpenter, T. O., E. A. Imel, M. D. Ruppe, T. J. Weber, M. A. Klausner, M. M. Wooddell, T. Kawakami, et al. « Randomized trial of the anti-FGF23 antibody KRN23 in X-linked hypophosphatemia ». *The journal of clinical investigation* 124, n° 4 (2014): 1587- 97. doi:10.1172/JCI72829.
- Chaussain-Miller, C., C. Sinding, M. Wolikow, J-J. Lasfargues, G. Godeau, et M. Garabédian. « Dental abnormalities in patients with familial hypophosphatemic vitamin d-resistant rickets : prevention by early treatment with 1-hydroxyvitamin D ». *The journal of pediatrics* 142, n° 3 (2003): 324- 31. doi:10.1067/mpd.2003.119.
- Che, H., C. Roux, A. Etcheto, A. Rothenbuhler, P. Kamenicky, A. Linglart, et K. Briot. « Impaired quality of life in adults with X-linked hypophosphatemia and skeletal symptoms ». *European journal of endocrinology* 174, n° 3 (2016): 325- 33. doi:10.1530/EJE-15-0661.
- Dagi Glass, L. R., T. Forcht Dagi, et L. R. Dagi. « Papilledema in the setting of X-linked hypophosphatemic rickets with craniosynostosis ». *Case reports in ophthalmology* 2, n° 3 (2011): 376- 81. doi:10.1159/000334941.
- Davies, M., R. Kane, et J. Valentine. « Impaired hearing in X-linked hypophosphatemic (vitamin-D-resistant) osteomalacia ». *Annals of internal medicine* 100, n° 2 (1984): 230- 32. doi:10.7326/0003-4819-100-2-230.
- Dumas, R. « Les rachitismes vitaminorésistants ». *Archives de pédiatrie* 6, n° 7 (1999): 715- 19.
- Eicher, E. M., J. L. Southard, C. R. Scriver, et F. H. Glorieux. « Hypophosphatemia : mouse model for human familial hypophosphatemic (vitamin D-resistant) rickets ». *Proceedings of the national academy of sciences* 73, n° 12 (1976): 4667-4671.

- Feng, J. Q., E. L. Clinkenbeard, B. Yuan, K. E. White, et M. K. Drezner. « Osteocyte regulation of phosphate homeostasis and bone mineralization underlies the pathophysiology of the heritable disorders of rickets and osteomalacia ». *Bone* 54, n° 2 (2013): 213-21. doi:10.1016/j.bone.2013.01.046.
- Fishman, G., D. Miller-Hansen, C. Jacobsen, V. K. Singhal, et U. S. Alon. « Hearing impairment in familial X-linked hypophosphatemic rickets ». *European journal of pediatrics* 163, n° 10 (2004): 622-23. doi:10.1007/s00431-004-1504-z.
- Forestier-Zhang, L., L. Watts, A. Turner, H. Teare, J. Kaye, J. Barrett, C. Cooper, et al. « Health-related quality of life and a cost-utility simulation of adults in the UK with osteogenesis imperfecta, X-linked hypophosphatemia and fibrous dysplasia ». *Orphanet journal of rare diseases* 11, n° 1 (2016): 160. doi:10.1186/s13023-016-0538-4.
- Foster, B.L., M. S. Ramnitz, R. I. Gafni, A. B. Burke, A. M. Boyce, J. S. Lee, J. T. Wright, S. O. Akintoye, M. J. Somerman, et M. T. Collins. « Rare bone diseases and their dental, oral, and craniofacial manifestations ». *Journal of dental research* 93, n° 7 (1) (2014): 7-19. doi:10.1177/0022034514529150.
- Francis, F., S. Hennig, B. Korn, R. Reinhardt, P. de Jong, A. Poustka, H. Lehrach, et al. « A gene (PEX) with homologies to endopeptidases is mutated in patients with X-linked hypophosphatemic rickets ». *Nature genetics* 11, n° 2 (1995): 130-36. doi:10.1038/ng1095-130.
- Gaucher, C., T. Boukpepsi, D. Septier, F. Jehan, P. S. Rowe, M. Garabédian, M. Goldberg, et C. Chaussain-Miller. « Dentin noncollagenous matrix proteins in familial hypophosphatemic rickets ». *Cells tissues organs* 189, n° 1-4 (2008): 219-23. doi:10.1159/000151382.
- Gizard, A., P. Wicart, A. Linglart, Z. Pejic, G. Finidori, C. Glorion, et B. De Billy. « Analyse critique des complications du traitement chirurgical des déformations des membres chez des enfants ayant un rachitisme hypophosphatémique ». *Revue de chirurgie orthopédique et traumatologique* 101, n° 7 (2015): 157-58. doi:10.1016/j.rcot.2015.09.049.
- Harris, R., et H. R. Sullivant. « Dental sequelae in deciduous dentition in vitamin D resistant rickets : case report ». *Australian dental journal* 5, n° 4 (1960): 200-203.
- Karaplis, A. C., X. Bai, J.-P. Falet, et C. M. Macica. « Mineralizing enthesopathy is a common feature of renal phosphate-wasting disorders attributed to FGF23 and is exacerbated by standard therapy in Hyp mice ». *Endocrinology* 153, n° 12 (2012): 5906-17. doi:10.1210/en.2012-1551.
- Larkins, N. « Vitamin D deficiency and rickets : consensus at last ». *Archives of disease in childhood* 101, n° 4 (2016): 408. doi:10.1136/archdischild-2016-310665.
- Liang, G., L. D. Katz, K. L. Insogna, T. O. Carpenter, et C. M. Macica. « Survey of the enthesopathy of X-linked hypophosphatemia and its characterization in Hyp mice ». *Calcified tissue international* 85, n° 3 (2009): 235-46. doi:10.1007/s00223-009-9270-6.
- Liang, G., J. VanHouten, et C. M. Macica. « An atypical degenerative osteoarthropathy in Hyp mice is characterized by a loss in the mineralized zone of articular cartilage ». *Calcified tissue international* 89, n° 2 (2011): 151-62. doi:10.1007/s00223-011-9502-4.
- Linglart, A., M. Biosse-Duplan, K. Briot, C. Chaussain, L. Esterle, S. Guillaume-Czitrom, P. Kamenicky, et al. « Therapeutic management of hypophosphatemic rickets from infancy to adulthood ». *Endocrine connections* 3, n° 1 (2014): 13-30. doi:10.1530/EC-13-0103.
- McCune, D. V. « Refractory rickets ». *The journal of pediatrics* 5, n° 6 (1934): 872-73.
- Murali, S. K., O. Andrukhova, E. L. Clinkenbeard, K. E. White, et R. G. Erben. « Excessive osteocytic FGF23 secretion contributes to pyrophosphate accumulation and mineralization defect in Hyp mice ». *Plos biology* 14, n° 4 (2016): e1002427. doi:10.1371/journal.pbio.1002427.
- Needleman, I., C. McGrath, P. Floyd, et A. Biddle. « Impact of oral health on the life quality of periodontal patients ». *Journal of clinical periodontology* 31, n° 6 (2004): 454-57. doi:10.1111/j.1600-051X.2004.00498.x.
- O'Malley, S. P., J. E. Adams, M. Davies, et R. T. Ramsden. « The petrous temporal bone and deafness in X-linked hypophosphatemic osteomalacia ». *Clinical radiology* 39, n° 5 (1988): 528-530. doi:10.1016/S0009-9260(88)80224-1.

- Opsahl Vital, S., C. Gaucher, C. Bardet, P. S. Rowe, A. George, A. Linglart, et C. Chaussain. « Tooth dentin defects reflect genetic disorders affecting bone mineralization ». *Bone* 50, n° 4 (2012): 989-97. doi:10.1016/j.bone.2012.01.010.
- Pantel, G, R Probst, M Podvinec, et N Gürtler. « Hearing loss and fluctuating hearing levels in X-linked hypophosphataemic osteomalacia ». *The journal of laryngology and otology* 123, n° 1 (2009): 136. doi:10.1017/S0022215107001636.
- Pavone, V., G. Testa, S. G. Iachino, F. R. Evola, S. Avondo, et G. Sessa. « Hypophosphatemic rickets : etiology, clinical features and treatment ». *European journal of orthopaedic surgery and traumatology* 25, n° 2 (2015): 221-26. doi:10.1007/s00590-014-1496-y.
- Pereira, C. M., C. de Andrade, P. A. Vargas, R. Della Coletta, O. P. de Almeida, et M. A. Lopes. « Dental alterations associated with X-linked hypophosphatemic rickets ». *Journal of endodontics* 30, n° 4 (2004): 241-245. doi:10.1097/00004770-200404000-00015.
- Ribeiro, T. R., F. W. G. Costa, E. C. S. Soares, J. R Williams, et C. S. R. Fonteles. « Enamel and dentin mineralization in familial hypophosphatemic rickets : a micro-CT study ». *Dentomaxillofacial radiology* 44, n° 5 (2015): 20140347. doi:10.1259/dmfr.20140347.
- Rowe, P. S. N. « Regulation of bone- renal mineral and energy metabolism : the PHEX, FGF23, DMP1, MEPE ASARM pathway ». *Critical reviews in eukaryotic gene expression* 22, n° 1 (2012): 61-86. doi:10.1615/CritRevEukarGeneExpr.v22.i1.50.
- Salmon, B., C. Bardet, M. Khaddam, J. Naji, B.R. Coyac, B. Baroukh, F. Letourneur, et al. « MEPE-derived ASARM peptide inhibits odontogenic differentiation of dental pulp stem cells and impairs mineralization in tooth models of X-linked hypophosphatemia ». *Plos one* 8, n° 2 (2013): e56749. doi:10.1371/journal.pone.0056749.
- Santos, F., R. Fuente, N. Mejia, L. Mantecon, H. Gil-Peña, et F. A. Ordoñez. « Hypophosphatemia and growth ». *Pediatric nephrology* 28, n° 4 (2013): 595-603. doi:10.1007/s00467-012-2364-9.
- The Jackson laboratory. « B6.Cg-Phex^{Hyp}/J ». Consulté le 15 juin 2017. <https://www.jax.org/strain/000528>.
- . « B6.C-Phex^{Hyp-Duk}/J ». Consulté le 15 juin 2017. <https://www.jax.org/strain/005068>.
- . « C57BL/6-Phex^{Hyp-2J}/J ». Consulté le 15 juin 2017. <https://www.jax.org/strain/003950>.
- Veilleux, L-N., M. Cheung, M. Ben Amor, et F. Rauch. « Abnormalities in muscle density and muscle function in hypophosphatemic rickets ». *The journal of clinical endocrinology and metabolism* 97, n° 8 (2012): E1492-98. doi:10.1210/jc.2012-1336.
- Veilleux, L-N., M. S. Cheung, F. H. Glorieux, et F. Rauch. « The muscle-bone relationship in X-linked hypophosphatemic rickets ». *The journal of clinical endocrinology and metabolism* 98, n° 5 (2013): 990-95. doi:10.1210/jc.2012-4146.
- Ye, L., R. Liu, N. White, U. S. Alon, et C. M. Cobb. « Periodontal status of patients with hypophosphatemic rickets : a case series ». *Journal of periodontology* 82, n° 11 (2011): 1530-35. doi:10.1902/jop.2011.100736.
- Yumoto, K., M. Ishijima, S. R. Rittling, K. Tsuji, Y. Tsuchiya, S. Kon, A. Nifuji, T. Uede, D. T. Denhardt, et M. Noda. « Osteopontin deficiency protects joints against destruction in anti-type II collagen antibody-induced arthritis in mice ». *Proceedings of the national academy of sciences* 99, n° 7 (2002): 4556-4561. doi:10.1073/pnas.052523599.

Table des figures

Figure 1 : Schéma simplifié des mécanismes moléculaires mis en jeu dans le XLH.....	6
Figure 2 : Genu valgum et genu varum	8
Figure 3 : Phénotype dento-parodontal du XLH.....	10
Figure 4 : Scaphocéphalie et œdème papillaire chez un enfant de 3 ans.....	11
Figure 5 : Lésions rhumatismales chez l'adulte	14
Figure 6 : Effets d'un an de traitement sur le genu valgum d'un patient de 7 ans.....	16
Figure 7 : Résultats de chirurgies d'ostéotomie chez une adolescente	17
Figure 8 : Amélioration du phénotype dentaire des patients grâce au traitement	20
Figure 9 : Photographies des squelettes d'une souris Hyp et d'une souris WT de 5 mois	23
Figure 10 : Résultat de PCR	27
Figure 11 : Grille de cotation	28
Figure 12 : Mesure de l'angle de cyphose dorso-lombaire	29
Figure 13 : zones de prélèvement	31
Figure 14 : histogramme représentant le score composite par souris au cours du temps.....	36
Figure 15 : Histogramme représentant la mesure de l'angle de cyphose dorso-lombaire en fonction de l'âge des souris	37
Figure 16 : Représentation de l'angle de cyphose dorso-lombaire pour une souris Hyp et une souris WT au cours du temps.....	38
Figure 17 : Coupes scanner microCT de la colonne vertébrale dorso-lombaire d'une souris WT (à gauche) et d'une souris Hyp (à droite) à 12 mois.....	39
Figure 18 : Colorations histologiques de coupes minéralisées d'une vertèbre dorsale située avant la vertèbre apicale à 12 mois (zone 4 de la figure 12)	40
Figure 19 : Colorations histologiques de coupes minéralisées d'une vertèbre lombaire située après la vertèbre apicale à 12 mois (zone 5 de la figure 12)	41
Figure 20 : Coupes sagittales microCT de la région calcanéenne d'une souris WT et d'une souris Hyp à 3 et 12 mois. (zone 1 de la figure 12)	42
Figure 21 : Colorations histologiques de coupes minéralisées sagittales de patte arrière à 12 mois (zone 1 de la figure 12).....	43
Figure 22 : Coupes coronales microCT des articulations coxo-fémorales d'une souris WT et d'une souris Hyp à 3 et 12 mois (zone 2 de la figure 12)	44

Figure 23 : Colorations histologiques de coupes minéralisées de l'articulation coxo-fémorale d'une souris WT et d'une souris Hyp à 12 mois (zone 2 de la figure 12)	45
Figure 24 : Coupes axiales microCT de l'articulation sacro-iliaque d'une souris WT et d'une souris Hyp à 3 et 12 mois (zone 3 de la figure 12)	46

Vu, le Directeur de thèse

Vu, le Doyen de la Faculté de Chirurgie dentaire
de l'Université Paris Descartes

Docteur Claire BARDET

Professeur Louis MAMAN

Vu, le Président de l'Université Paris Descartes

Professeur Frédéric DARDEL

Pour le Président et par délégation,

Le Doyen Louis MAMAN

Le rachitisme hypophosphatémique lié à l'X : histoire naturelle de la maladie par un suivi longitudinal du modèle murin *Hyp*

Résumé :

Le rachitisme familial hypophosphatémique est principalement transmis selon un mode dominant lié à l'X (XLH), résultant d'une mutation du gène *PheX* (The HYP Consortium, 1995) qui conduit à une augmentation de FGF23 (facteur de croissance hypophosphatémiant) et une fuite rénale de phosphate. Les patients atteints présentent une petite taille, de sévères déformations des membres inférieurs et des infections dentaires récurrentes (Linglart et al., 2014). Le traitement actuel (Chaussain-Miller et al, 2003 ; Linglart et al, 2014) est contraignant, consistant en l'administration de phosphore et d'un analogue de vitamine D activée plusieurs fois par jour ; Il nécessite une forte compliance du patient pour obtenir des résultats et malgré cela, des anomalies phénotypiques persistent. Améliorant la phosphatémie et la croissance, les traitements ne corrigent pas les anomalies locales des matrices osseuse et dentinaire dues à l'absence de PHEX. Avec l'âge, les patients manifestent une diminution importante de la qualité de vie associée à des manifestations rhumatologiques sévères : arthrose, ossifications ectopiques (ostéophytes et enthésiopathies). Notre but est d'étudier l'histoire naturelle du XLH pour mieux prévenir l'apparition de ces manifestations rhumatologiques. Pour cela nous avons réalisé un suivi longitudinal du modèle murin de la pathologie, la souris hypophosphatémique (*Hyp*). Les atteintes et leur répartition sont étudiés à 3, 6, 9, et 12 mois par microCT et analyses immunohistochimiques. La souris *Hyp* présente des atteintes similaires à l'Homme, validant ce modèle pour l'étude des mécanismes impliqués et l'effet de la thérapeutique actuelle sur leur développement. La compréhension de l'évolution de la maladie nous permettra à terme d'évaluer l'efficacité d'une nouvelle biothérapie : un anticorps monoclonal anti FGF23 (KRN23), neutralisant l'effet de FGF23. C'est un nouveau traitement en cours d'essai clinique aux USA et au Canada.

Discipline :

Physiologie dentaire

Mots clés fMesh et Rameau :

Rachitisme hypophosphatémique -- Dissertations universitaires ; Enthésopathie -- Dissertation universitaires ; Arthrose – Thèses et écrits académiques ; Maladies -- Modèles animaux -- Thèses et écrits académiques

Université Paris Descartes
Faculté de Chirurgie dentaire
1, rue Maurice Arnoux
92120 Montrouge