

RÈPUBLIQUE ALGÈRIENNE DÈMOCRATIQUE ET POPULAIRE

**MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

UNIVERSITÉ DES FRÈRES MENTOURI CONSTANTINE 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biochimie et Biologie Moléculaire et Cellulaire

N° Ordre : 04/DS/2019

N° Série : 02/BC/2019

THÈSE

En vue de l'obtention du diplôme de doctorat en sciences

Spécialité : Biologie Moléculaire et Cellulaire

THÈME

**L'intérêt des biomarqueurs osseux dans le diagnostic, le suivi et
l'évaluation des tumeurs osseuses : L'ostéosarcome et le sarcome d'Ewing**

Présentée Par : SAMY KABOUCHE

Membres de jury :

Président : A. ROUABAH Pr. Université F.M Constantine 1

Directeur de thèse : L. ROUABAH Pr. Université F.M Constantine 1

Co-directeur de thèse : R. MAZA Pr. Université S.B Constantine 3

Examineurs : A. BENSALÉM Pr. Université S.B Constantine 3

N. FERDI Pr. Université S.B Constantine 3

ANNÉE UNIVERSITAIRE : 2017/2018

AU TOUT PUISSANT ALLAH:

Le grand et le Miséricordieux qui m'a aidé et muni de force et de patience pour réaliser cette thèse.

Merci de m'avoir tenu en bonne santé pour la réalisation de cette thèse.

Merci de m'avoir donné la force et le courage d'entreprendre ce travail.

Que gloire et louanges vous soient consacrées pour l'éternité.

Remerciements

Mes Sincères remerciements et ma profonde gratitude au Professeur **LEILA ROUABAH**, les Mots ne suffiront pas et n'exprimeront pas tout ce que j'aimerais vous dire. Je ne vous Remercierais jamais assez pour tout ce que vous avez pu faire pour moi.

Je vous remercie de votre savoir-faire, votre soutien moral et gentillesse, votre disponibilité pendant toutes ces longues années et de vos connaissances que vous avez généreusement partagées avec moi.

Je remercie infiniment le Professeur **MAZA RABAH** merci de m'avoir accepté au sein de votre service pour me permettre de vivre de bons moments de partage de connaissances, vos Conseils, votre amabilité, votre rigueur resteront gravés dans ma Mémoire merci infiniment.

Je remercie sincèrement le Professeur **ABDELKADER ROUABAH** pour son humanité. Merci de m'avoir fait bénéficier de votre expérience et surtout de votre rigueur scientifique. Vous Avez une large vision scientifique et vous m'avez toujours apporté les bons conseils. Je vous en suis très reconnaissant et vous en remercie. Merci pour me faire l'honneur de présider la soutenance.

J'exprime mes remerciements aux Professeur **FERDI –KHELIFA NADIA** d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Merci au Professeur **BENSALEM ASSIA** pour l'honneur que vous me faites en acceptant d'être examinatrice de ce travail.

Je remercie le professeur **MARTINE COHEEN SOLAL** de m'avoir reçue au sein de son service et laboratoire pour me permettre de réaliser la partie des dosages de biomarqueurs.

Je voudrai exprimer mes remerciements au professeur **ROUSTILA NADIA** pour son aide .
Un grand merci pour toute l'équipe de l'INSERME de paris.

Un grand merci à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à L'accomplissement de cette thèse.

Dédicace

Afin d'être reconnaissante envers ceux qui m'ont appuyé et encouragé à

Effectuer ce travail de recherche, je dédie ce mémoire :

Au plus chers de ma vie ma mère et mon père.

Au plus chers de mon cœur de mes yeux ma femme CHAHRAZED et mon fils AMDJAD
YANIS.

Ce modeste travail, qui est avant tout le votre, n'est que la consécration de vos grands efforts et vos immenses sacrifices. Sans vous je ne serais arrivé où je suis. J'espère rester toujours Digne de vos estimations. Puisse Dieu tout puissant vous préserver du mal, vous comble de santé, de bonheur et vous accorde une longue et heureuse vie afin que je puisse vous rendre un
Minimum de ce que je vous dois.

Votre prières ont été pour moi d'un grand soutien moral tout au long de mes études. Vous êtes Merveilleuses, vous êtes toujours là quand j'en ai. Tous les mots ne seraient exprimer la Gratitude, la profondeur de mon amour, le respect, la reconnaissance. Je vous dédie le fruit de Votre amour, votre tendresse et de votre patience même si je sais qu'aucune dédicace ne sera
Exprimer la profondeur de ma reconnaissance.

A toutes et tous ceux qui ont contribué de loin ou de près, même par un simple conseil, pour que ce travail de recherche aboutisse à des résultats probants.

En témoignage de mon affection, ma reconnaissance et mon respect.

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....1

Partie bibliographique

Chapitre 1 :

I- Le tissu osseux.....4

1-Rôle du tissu osseux.....4

2-Structure Macroscopique.....4

3-Structure Microscopique6

4- Le remodelage osseux.....8

II- Les tumeurs osseuses.....12

1-Définition.....12

2- Epidémiologie.....12

3- Classification des tumeurs osseuses.....13

3-1 Tumeurs osseuses primitives bénignes.....13

3-2 Tumeurs osseuses primitives malignes.....16

1-Ostéosarcome.....20

1-1 Définition.....20

1-2 Epidémiologie.....20

1-3 Localisation.....20

1-4 Classification.....20

1-5 Biogénèse des ostéosarcomes.....21

1-6 Diagnostic.....22

1-7 Traitement.....23

2- Sarcome d'Ewing.....	31
2-1Description.....	31
2-2 Physiopathologie.....	31
2-3Localisation.....	31
2-4Biologie tumorale du sarcome d'Ewing.....	32
2-5Diagnostic.....	34
2-6 Traitement.....	34

Chapitre 2 : Biomarqueurs osseux

1-Les biomarqueurs osseux.....	37
1-1 Marqueurs biochimiques de la résorption osseuse.....	37
a- TRAP5b.....	37
b- CTX.....	38
1-2 Marqueurs biochimique de la formation osseuse.....	40
a- PINP.....	41
b- PAO.....	41
2-Impact des biomarqueurs osseux dans les pathologies osseuses.....	42
-L'utilité des biomarqueurs du métabolisme osseux dans le diagnostic des métastases osseuses.....	43

Partie pratique

- Matériels et méthodes	44
1- Partie rétrospective	45
2- Partie prospective	46
-Dosage des biomarqueurs.....	47
1-Résultats de la partie rétrospective	51
2-Résultats de la partie prospective	64

-Discussion.....	97
- Discussion de la partie rétrospective.....	98
1-Aspects épidémiologiques des tumeurs osseuses.....	98
2-Aspects diagnostiques des tumeurs osseuses.....	98
3-Aspects thérapeutiques des tumeurs osseuses.....	100
-Discussion de la partie prospective	102
➤ Intérêt des biomarqueurs osseux dans l'estimation des tumeurs	103
➤ Evaluation des biomarqueurs osseux en fonction de l'âge et le sexe	105
➤ Pertinence des biomarqueurs osseux.....	108
➤ Evaluation des biomarqueurs osseux après le traitement	110
➤ Etude d'un cas particulier.....	111
Conclusion et perspective.....	113

Article 1: The Evaluation of Osteosarcoma and Ewing Sarcoma by Bone Markers in Children and Adult after Chemotherapy.

Article 2: The Confirmation Of Diagnosis Of Primary Bone Tumors By Serum Alkaline Phosphatase And Tartrate-Resistant Acid Phosphatase In Children And Adolescents .

Article 3: The Evaluation of The Primary Bone Tumors by Bone Markers .

-Résumés

Liste des figures

Figure.1 : Organisation architecturale du tissu osseux en os cortical (ou compact) et en os trabéculaire (ou spongieux).....	p6
Figure. 2 : La structure de l'os.....	p7
Figure. 3 : Les différentes phases du remodelage osseux.....	p10
Figure.4 : L'implication de la triade RANK/ RANKL/ OPG dans la différenciation des ostéoclastes.....	p11
Figure. 5 : Localisation de trois principaux de TOP.....	p17
Figure. 6 : Différentes parties d'un os long et localisations préférentielles des tumeurs osseuses.....	p19
Figure. 7 : Coupes histologiques des ostéosarcomes conventionnelles (x10)..	p21
Figure. 8 : Mécanisme d'action de Methotraxate.....	p25
Figure. 9 : Réponse à la chimiothérapie selon la classification de Huvos et Rosen.....	p29
Figure. 10 : Sarcome d'Ewing de la métaphysaire du tibia supérieur chez une fille de 15 ans.....	p32
Figure. 11 : Sarcome d'Ewing de la diaphyse du fémur chez un garçon de 9 ans.....	p32
Figure. 12 : La synthèse de la protéine chimérique EWS-FLI-1.....	p33
Figure.13 : Formation des molécules de pontage.....	p38
Figure.14: Bases moléculaires des marqueurs biochimiques utilisés actuellement pour évaluer la dégradation du collagène de type I.....	p39
Figure. 15: Structure de la molécule de procolagène de type I.....	p41
Figure.16: Représentation schématique du système d'amplification du complexe biotine-streptavidine.....	p49
Figure. 17: Répartition des patients présentant une tumeur osseuse selon l'âge et le sexe.....	p52
Figure. 18: Répartition des patients présentant une tumeur osseuse selon le sexe et la nature de la tumeur.....	p53
Figure. 19: Répartition des patients présentant une tumeur osseuse selon l'âge et la nature de la tumeur.....	p54
Figure. 20 : Répartition des patients présentant une tumeur osseuse selon la	

profession.....	p55
Figure. 21 : Répartition des patients présentant une tumeur osseuse selon le motif de consultation.....	p55
Figure. 22 : Répartition des patients présentant une tumeur osseuse selon le siège de la tumeur.....	p56
Figure. 23 : Répartition des patients présentant une tumeur osseuse selon le mode de début.....	p57
Figure. 24 : Répartition des patients présentant une tumeur selon le type Radiologique.....	p57
Figure. 25 : Répartition des patients présentant une tumeur osseuse selon les résultats anatomo-pathologiques.....	p58
Figure. 26: Répartition des patients présentant de la tumeur osseuse selon les résultats de la biologie.....	p59
Figure. 27 : Répartition des patients présentant une tumeur osseuse selon la thérapie.....	p60
Figure. 28 : Répartition des patients présentant une tumeur osseuse selon les complications post- opératoire.....	p61
Figure.27: Répartition des patients présentant une tumeur osseuse selon l'évolution post-thérapeutique.....	p62
Figure.30 : Répartition des patients présentant une tumeur osseuse selon métastases osseuses.....	p63
Figure. 31 : Taux sérique de la TRAP5b en fonction d'âge.....	p66
Figure. 32: Le taux sérique de la PAO en fonction d'âge chez les deux sexes	p67
Figure. 33 : Le taux sérique du CTX en fonction d'âge chez les deux sexes	p69
Figure. 34 : Le taux sérique de la TP1NP chez les deux sexes.....	p70
Figure. 35 : PAO sérique chez les patients avant et après une chimiothérapie chez les hommes (a) et les femmes (b).....	p73
Figure. 36:TRAP5b sérique Chez les patients avant et après une chimiothérapie chez les hommes (a) et les femmes (b).....	p74
Figure. 37: CTX sérique Chez les patients avant et après une chimiothérapie chez les hommes (a) et les femmes (b).....	p75
Figure. 38: TP1NP sérique Chez les patients avant et après une chimiothérapie chez les hommes (a) et les femmes (b).....	p76

Figure.39 : Corrélation entre les biomarqueurs osseux dosés chez le groupe de contrôle.....	p78
Figure. 40 : Corrélation entre le taux sérique de la TRAP5b et PAO chez les patients atteints d'ostéosarcome avant et après une chimiothérapie.....	p79
Figure. 41 : Corrélation entre le taux sérique de la TRAP5b et TP1NP chez les patients atteints d'ostéosarcome avant et après une chimiothérapie.....	p80
Figure. 42 : Corrélation entre le taux sérique du CTX et TP1NP chez les patients d'ostéosarcome avant et après une chimiothérapie.....	p80
Figure. 43 : Corrélation entre le taux sérique du CTX et PAO chez les patients atteints d'ostéosarcome avant et après une chimiothérapie.....	p81
Figure. 44 : Corrélation entre le taux sérique de la TRAP5b et PAO chez les patients atteints du sarcome d'Ewing avant et après une chimiothérapie.....	p81
Figure. 45 : Corrélation entre le taux sérique de la TRAP5b et TP1NP chez les patients atteints du sarcome d'Ewing avant et après une chimiothérapie.....	p82
Figure. 46 : Corrélation entre le taux sérique de la TP1NP et CTX chez les patients atteints du sarcome d'Ewing avant et après une chimiothérapie.....	p82
Figure. 47 : Corrélation entre le taux sérique de la PAO et CTX chez les patients atteints du sarcome d'Ewing avant et après une chimiothérapie.....	p83
Figure. 48 : Localisation des tumeurs osseuses chez les patients.....	p88
Figure. 49 : Vue 3D du tableau de contingence.....	p89
Figure. 50: Significativité par case (Test exact de Fisher) (Sexe / Pathologie3C).....	p90
Figure. 51 : Vue 3D du tableau de contingence.....	p90
Figure. 52 : Représentation de la moyenne des patients selon le test de Kruskal-Wallis.....	p 92
Figure. 53 : Représentation de la médiane des patients selon le test de Kruskal-Wallis.....	p92
Figure. 54 : Corrélation entre PAO/P1NP chez les patients.....	p93
Figure. 55: Corrélation entre PAO/P1NP chez les patients et groupe de contrôle.....	p93
Figure. 56 : Corrélation entre P1NP et TRAP5b chez les patients et le groupe de contrôle	p94

Liste des tableaux

Tableau. 1 : Protocole thérapeutique selon l'âge de patient.....	p23
Tableau. 2 : Effets des différentes molécules du système immunitaire.....	p29
Tableau. 3 : Différentes translocations, gène de fusion correspondants et leurs fréquences.....	p34
Tableau. 4 : Marqueurs circulants de résorption osseuse.....	p40
Tableau. 5 : Marqueur de la formation osseuse.....	p42
Tableau. 6 : Répartition des patients et le groupe de contrôle.....	p65
Tableau. 7 : Paramètres biologiques des biomarqueurs osseux chez les patients atteints de l'ostéosarcome ou sarcome d'Ewing et le groupe de contrôle.....	p72
Tableau. 8 : Comparaison des biomarqueurs osseux chez les patients (valeur seuil : $p < 0,05$; test de Mann & Whithney chez les patients atteints d'ostéosarcome (avant et après une chimiothérapie).....	p84
Tableau. 9 : Comparaison des biomarqueurs osseux chez les patients (valeur seuil : $p < 0,05$; test de Mann & Whithney chez les patients atteints du sarcome d'Ewing (avant et après une chimiothérapie).....	p86
Tableau. 10 : Répartition des malades et la localisation des tumeurs.....	p88
Tableau. 11: Contingence (Patient / Sexe).....	p89
Tableau.12 : Fréquences des tumeurs chez les patients.....	p89
Tableau. 13 : Contingence des patients.....	p90
Tableau. 14 : Résultat du test non-paramétrique de comparaison des moyennes de plusieurs groupes différents-Test de Kruskal-Wallis.....	p91
Tableau. 15 : Représentation des patients selon le test de Kruskal-Wallis.....	p91
Tableau. 16 : Résultats du test non-paramétrique de comparaison des moyennes de deux groupes différents (Test de Mann- Whitney).....	p95

Liste des abréviations

5-CH₃-THF : 5méthyl tétrahydrofolate

5,10-CH₂-THR : 5,10méthylène tétrahydrofolate

10-CHO-THF : 10-formyl-tétrahydrofolate

AICAR : 5-aminoimidazole-4-carboxamide ; ribonucleotide

ALP : Phosphatase alcaline osseuse

BAP: Bone specific alkaline phosphatase

BALP: Phosphatase alcaline osseuse

BMP-6: Bone Morphogenic Protein-6

BSAP: Phosphate alcaline spécifique

BSP: Siloprotéine osseuse.

CD₉₉: Cluster of differentiation 99c

CHUC: Centre Hospitalo-Universitaire.

CLT4: Cytotoxic T lymphocyte antigen 4

CTX : C-telopeptide de collagène de type 1

DHFR : dihydrofolate réductase

DMP-1: Dentin matrix protein 1

dTMP :deoxythymidine monophosphate

DPD: Désoxypyridoline

DTP : distal tingling on percussion

ELISA: Enzyme-Linked immunoSorbent Assay

ETS: E 26 transformation-specific

Euro Ewing: European Ewing Tumor working Initiative o National Groups

EWS: Ewing Sarcoma

FAICAR: formyl AICAR

FLI 1: Friend Leukemia Virus Integration 1

FGFs: Fibroblast growth factor

FPGS: folypolyglutamate synthase

ICTP: C-télopeptide du collagène de Type 1

IDS: immune diagnostics systems

IGF-1: Insulin-like growth factor-1

IGFBP3: Insulin Like Growth Binding Protein 3

IL: Interleukine

INF: Interferon

IRM: Imagerie en coupe de type résonance magnétique

L-MTP-PE: muranyl tripeptide phosphatidyl ethanolamine

MAT2B: Methionine Adenosyl Transferase II Beta

M-CSF: Macrophage colony stimulating

miRNA: micro RNA

MMP-9: Matrix Métallo protéinase

mTOR: mammalian Target of Rapamycin

MTHFR: methylene tétrahydrofolate réductase

MTP-PE: muranyl tripeptide phosphatidyl ethanolamine

MTX: Méthotrexate

MTX_{Glu} : Méthotrexate polyglutamate

NFκB : Nuclear factor κB

NK: Natural Killer

NTX : N-telopeptide de collagène de type 1

OC : ostéocalcine

OCP: Ostéoclastiques

OPG: Ostéoprotégérine

OS : Ostéosarcome

PAO : Phosphatase alcaline osseuse

P1NP : Peptides N terminal du collagène de type I

P1CP : Peptides C terminal du collagène de type I

PDGF: Platelet Derived Growth Factor

PDI: Programmed cell death 1

PDL 1: Programmed cell death ligand 1

PHA: Phosphatase alcaline

PSA: Prostate specific antigen

PYD: pyridoline

PNET: Tumeurs neuro-ectodermique primitive

PTH: Parathormone

RANK: Receptor activator of nuclear factor NFκB

RANKL: Receptor activator of nuclear factor NFκB ligand

RB1: Retinoblastoma1

RFC1: reduced folate carrier 1

T'ASE: Tranformylase

TDM: Tomodensitométrie

TGF: Transforming Growth Factor

THF: Tétrahydrofolate

TOP: Tumeurs osseuses primitives

TRAD: Tartrate Resistant Acid Phosphatase

TRAP5b: Phosphatase acide résistance ou tartrate

TS: Thymidylate synthase

TWIST: Transcriptional targets of N-MYC

VEGFR: Vasculor Endotheliol Growth Factor Receptor

VP: étoposide

VS: Vitesse de sédimentation

Introduction

Introduction :

L'os est soumis à un renouvellement physiologique de la matrice extra cellulaire. Celle-ci est remplacée par une matrice plus apte à supporter les contraintes mécaniques grâce aux activités des cellules osseuses, les ostéoblastes, les ostéoclastes et les ostéocytes. Le remodelage osseux est ainsi réalisé par la mise en œuvre cellulaire des processus de formation et de résorption qui assurent le maintien de l'intégrité du tissu osseux sous l'action intriquée d'hormones et de médiateurs locaux (Julie TALBOT, 2012 Guillaume Anthony ODRI, 2014). Cependant, au cours de diverses affections métaboliques de l'os, un déséquilibre entre ces deux processus est à l'origine d'une perte de masse osseuse peut conduire à l'apparition de tumeurs osseuses.

L'isolement et la caractérisation des plusieurs composés de la matrice osseuse précisent les peptides produits par ces cellules ont permis le développement de nouveaux marqueurs biochimiques du remodelage osseux. Ils font appel à la mesure d'une activité enzymatique liée à l'activité des cellules osseuses libérées dans la circulation. La majorité d'entre eux sont le reflet des deux activités simultanées en raison du couplage. La spécificité et la sensibilité de ces marqueurs ont considérablement progressé, permettant une exploration fiable, non invasive, peu coûteuse du turn-over osseux

L'ostéosarcome est la tumeur osseuse la plus fréquente, il est caractérisé par des lésions ostéolytiques et ostéochondensantes. Le sarcome d'Ewing est décrit par le pathologiste américain James Ewing en 1921, c'est le deuxième type des tumeurs osseuses malignes après l'ostéosarcome. Il se localise au niveau de la diaphyse des os longs. L'ostéosarcome et le sarcome d'Ewing sont fréquents chez les enfants et les jeunes adultes avec une prédominance masculine.

L'incidence de ces types de cancer dans la population de l'Est Algérien ces dernières années et dans le monde (10 à 26 million de nouveau cas chaque année) et la rareté des études portant sur eux aussi bien en Algérie que dans le monde justifient notre choix.

Les biomarqueurs sont utiles pour l'évaluation clinique ils ont été peu documentés lors des tumeurs primitives (David MONDERER, 2013). En effet, très peu d'études ont été consacrées aux biomarqueurs de ce type de tumeurs pourtant nécessaires pour bien comprendre les mécanismes des pertes osseuses. Ils peuvent être utiles pour quantifier le remodelage chez des jeunes porteurs de tumeurs primitives (Sylvain contié, 2010)

. Ces études difficiles à aborder en raison de la complexité du métabolisme osseux, s'avèrent importantes pour éclairer l'impact de la chimiothérapie sur le remodelage osseux en particulier lors de la croissance osseuse chez les enfants et les adolescents ce qui justifie le grand intérêt de ce travail de recherche indispensable afin de développer des nouvelles approches thérapeutiques mieux ciblées et plus efficaces. Les marqueurs biochimiques du remodelage osseux les plus sensibles sont la phosphatase alcaline osseuse (PAO) et le propeptide N-terminal du collagène de type I (PINP) mesurés dans le sang. Pour évaluer la résorption osseuse, les dosages immunologiques des molécules de pontage du collagène (pyridinoline, désoxypyridinoline) et des peptides associés (CTX, NTX) dans le sang ou l'urine sont actuellement les marqueurs les plus performants (David MONDERER, 2013).

L'épidémiologie des tumeurs osseuses est peu documentée en Algérie. La prévalence du diagnostic dépend des efforts déployés pour le dépistage et les moyens de diagnostic mis en œuvre. C'est dans cette optique que s'inscrit ce travail de recherche dont l'objectif principal est de réaliser une approche épidémiologique de ce type de tumeurs dans l'Est Algérien à travers l'étude des tumeurs osseuses traitées au service d'orthopédie de médecine nucléaire et le service d'oncologie pédiatrique du CHU Benbadis à Constantine. En effet, les études épidémiologiques contribuent à une meilleure connaissance des tumeurs osseuses qui restent le gage d'une meilleure prise en charge.

Le développement des tumeurs osseuses, qu'il soit primitif ou secondaire, implique le concept de propriétés de la tumeur et du tissu osseux. Ce concept énoncé par Sir Paget est fondé sur l'interaction entre les cellules tumorales et le tissu hôte de l'environnement. On sait que l'inflammation qui accompagne les tumeurs est capable de générer une augmentation du remodelage osseux à distance. Les tumeurs libèrent des molécules régulatrices de la résorption et de la formation osseuse notamment des cytokines. En revanche, l'inhibition de la résorption pourrait limiter la prolifération tumorale.

Dans l'Est Algérien, le taux des tumeurs osseuses est très élevé à cause du diagnostic souvent tardif, du suivi mal géré et de l'évaluation souvent non réalisée. Ceci génère un problème majeur dans la pratique clinique des sarcomes osseux.

Actuellement, des études tentent toujours de définir des corrélations entre les biomarqueurs et l'ostéoporose mais ils sont peu connus sur les tumeurs osseuses.

Le but de cette étude est de décrire les aspects épidémiologiques, diagnostiques et thérapeutiques des tumeurs osseuses du service de chirurgie orthopédique et traumatologie de l'hôpital .Benbadis

- caractériser les formes anatomo-pathologiques des tumeurs osseuses.

- évaluer le résultat des traitements institués.

-évaluer les marqueurs biochimiques osseux dans notre population afin de mesurer l'impact possible de la tumeur sur le remodelage osseux systémique.

-évaluer les marqueurs osseux avant, durant et après la chimiothérapie.

A ce jour, aucune étude n'a porté sur cette évaluation c'est le grand intérêt et l'originalité de ce travail de recherche.

Partie
bibliographique

I -Le tissu osseux :

Le tissu osseux est hautement spécialisé, il est constitué d'une fraction minérale et une fraction organique. La rigidité et l'élasticité sont les propriétés du tissu osseux car elles lui permettent d'exercer des fonctions métaboliques pour réguler l'homéostasie phosphocalcique (Julie TALBOT, 2012), des fonctions hématopoïétiques responsables de la formation des cellules sanguines, des fonctions immunologiques (David MONDERER, 2013 Julie TALBOT, 2012), et des fonctions mécaniques assurées par la rigidité du tissu osseux qui lui confère le soutien et la protection des organes internes (Aude SEGALINY, 2014 Julie TALBOT, 2012).

1-Rôle du tissu osseux:

Le tissu osseux de par sa structure et ses fonctions joue un rôle :

- **Protecteur:** le système nerveux central est protégé par la boîte crânienne et les vertèbres.
- **Métabolique :** maintien de l'équilibre phosphocalcique. Notre squelette renferme 99% du calcium et 90% du phosphore de l'organisme, qui joue un rôle biologique prépondérant dans la vie cellulaire, la transmission nerveuse et la coagulation sanguine.
- **Hématopoïétique :** la moelle osseuse contient les cellules hématopoïétiques, au sein de l'os spongieux, et c'est le lieu de fabrication des cellules sanguines.
- **Biomécanique :** l'os est à la fois solide et résistant mais aussi, dans une certaine mesure, élastique. Ces propriétés mécaniques lui permettent de supporter les effets de la pesanteur, de résister aux contraintes mécaniques externes, ainsi qu'aux forces des contractions musculaires.

2-Structure macroscopique:

2-1 Organisation structurale :

➤ Structure primaire :

- *Os tissé ou fibreux*

Il est caractérisé par une trame collagénique peu ordonnée et irrégulièrement minéralisée. Les fibres de collagène y sont de calibre inégal et les ostéocytes volumineux et nombreux. Il est synthétisé rapidement et il est mécaniquement peu résistant. C'est le seul type de tissu osseux qui se forme de *novo* sans matrice préalable.

Il est caractéristique de l'os fœtal mais on peut l'observer dans des situations pathologiques: cas de fracture, ossifications ectopiques, tumeurs ostéogéniques. Au fur et à mesure de la maturation des pièces osseuses, l'os fibreux sera remplacé par de l'os lamellaire.

- ***Os lamellaire***

Il est constitué de lamelles, de 3 à 7 microns d'épaisseur, parallèles entre elles. Cet os lamellaire renferme des ostéocytes ovoïdes, réguliers, dont le grand axe est le plus souvent parallèle aux lamelles.

- **Structure secondaire :**

Le tissu osseux est constitué de la juxtaposition d'unités de base appelées "ostéons" centrées sur des vaisseaux sanguins associés à des fibres nerveuses (os haversien) dont la forme dépend du type d'os auxquels elles appartiennent: os cortical ou spongieux. La limite externe est constituée par la ligne cémentante un peu plus dense en lumière polarisée. Entre les ostéons, le tissu osseux est appelé os interstitiel qui, chez l'adulte, est le fruit du remodelage d'ostéons anciens.

2-2 Organisation architecturale :

- ***Os cortical (ou compact)***

Il représente environ 80% du squelette et constitue la paroi externe de toute pièce osseuse ainsi que la diaphyse des os longs (**Figure 1**). Ses ostéons sont cylindriques (200 à 300 μm de diamètre) et centrés par un canal de Havers plus ou moins ouvert (50 μm de diamètre en moyenne) dont l'orientation est grossièrement parallèle à l'axe de la diaphyse. Ils sont reliés par des canaux transversaux de Volkmann.

La résistance de l'os cortical dépend de plusieurs paramètres: extrinsèques (direction et vitesse d'application des contraintes exercées) ou intrinsèques (géométrie de la pièce osseuse et propriétés de la matrice minéralisée).

- ***Os trabéculaire (ou spongieux)***

Il ne représente que 20% du squelette adulte (**Figure 1**). Il est constitué de travées en forme de plaques ou de colonnes reliées entre elles et entourées par du tissu adipeux et hématopoïétique richement vascularisé. Les travées forment ainsi un réseau tridimensionnel dont l'orientation est ajustée par les sollicitations mécaniques. L'unité de base est cette fois à un héli-ostéon en forme de croissant ouvert sur la moelle.

Il représente une surface d'échange considérable avec les liquides interstitiels, avec un renouvellement plus rapide que celui de l'os cortical, jouant ainsi un rôle majeur dans

l'équilibre phosphocalcique. Il participe d'autre part à la résistance aux contraintes mécaniques, notamment en compression, des épiphyses et des métaphyses des os longs et des corps vertébraux qu'il compose principalement.

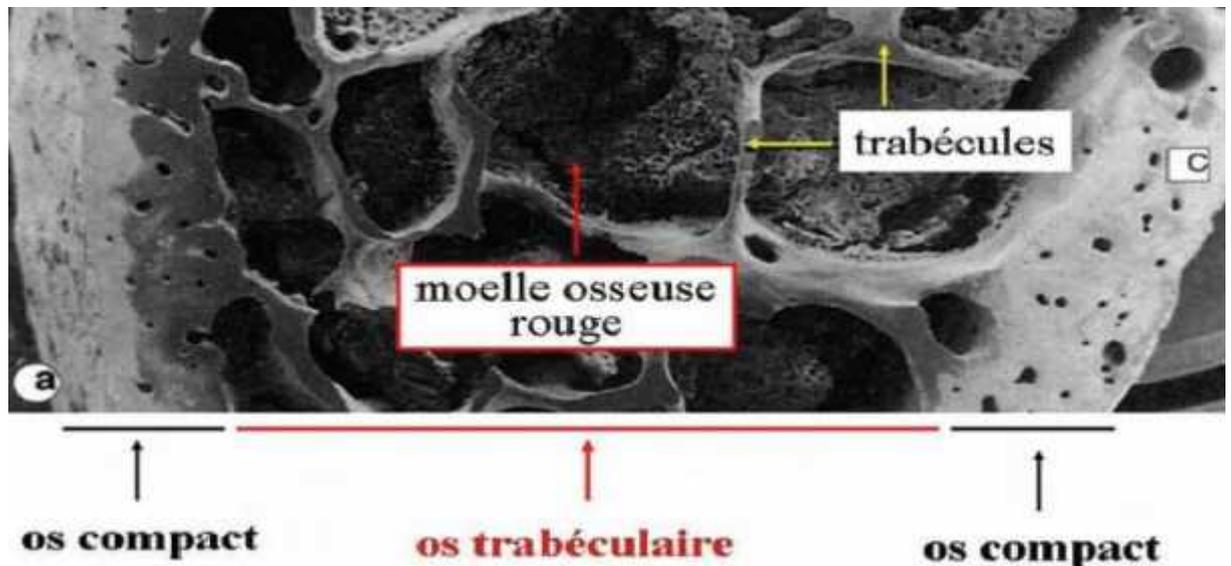


Figure 1 : Organisation architecturale du tissu osseux en os cortical (ou compact) et en os trabéculaire (ou spongieux). (D'après ; Thomas T et al, 2008)

3- Structure microscopique:

Le tissu osseux est un tissu conjonctif hautement spécialisé composé d'une substance organique minéralisée. Il comprend une matrice osseuse, constituée d'une fraction organique et d'une fraction minérale, qui confère à l'os sa dureté et sa résistance, ainsi que des cellules osseuses des lignées ostéoblastiques et ostéoclastiques.

➤ **La matrice osseuse :**

C'est l'ostéoblaste qui synthétise la matrice osseuse et régule sa minéralisation. La fraction organique de cette matrice est composée de collagène de type I auquel est liée la fraction minérale constituée essentiellement de cristaux d'hydroxyapatite de calcium.

➤ **Les fibres de collagène :**

Le collagène représente 90% de la matrice organique. C'est une glycoprotéine fibreuse, rigide, formant une triple hélice (2 chaînes $\alpha 1$ et une chaîne $\alpha 2$) d'une longueur de 3000 Å et de 50 Å de diamètre, riche en proline et hydroxyproline. Le déploiement des fibres de collagène dans l'espace extracellulaire s'accompagne d'un arrangement spatial spécifique et du clivage des peptides d'extension au niveau des extrémités amino et carboxy-terminales, ainsi que de la formation de pontages. Les

fibres collagéniques ainsi formées sont associées à des protéines non collagéniques secrétées par les ostéoblastes ainsi qu'à des protéines plasmatiques et des facteurs de croissance. Cette matrice nouvellement formée, appelée tissu ostéoïde, est minéralisée dans un second temps.

Le squelette humain est constitué de trois types d'os : les os plats (sternum, os pariétaux), les os longs (fémur, tibia, humérus) et les os courts (vertèbres, phalanges). Les os longs sont arrondis et élargis, recouverts de cartilage articulaire représentant les épiphyses.

Les épiphyses peuvent se connecter à la diaphyse grâce à des régions coniques : les métaphyses (Figure 2).

En effet, l'os cortical (l'os compact) et l'os spongieux (l'os trabéculaire) sont les composants des pièces osseuses. La face externe de l'os est constituée d'une enveloppe très vascularisée ; le périoste qui en plus est très vascularisé, contient une couche interne de cellules souches et préostéoblastiques.

L'os cortical présente 80 à 85% de l'ensemble du tissu osseux ; il est constitué par la juxtaposition d'ostéons cylindriques qui forment une couche compacte ; il est très calcifié. Chaque ostéon est constitué d'une trentaine de fibres de collagène disposée autour d'un canal de Havers qui est un canal central ; sa structure et sa fonction sont importantes, car il permet le passage des vaisseaux des fibres nerveuses et des prolongements cytoplasmiques. L'endoste se situe entre la cavité médullaire et l'os cortical. Enfin, l'os trabéculaire est un os spongieux peu calcifié et très poreux (Thomas T et al 2008).

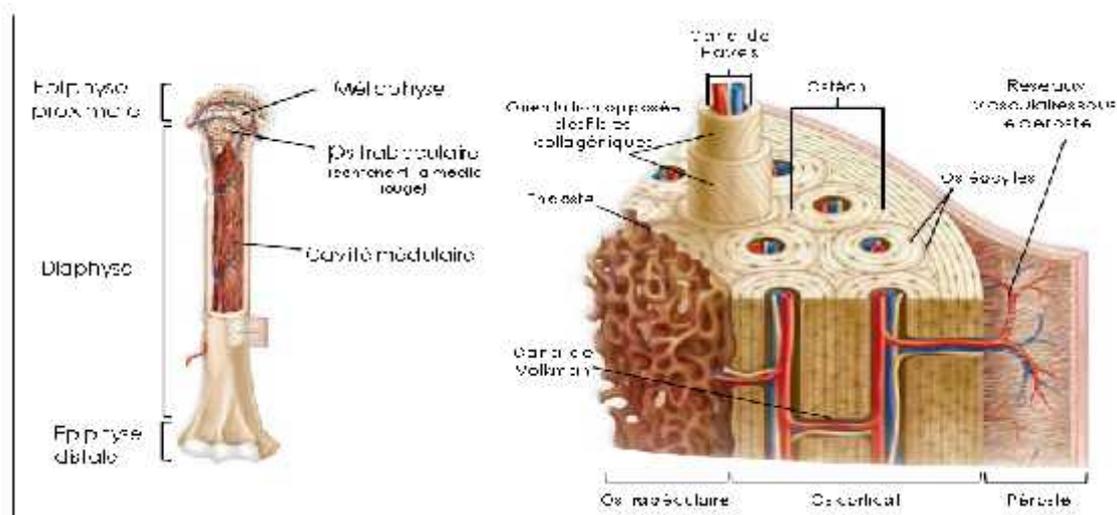


Figure 2 : La structure de l'os. D'après (Raven, Johnson, Mason et al, 2012).

➤ Les ostéoblastes :

Les ostéoblastes sont des cellules ostéoformatrices qui se disposent en monocouche cellulaire sur la surface osseuse formant par conséquent des ostéoblastes différenciés. Ils sont limités par une membrane plasmique. Cette partie est adjacente à l'os et elle joue un rôle d'étendre entre les fibrilles de collagène de l'ostéoïde. Le pôle opposé de la cellule possède peu d'extensions. Ces adhésions permettent le contact entre ostéoblastes et ostéocytes environnants.

La principale fonction des ostéoblastes est la synthèse de la structure ostéoïde. En plus, les ostéoblastes peuvent participer à la régulation du remodelage osseux.

D'autre part, les ostéoblastes activent la résorption osseuse via l'induction de la différenciation des cellules progénitrices hématopoïétiques en ostéoclastes. Mais, le rôle majeur des ostéoblastes est le contrôle de la balance entre ostéoformation et ostéorésorption.

➤ Les ostéocytes :

La **matrix Métalloproteinase (MMP)** de type 2 et de la **Dentin Matri Protein-1 (DMP)** sont les responsables de la transformation des ostéoblastes en ostéocytes. Cette transformation est caractérisée par la diminution progressive de certains marqueurs ostéoblastiques tels que collagène de type 1.

En revanche, les ostéocytes régulent la formation osseuse par la sécrétion de Sclérostine et ils contrôlent négativement l'activité de la différenciation des ostéoblastes.

➤ Les ostéoclastes :

Ils dérivent de précurseurs hématopoïétique mononucléés de type monocytaire. La prolifération des ostéoclastes est stimulée par **Macrophage-colony stimulating factor M-CSF** ou elle donne des progéniteurs, ostéoclastiques puis par une deuxième stimulation du M-CSF et **Receptor activator of nuclear factor NF_κB ligand (RANKL)** se différencient en ostéoclastes multinucléés, enfin, ils deviennent des ostéoclastes matures par la stimulation de RANKL (Audrey LAMORA, 2015).

4-Le remodelage osseux :

A fin de maintenir un équilibre entre la résorption de l'os ancien et la formation d'une nouvelle matrice osseuse, le remodelage osseux est un processus nécessaire pour

le maintenir tous les fonctions mécaniques, l'homéostasie phosphocalcique et l'adaptation aux contraintes mécaniques. Ce processus est stimulé par des microfractures (Guillaume Anthony ODRI, 2014), hormonal (Molly Brunner, 2016).

- **La phase d'activation :**

La fine couche de la matrice non minéralisée située sous les cellules bordantes est dégradée sous l'influence de différents stimuli mécaniques, hormonaux et nerveux (Julie TALBOT, 2012).

Les différents facteurs (vitamine D₃, **parathormone PTH...**) activent les ostéoblastes quiescents et les **précurseurs ostéoclastiques OCP**, se différencient en ostéoclastes sous l'action des cytokines (RANKL, MCSF, Interleukine IL-34, IL-6...) (Aude SEGALINY, 2014)

Le complexe RANK-RANKL, se lie à la matrice permet la formation des podosomes qui peuvent se lier à l'ostéopontine, à la vitronectine et à la sialoprotéine osseuse de la matrice extracellulaire, formant une bordure en brosse ,(Guillaume Anthony ODRI, 2014).

- **La phase de résorption :**

Les enzymes de lysosome cytoplasmique ,(la cathepsine K, TRAD, MMP et des gélatinases) dégradent la matrice protéique en créant une lacune (lacune de Howship).

La concentration en Ca²⁺ augmente, ce qui conduit à une augmentation de l'activité de la **Matrix Metallo-Proteinase 9** (MMP9). Les ostéoclastes perdent l'adhésion et meurent par apoptose, les ostéoblastes se différencient en ostéoclastes matures par la production de différents cytokines (IL-6, M-SCF et RANKL)

Le rôle de RANKL est la stimulation de l'ostéoclastogénese en agissant sur RANK (Julie TALBOT, 2012).

- **La phase d'inversion :**

La phase d'inversion est caractérisée par l'élimination des débris matriciels qui restent au fond de la lacune de résorption. La libération des facteurs pro-ostéoblastiques de la matrice **Bone Morphogenetic protein BMP-6, Fibroblast growth factor FGFs, Transforming growth factor TGF-** ...) permettent la formation ostéoblastes. Alors

que, les ostéoblastes secrètent (BMP-6, sphingosine-1- phosphate...) afin de permettre l'activation de la formation osseuse (Aude SEGALINY, 2014 Audrey LAMORA, 2015).

Le TGF- diminue la résorption par les ostéoclastes et inhibe, la production de RANKL par les ostéoblastes. Les ostéoclastes se détachent de la surface osseuse et meurent par apoptose (Julie TALBOT, 2012).

- **La phase de formation :**

Dans cette phase, une nouvelle matrice collagénique, est synthétisée grâce à la prolifération des cellules ostéogénitrices qui tapisse au fond de la lacune de Howship (Aude SEGALINY, 2014 Berengere GOBIN, 2013).

Ainsi, le calcium et le phosphate soluble se transforment en cristaux solide de phosphate calcique ce qui permet une minéralisation de l'os. Cette minéralisation est régulée par les ostéoblastes.

Les protéines promotrices DMP- 1, la sialoprotéine osseuse, la phosphatase alcaline et la phosphoprotéine kinase augmentent la concentration locale en phosphates ; la phosphatase alcaline osseuse hydrolyse les esters phosphoriques qui inhibent la minéralisation (Guillaume-Anthony ODRI, 2014).

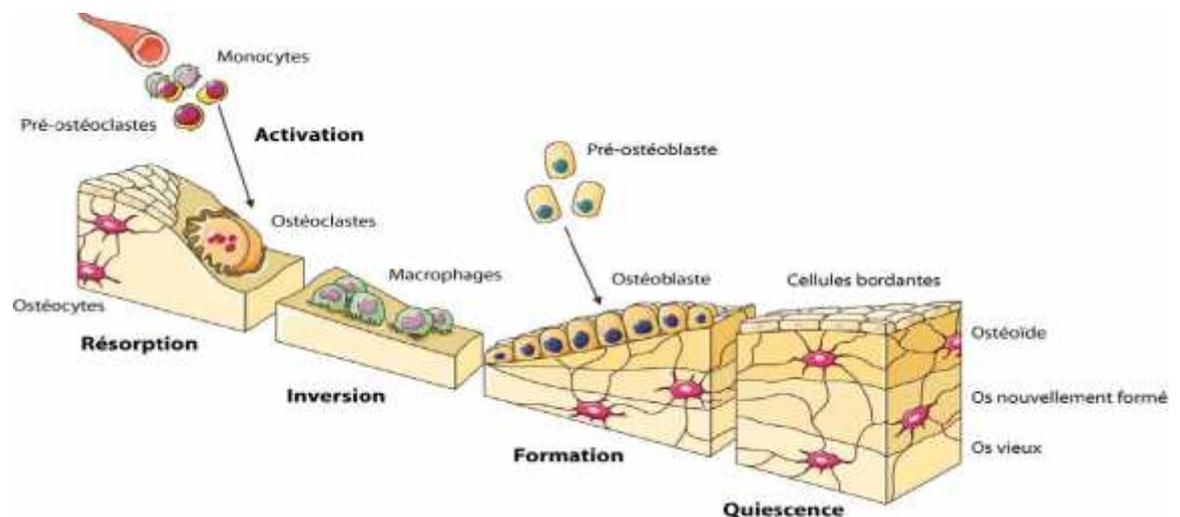


Figure 3 : Les différentes phases du remodelage osseux

D'après (Molly Brunner, 2016)

- **La phase de quiescence :**

Certains ostéoblastes peuvent se convertir, en cellules bordantes qui demeurent quiescentes jusqu'à une prochaine activation des ostéoclastes ou elles meurent par apoptose (Julie TALBOT, 2012 Guillaume Anthony ODRI, 2014).

➤ **L'implication de la triade RANK/ RANKL/OPG dans le remodelage osseux :**

La balance de résorption/ formation dépend ,de RANKL et d'ostéoprotégérine (OPG). Le rôle de l'OPG est l'inhibition de la formation du complexe RANK-RANKL, et la diminution, des activités des ostéoclastes en entrainant leur apoptose (Aude SEGALINY, 2014 Audrey LAMORA, 2015).

Le bon déroulement du remodelage osseux est régulé par des facteurs tel que (RunX2, PTH, IL-1, IL-6, TNF- ...) en agissant sur la triade RANK/ RANKL/ OPG (Audrey LAMORA, 2015).

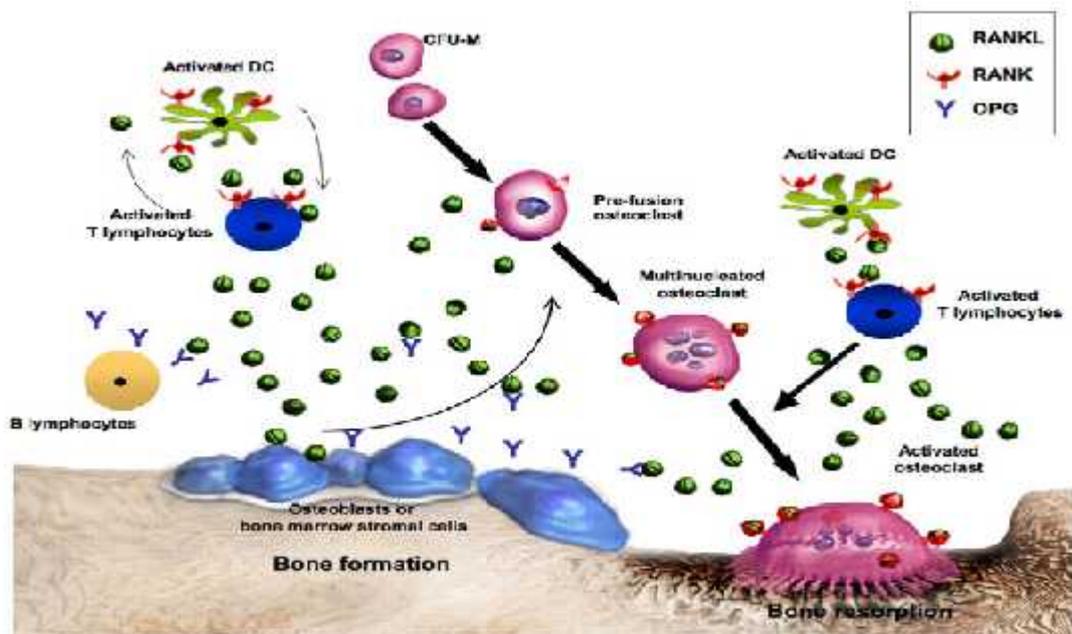


Figure 4 : L'implication de la triade RANK/ RANKL/ OPG dans la différenciation des ostéoclastes.

D'après (Guillaume-Anthony ODRI, 2014).

II- Les tumeurs osseuses :

Le cancer se développe à partir des cellules qui échappent aux mécanismes normaux de prolifération ; par l'angiogénèse, les cellules cancéreuses envahissent d'autre tissu.

La dérégulation de l'apoptose, de la différenciation et de la prolifération sont les facteurs responsables de la prolifération tumorale. Ainsi, l'environnement favorise la croissance tumorale via l'expression de protéases extracellulaires, de facteurs de croissance et de facteurs angiogéniques (David MONDERER, 2013).

1-Définition :

Les tumeurs osseuses produisent des composants qui entrent dans la constitution habituelle d'un os. Donc, les tumeurs osseuses peuvent produire du tissu osseux, du tissu cartilagineux, du tissu conjonctif, de la moelle osseuse, des vaisseaux, de la graisse, du muscle et du tissu nerveux.

2-Epidémiologie :

Les tumeurs osseuses sont rares et constituent 6 à 10% des tumeurs de l'enfant. Aux Etats-Unis, le nombre annuel de nouveaux patients touchés par ces tumeurs est estimé à 8,7 par an et par million d'habitants de moins de 20 ans Guillaume-Anthony ODRI, 2014). Globalement, ces tumeurs sont plus fréquentes chez l'adolescent autour de l'âge de 15 ans, par comparaison aux enfants plus jeunes. La fréquence des tumeurs osseuses diminue chez les jeunes adultes puis augmente à nouveau autour de l'âge de 65 ans. Le nombre annuel de nouveaux patients (par million d'habitants de moins de 20 ans) touchés par différents types de tumeurs osseuses est, en moyenne, de 4,8 pour l'ostéosarcome, 2,9 pour la tumeur d'Ewing et de 0,5 pour le chondrosarcome. Le nombre annuel de nouveaux patients par million d'habitants est un peu plus élevé chez le garçon : 9,6 alors qu'il n'est que de 8,2 chez la fille. Les tumeurs d'Ewing se rencontrent quasi exclusivement chez les sujets de peau blanche et y sont 9 fois plus fréquents par comparaison aux sujets de peau noire.

3- Classification des tumeurs osseuses :

3-1 Tumeurs osseuses primitives bénignes :

➤ Tumeur produisant du tissu osseux :

- L'ostéome ostéroïde :

L'ostéome ostéoïde est une tumeur osseuse bénigne relativement fréquente. Elle peut siéger n'importe où, en région épiphysaire, métaphysaire ou diaphysaire sur les os courts, plats ou longs. Elle s'accompagne très souvent d'une réaction d'hyperostose au voisinage de la zone tumorale. La douleur est classiquement au premier plan. Elle est souvent intense et elle est classiquement calmée par l'aspirine. Radiographiquement, au sein d'une zone osseuse hyper-dense (zone d'hyperostose), on observe une toute petite plage ostéolytique qui représente l'image classique dite « en nidus ». Cette image permet d'affirmer le diagnostic avec une grande certitude. La scintigraphie est très hyper-fixante sur cette lésion et représente un argument diagnostique de poids. L'examen TDM, en montrant l'image du nidus confirmera le diagnostic. Il n'est donc pas nécessaire de réaliser, ici, une biopsie à visée diagnostique lorsqu'on est face à ces arguments (90 % des cas). Le traitement consiste à pratiquer une résection pure et simple de la zone tumorale comportant le nidus.

➤ **Tumeur produisant du cartilage**

1-Le chondrome :

Le chondrome est une tumeur cartilagineuse bénigne. Il en existe plusieurs variétés. La plus classique est représentée par le chondrome périphérique. Cette lésion siège en général au niveau de la main intéressant les doigts cubitaux et préférentiellement les phalanges. Radiologiquement, l'image est ostéolytique et sa nature cartilagineuse peut être affirmée lorsque la radiographie révèle l'existence d'un semis de fines calcifications dans la zone ostéolytique. L'image est suffisamment caractéristique pour ne pas pousser à la biopsie à visée diagnostique. Dans cette localisation, le geste consiste à réaliser une biopsie exérèse. Cela signifie que dans un seul et même temps, on fait le diagnostic et on traite la lésion. Il existe des chondromes situés à la racine des membres. Le diagnostic ici est plus difficile à faire et repose habituellement sur la biopsie chirurgicale.

2- L'exostose ostéogénique ou ostéochondrome :

C'est une tumeur périphérique étendue à la surface de l'os et bien souvent bourgeonnante. La lésion se révèle habituellement par une tumeur ; puisqu'elle siège préférentiellement dans la région du genou. Elle est généralement unique. Son aspect bourgeonnant et extérieur à l'os permet le diagnostic sans qu'il soit nécessaire de recourir à

une biopsie chirurgicale. Son traitement est radical (exérèse totale) dès qu'elle se met à faire souffrir.

3- Le chondroblastome :

Il s'agit d'une tumeur ostéolytique généralement arrondie et bien limitée, dont le siège est exclusivement épiphysaire. Une biopsie chirurgicale est nécessaire pour en faire le diagnostic

Le chondrosarcome est caractérisé par l'existence d'une zone d'ostéolyse située au niveau de l'épiphyse humérale supérieure.

➤ Tumeur produisant du tissu conjonctif :

- Le fibrome non ossifiant :

Il s'agit d'une tumeur fibreuse dénuée de composants minéraux. Elle se présente sous forme de zone ostéolytique à contours polycycliques siégeant en région métaphysaire ou diaphysaire avec un aspect assez typique, mais non formel de fibrome non ossifiant

Dans ce cas là, le diagnostic est assez facile à faire compte tenu de l'image radiologique. Une biopsie chirurgicale à visée diagnostic n'est pas toujours nécessaire. La lésion s'appelle fibrome non ossifiant lorsqu'elle a plus de 2,5 cm de diamètre et elle s'appelle « cortical defect » ou lacune corticale bénigne lorsqu'elle a moins de 2,5 cm de diamètre. Lorsque les fibromes non ossifiant sont disséminés, il s'agit habituellement d'une dysplasie fibreuse des os. Cette maladie touche habituellement tout le squelette.

➤ Tumeur produisant des cellules histiocytaires :

1- Le granulome éosinophile :

Le granulome éosinophile est une tumeur d'origine histiocytaire et dont le siège peut être ubiquitaire au niveau osseux. La tumeur se manifeste le plus souvent sous forme ostéolytique au niveau des os plats, courts ou longs.

La clinique n'a aucune spécificité et généralement les examens complémentaires ne sont d'aucune aide pour le diagnostic histologique qui repose ici sur la biopsie chirurgicale. La lésion s'observe le plus souvent chez l'enfant et guérit après résection complète. Il n'est pas

rare d'observer des localisations multiples qui peuvent être décelées par l'examen scintigraphique.

2-L'histiocytose X :

C'est une maladie où les tumeurs histiocytaires fument au niveau de la peau, des poumons, des os et du tissu nerveux.

1-Kyste osseux solitaire :

Il s'agit d'une lésion soufflante kystique (contenant un liquide clair ou séro-sanglant). Cette lésion a probablement comme origine une dystrophie de croissance née du cartilage conjugal des os longs. On rencontre souvent cette formation kystique au niveau de l'extrémité supérieure du fémur ou plus fréquemment à l'extrémité supérieure de l'humérus. Cette lésion est souvent reconnue à l'occasion d'une fracture. Sa tendance première n'est pas à la guérison mais plutôt à l'évolution et il est souvent nécessaire d'entreprendre un traitement curatif par curetage et comblement par des greffons spongieux ou cortico-spongieux. Lorsque le kyste est fracturé, le traitement orthopédique amène habituellement à la consolidation dans des délais normaux. Même après traitement chirurgical, la récurrence est possible. En cas de doute, l'examen TDM confirme la nature liquidienne de la lésion. Il n'est pas besoin de proposer une biopsie chirurgicale pour affirmer le diagnostic.

2-Le kyste anévrismal :

Il s'agit d'une dystrophie, là aussi, kystique ou pseudo-kystique dont l'évolution initialement lytique se fait vers une organisation fibreuse plus ou moins calcifiée. La biopsie est nécessaire pour pouvoir affirmer le diagnostic.

-L'ostéite chronique :

Il est indispensable de se rappeler que les ostéites chroniques miment à s'y méprendre les tumeurs osseuses primitives bénignes et/ou malignes. Devant une lésion qui ne fait pas sa preuve diagnostique d'emblée, il est fondamental de rechercher non seulement une lésion tumorale mais aussi une lésion de nature infectieuse. C'est la raison pour laquelle, l'examen bactériologique doit faire partie de l'examen systématique effectué au même titre que l'examen anatomo-pathologique lors d'une biopsie chirurgicale.

Il existe d'autres lésions histologiques à l'origine de tumeurs bénignes mais elles sont beaucoup plus rares :

- à partir des vaisseaux : hémangiome, lymphangiome, tumeur glomique,
- à partir de la graisse : lipome,
- à partir du tissu nerveux : schwannome, neurofibrome.

3-2 Tumeurs osseuses primitives malignes :

➤ Tumeur produisant du tissu osseux :

-Ostéosarcome :

Il peut prendre de très nombreuses allures histologiques : ostéosarcome ostéoblastique, chondroblastique, fibroblastique à petites cellules ou à cellules géantes. Il existe également des ostéosarcomes très différenciés et des ostéosarcomes télangiectasiques. Le diagnostic repose sur la biopsie chirurgicale.

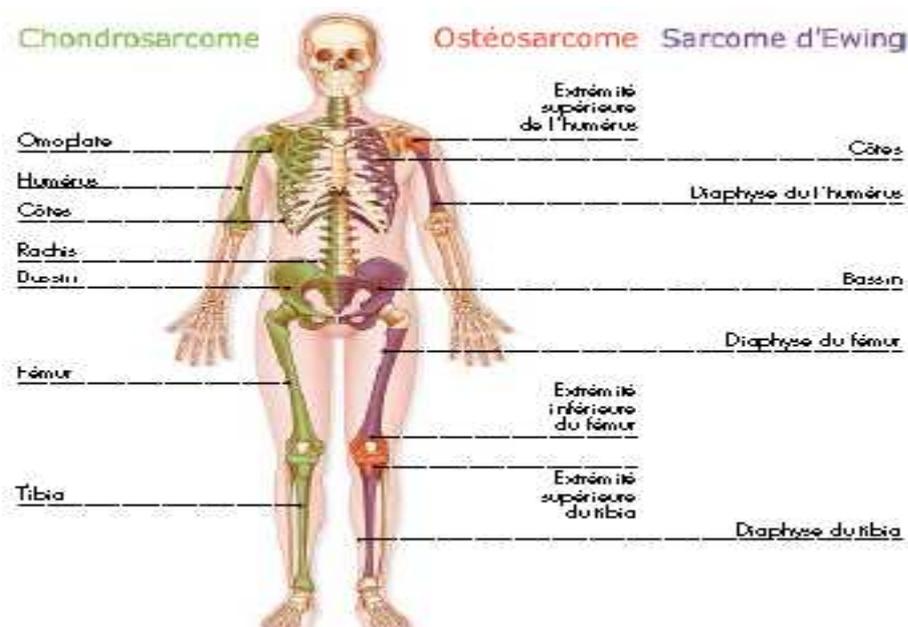


Figure 5 : Localisation de trois principaux de TOP

D'après (Fondation ARC, 2016)

➤ **Tumeurs produisant du tissu cartilagineux :**

-Chondrosarcome :

Celui-ci peut être médullaire ou périphérique. Il existe d'autres formes comme les chondrosarcomes mésoenchymateux ou les chondrosarcomes à cellules claires ou encore ceux qui sont dits « dédifférenciés ». Le chondrosarcome peut être réellement primitif ou secondaire développé à partir d'une lésion cartilagineuse initiale. C'est notamment le cas à partir des chondromes des ceintures ou des exostoses ostéogéniques. C'est la raison pour laquelle, toute exostose ostéogénique doit être enlevée si elle devient douloureuse. Le traitement du chondrosarcome fait appel presque exclusivement à la chirurgie, ces lésions étant radio et chimiorésistantes.

➤ **Tumeurs fabriquant du tissu conjonctif :**

-Fibroblastome

C'est une tumeur maligne dont le diagnostic doit être affirmé après biopsie chirurgicale. Les fibrosarcomes sont généralement peu sensibles à la radiothérapie et/ou à la chimiothérapie.

➤ **Tumeur fabriquant de la moelle osseuse :**

Il s'agit du **sarcome d'Ewing**, le **lymphome de Parker**, le **myélome**, les **plasmocytomes** et les **lymphosarcomes**. Le diagnostic est histologique après biopsie.

➤ **Tumeur fabriquant des cellules géantes :**

Il existe d'authentiques sarcomes à cellules géantes, véritables lésions malignes et miroir de la tumeur bénigne à cellules géantes.

➤ **Autres lésions malignes primitives :**

Ces lésions peuvent être constituées à partir des vaisseaux, de la graisse, du muscle. On distingue :

-à partir des vaisseaux : l'angiosarcome

-à partir de la graisse : le liposarcome

-à partir des muscles : le léiomyosarcome ou le rhabdomyosarcome

- à partir de la notochode : le chordome
- à partir de plusieurs tissus : le mésoenchynome malin

➤ **Tumeurs à malignité locale :**

Un certain nombre de tumeurs sont incontestablement, une malignité locale et sont la source de récurrence après traitement. Ces formes sont les suivantes :

- avec du tissu osseux l'ostéoblastome agressif,
- avec du tissu osseux conjonctif : le fibrome desmoïde,
- avec les vaisseaux : l'hémangio-endothéliome et l'hémangio-péricytome,
- à partir des cellules géantes à malignité locale,
- à partir d'éléments pluri-tissulaires : le mésoenchynome fibreux cartilagineux (Thomas T et al, 2008).

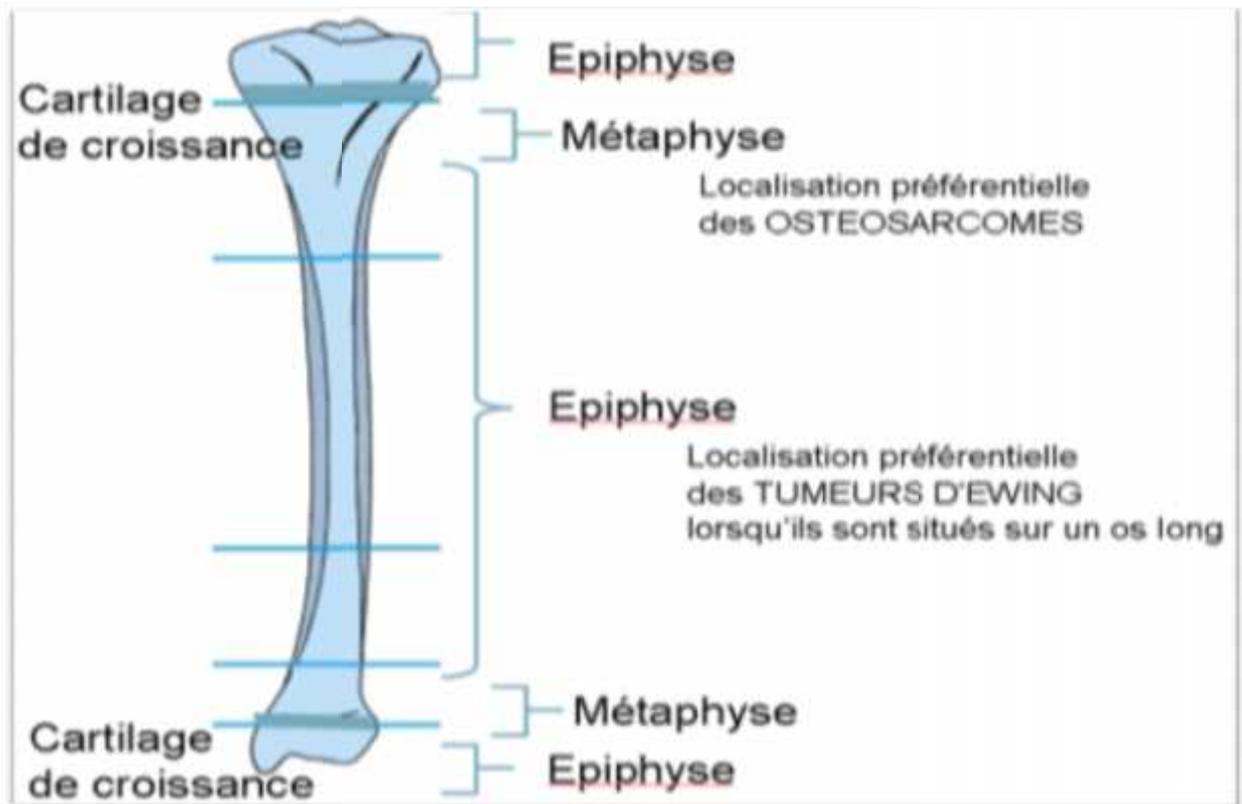


Figure 6: Différentes parties d'un os long et localisations préférentielles des tumeurs osseuses

(D'après ; Thomas T et al, 2008)

Les deux principaux TOP sont ostéosarcome et le sarcome d'Ewing.

1- L'ostéosarcome :

1-1 Description :

L'ostéosarcome est la TOP la plus fréquente, il est caractérisé par une lésion ostéolytique et ostéochondrosante.

Ainsi, l'ostéosarcome est caractérisé par un déséquilibre entre l'ostéof ormation et l'ostéorésorption, ce qui favorise la sécrétion de cytokines stimulants les ostéoclastes conduisant à la résorption osseuse.

1-2 Epidémiologie :

L'ostéosarcome est plus fréquent chez les adolescents et les jeunes adultes, il est rare avant l'âge de 5 ans. Cette pathologie représente une large prédominance masculine. En France, environ 150 nouveaux cas sont diagnostiqués chaque année.

1-3 Localisation :

L'ostéosarcome se développe au niveau des métaphyses des os longs près des épiphyses, et avec un taux élevé près du genou, à l'extrémité inférieure du fémur et l'extrémité supérieure du tibia comme, ils peuvent se développer au niveau de l'extrémité supérieure de l'humérus.

Par ailleurs, les ostéosarcomes de mandibule ou du maxillaire sont rares, et ils se caractérisent par un risque de récurrence locale supérieur aux ostéosarcomes des autres localisations avec un risque de métastase moindre (Claire ILLA, V 2016).

1-4 Classification :

Selon l'OMS 2013, les ostéosarcomes sont classés en :

- Ostéosarcomes centraux de bas grade avec une fréquence de 1 à 2%
- Ostéosarcome conventionnel de haut grade, la fréquence atteint 85%

On distingue dans cette classe : Ostéosarcome conventionnel ostéoblastique ;

Ostéosarcome conventionnel chondroblastique ;

Ostéosarcome conventionnel fibroblastique.

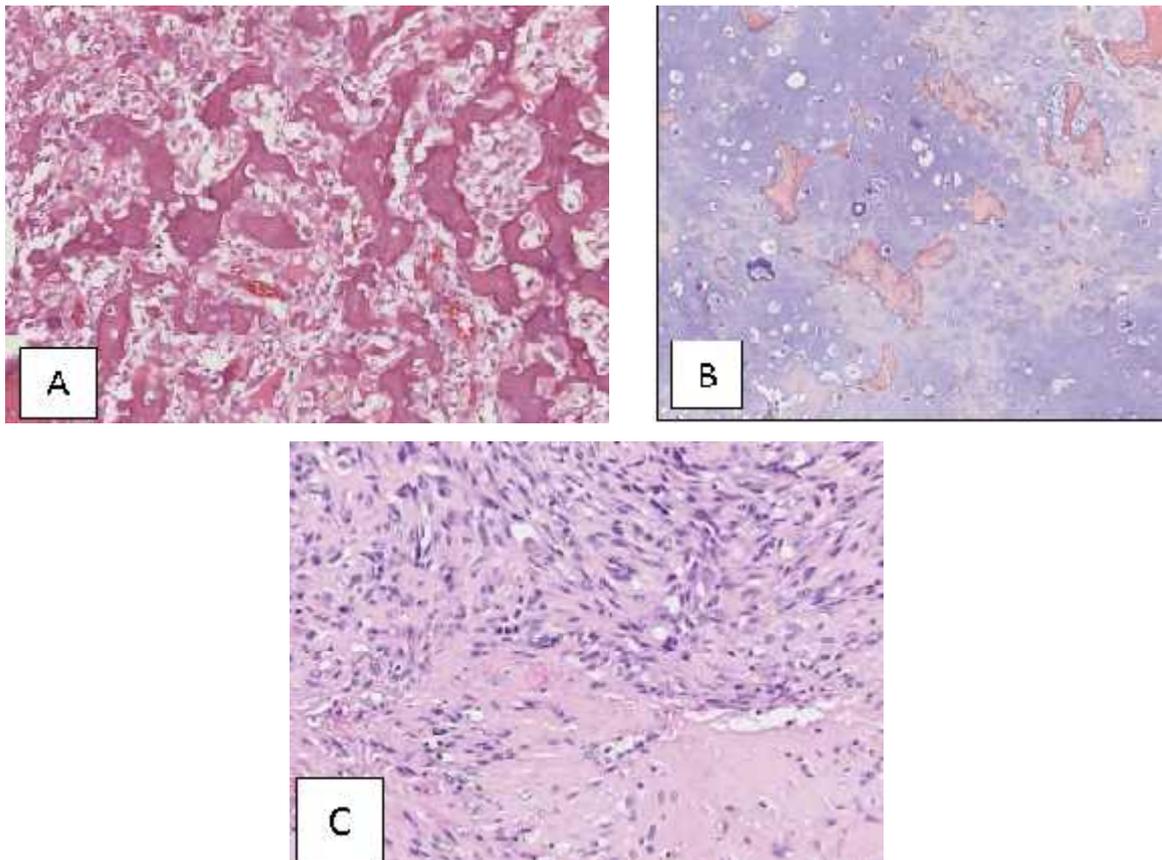


Figure 7 : Coupes histologiques des ostéosarcomes conventionnelles (x10)

A-ostéosarcome ostéoblastique B- ostéosarcome ostéoblastique C-ostéosarcome fibroblastique.

D'après (Claire ILLA, V 2016)

- Ostéosarcome télangiectasique : sa fréquence est 4%
- Ostéosarcome à petite cellules : il est de haut grade mais sa fréquence égale à 1,5%

Ostéosarcome secondaire : se regroupe en ostéosarcome parastéal et ostéosarcome périosté. (Claire ILLA, V 2016).

1-5 La biogenèse des ostéosarcomes :

Jusqu'à maintenant, l'étiologie des ostéosarcomes est mal connue. Le risque de l'ostéosarcome augmente avec l'exposition à des radiations et à la radiothérapie. (Daniel Pissaloux, 2014).

D'après des études les facteurs de risques sont : la taille supérieure à la moyenne et le poids élevé dès la naissance qui dépasse 4,045 Kg.

D'autre part, beaucoup de maladie favorisent le développement d'un ostéosarcome tel que la maladie de Paget, cette dernière provoque une augmentation du remodelage osseux.

Ainsi, les mutations des gènes sont les facteurs responsables de l'apparition de l'ostéosarcome comme la mutation du gène *sequestosome 1*.

La mutation germinale du gène TP53 sur le chromosome 17 p 13, ce risque augmente avec l'âge dans le syndrome de Li Fraumeni. (Daniel Pissaloux, 2014 Claire ILLA-V, 2016). Les mutations du gène RB1 sur le chromosome 13 q 14 avec un risque de développer un ostéosarcome secondaire.

Le risque encore augmente dans les syndromes rares de transmission autosomique récessive, il s'agit des mutations des gènes des hélicases de la famille RecQ. Dans le syndrome de Rothmund-Thomson provoqué par mutation du gène RECQL4 en 8q24.

Des mutations du gène WRN codant la RECQL2 dans le syndrome de werner sont responsables de vieillissement prématuré et le développement des ostéosarcomes, ainsi que dans le syndrome de Bloom qui est caractérisé par mutation de BLM.

En revanche, le syndrome RAPADILINO a un risque accru dans le développement de l'ostéosarcome, il est caractérisé par une mutation du gène RECQL4.

Par ailleurs, des délétions d'hétérozygote de la région 3q13, ou des amplifications ou gains des régions 6p12-21 et 8q sont aussi des anomalies à un risque dans le développement de l'ostéosarcome ; cela est dû à un mécanisme de chromothripsis¹, ce dernier se caractérise par une fragmentation des chromosomes d'une partie ou de la totalité du chromosome suivie d'un réassemblage aberrant. (Claire ILLA- V, 2016).

La délétion de **Transcriptional targets of N-MYC (TWIST)** ou l'inactivation de P16 (Aude Segaliny, 2014).

1-6 Diagnostic :

Les douleurs font les premiers signes utilisées dans le diagnostic des ostéosarcomes (PICARD Laure, 2014), elles sont dues à des fractures pathologiques (Aude SEGALINY, 2014 Berengere GOBIN, 2013).

¹ Chromothripsis (du grec « chromo » pour chromosome et « thripsis » signifie éclatement en morceaux)

Le diagnostic histologique révèle la présence de substance ostéoïde qui est synthétisée par les cellules tumorales, cela correspond à une matrice osseuse non minéralisée. Les coupes histologiques montrent l'apparition des éosinophiles qui sont amorphes et denses, ils forment un réseau grêle (en dentelle) et ils sont associés à des cellules tumorales (Claire ILLA- V, 2016).

1-7 Traitement :

Le traitement de l'ostéosarcome repose sur trois étapes essentielles : La chimiothérapie néoadjuvante qui dure 3 mois, puis chimiothérapie et résection de la tumeur osseuse en deuxième étape, et en dernière étape la chimiothérapie adjuvante pendant 6 mois. (David MONDERER, 2013 Audrey LAMORA, 2015).

1-7-1 La chimiothérapie :

Actuellement, il existe deux protocoles de chimiothérapie néoadjuvante. Ce traitement dépend de l'âge de patient (Tableau 1)

Tableau 1 : Protocole thérapeutique selon l'âge de patient

Age	Protocole thérapeutique
Avant 18 ans	OS94, associe le Méthotrexate (MTX) à haute dose avec l'étoposide (VP) et l'ifosfamide (IFO)
Après 25 ans	Le protocole API-AI basé sur l'alternance doxorubicine/ cisplatine/ ifosfamide et doxorubicine/ ifosfamide
Entre 18 et 25 ans	Le choix du protocole dépend du centre

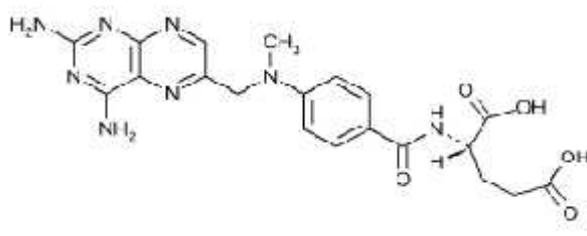
➤ La chimiothérapie néo adjuvante:

La chimiothérapie néo adjuvante a pour but de régresser la tumeur, favoriser la chirurgie conservatrice et traiter la micrométastatique précoce. (Berengere GOBIN, 2013 David MONDERER, 2014).

Parmi les médicaments néoadjuvants utilisés :

-Methotrexate anti-métabolite :

- **Nom chimique :** acide N [4[(2,4- diaminoptéridin-6-yl) méthyl] méthylamino] benzoyl]- L- glutamique.
- **Masse Moléculaire :** 454,45 g/mol.
- **Formule chimique :** C₂₀ H₂₂ N₆ O₅.
- **Formule développée :**



- **Pharmacocinétique :**

- **Absorption :** Le médicament est administré par voie orale, la biodisponibilité est de 60 , elle est réduite par les aliments particulièrement les produits laitiers.
- **Distribution :** Le methotraxate rentre en concurrence avec des folates réduits pour ce qui est du transport actif à travers les membranes.
- **Métabolisme :** Le methotraxate subit un métabolisme hépatique et intracellulaire, il est transformé en polyglutamate qui peut être converti en methotrexate grâce à l'enzyme hydrolase.

Les polyglutamates sont des inhibiteurs de la dihydrofolate réductase et de la thymidylate-synthétase.

Dans l'ostéosarcome, l'accumulation du métabolite actif peut devenir importante aux doses élevées.

Demi-vie : A faible dose $t_{1/2}$ = 3 heures à 10 heures.

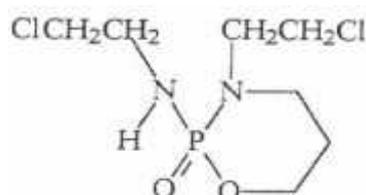
A dose élevée $t_{1/2}$ = 8heures à 15 heures.

- **Elimination :** La voie principale d'élimination est la voie rénale, elle se fait par filtration glomérulaire et sécrétion tubulaire active.

La vitesse de la clairance du Methotraxate varie grandement et diminue à doses élevées.

-Ifosfamide agent alkylant:

- **Nom chimique:** 3-(2-chloroéthyl)-2-[(2-chloroéthyl) amino]tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorine-2-oxide
- **Formule moléculaire :** C₇ H₁₅ Cl₂ N₂ O₂ P
- **Masse moléculaire :** 261,09g/mol.
- **Structure développée :**



- **Pharmacocinétique :**

-Administration : L'administration du médicament est intraveineuse.

-Distribution : Le volume de distribution des métabolites de l'ifosfamide s'approche du volume plasmatique, ceci est dû à la forte liaison aux protéines plasmatiques.

- Elimination : La moitié de la dose est sous forme inchangée dans les urines, alors que 20 à 36 % était sous forme de métabolites. Les principaux métabolites sont : deux dérivés monodéchloroéthylés et du carboxyifosfamide. La présence de ces métabolites dans les urines est expliquée par la saturation du processus responsable du métabolite ifosfamide.

-La demi-vie : La demi vie dépend de la dose. A des doses faibles la $t_{1/2}$ = 4 à 7 h.

A des doses supérieures de 3,8 à 5,0 g/m² la concentration du médicament biphasique diminue sous forme inchangée.

-Mode d'action : Ifosfamide est activé par les enzymes d'oxydation au niveau du foie et le reticulum endoplasmique lisse. L'activation est déclenchée par l'hydroxylation du carbone 4 sur le noyau, l'ouverture du noyau provoque la formation de l'aldo-ifosfamide, le tautomère de l'hydroxy-4- ifosfamide. (MONOGRAPHIE DE PRODUIT, 2015). La formation de alkylants extrêmement réactifs vont produire des liaisons covalentes entre brin d'ADN ce qui a pour effet d'entraver les processus de réplication et de transcription.

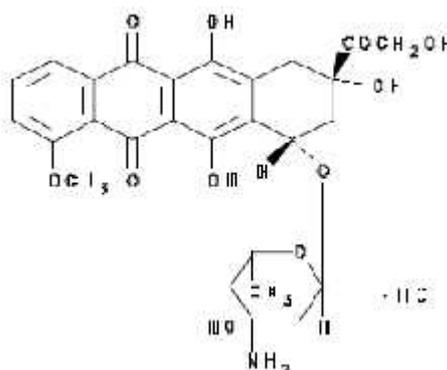
Le cisplatine est un organoplatine. Il est hydraté et il agit comme des alkylants en créant des ponts intra et intercaténaire entre les groupements phosphates et les guanines.

Le cisplatine est un des produits anticancéreux les plus émetteurs. Il a un taux de fixation de plus de 90 % ce qui le rend plus toxique. En plus, il est fortement néphrotoxique,

neurotoxique et ototoxique. Pour cela, l'utilisation de l'antagoniste des récepteurs 5-HT₃ de la sérotonine (*setron*) diminue la toxicité ou par l'utilisation de l'antagoniste du récepteur NK1 de substance P avec association d'un *setron* et un glucocorticoïde. La néphrotoxicité du cisplatine est réduite par une diurèse forcée générée par l'hyperhydratation (Pharmacologie DCEM3, 2012).

- **Doxorubicine :**

- **Nom chimique :** chlorhydrate de (8*S*:10*S*)-10[(3-amino-2,3,6-tridéoxy- β -L-lyxohexopyranosyl)oxy]-8-glycoloyl-7,8,9,10-tétrahydro-6,8,11-trihydroxy-1-méthoxynaphthacène-5,12-dione (USAN)
- **Formule moléculaire :** C₂₇H₂₉NO₁₁HCl
- **Masse moléculaire :** 579,98 g/mol
- **Formule développée :**



▪ **Pharmacocinétique :**

- **Administration :** L'administration de la doxorubicine se fait par voie intraveineuse.
- **Distribution :** Elle est largement distribuée dans les tissus.
- **Métabolisme :** Elle est métabolisée dans le foie et convertis en adriamycinol et plusieurs dérivés aglycones.
- **Excrétion :** La moitié de la dose de doxorubicine est excrétée dans la bile sous forme inchangée alors que 30 % de dose est sous forme conjuguée. (Monographie de produit, 2014)
- **Demi vie :** La demi vie de la doxorubicine est de 8 à 25 minutes, de 1h30 à 10h et de 24h à 48h. L'existence de la deuxième phase de demi-vie est due au métabolisme du médicament au niveau du foie en doxorubicinol, et la troisième phase serait attribuable au relâchement du médicament des sites de liaison dans les tissus. (Cathrine Lauzon, 2008)
- **Mécanisme d'action :** La doxorubicine est un antyrarycline qui a un large spectre d'action, elle possède des mécanismes antinéoplasiques pour induire la mort des cellules cancéreuses.

Le premier mode d'action est que la doxorubicine peut s'intercaler entre les bases de l'ADN, induire le stress oxydatif et inhibe l'activité de la topoisomérase II. Cela est dû à la présence d'un anneau planaire dans la structure de la doxorubicine qui favorise l'intercalation. L'incorporation entre les bases azotées modifie le cadre de lecture lors de la synthèse par les polymérases, ce qui inhibe la synthèse des diverses molécules nécessaires à la survie de la cellule.

Le deuxième mécanisme d'action de la doxorubicine est l'inhibition de la topoisomérase II par la stabilisation du complexe créé entre topoisomérase et l'ADN.

Le troisième mécanisme est la production d'un stress oxydatif. La doxorubicine possède une structure quinone qui peut être oxydée par différentes enzymes afin de former une semiquinone radicalaire. La molécule oxydée réagit avec une molécule d'oxygène pour générer des superoxydes et du peroxyde d'oxygène. Le stress oxydatif causé provoque des dommages à l'ADN, aux membranes cellulaires et la peroxydation des lipides et induit l'apoptose (Suzanne Gascon. 2015).

➤ **Chirurgie :**

Après une chimiothérapie néoadjuvante, la chirurgie est la deuxième étape. C'est une exérèse large avec une marge minimale de 2 mm (Claire ILLA, V 2016).

En revanche, la chimiothérapie combinée à la chirurgie (Roxane Therrien et al, 2013) afin de réduire la masse tumorale (David MONDERER, 2013 Daniel Pissaloux, 2014) et faciliter la résection (Daniel Pissaloux, 2014) car la chirurgie seule non combinée à la chimiothérapie favorise le développement du cancer du poumon (Roxane Therrien, 2013).

➤ **Examen anatomopathologique :**

L'examen anatomopathologique a pour objectif d'évaluer les marges de l'exérèse chirurgicale et l'efficacité de la chimiothérapie néoadjuvante. En plus, cet examen permet l'évaluation de la réponse à la chimiothérapie, et le pourcentage de nécrose tumorale attribuée à la chimiothérapie néoadjuvante. Il permet aussi de classer les patients en bons ou mauvais répondeurs selon la classification de Huvos et Rosen.

Mauvais répondeur :

Grade I : peu ou pas d'effet de la chimiothérapie avec peu ou pas de nécrose tumorale.

Grade II : la réponse est partielle et la masse tumorale atteint 10%

Bon répondeur :

Grade III : la réponse quasi- complète, pas de cellule viable où 100% de nécrose tumorale.

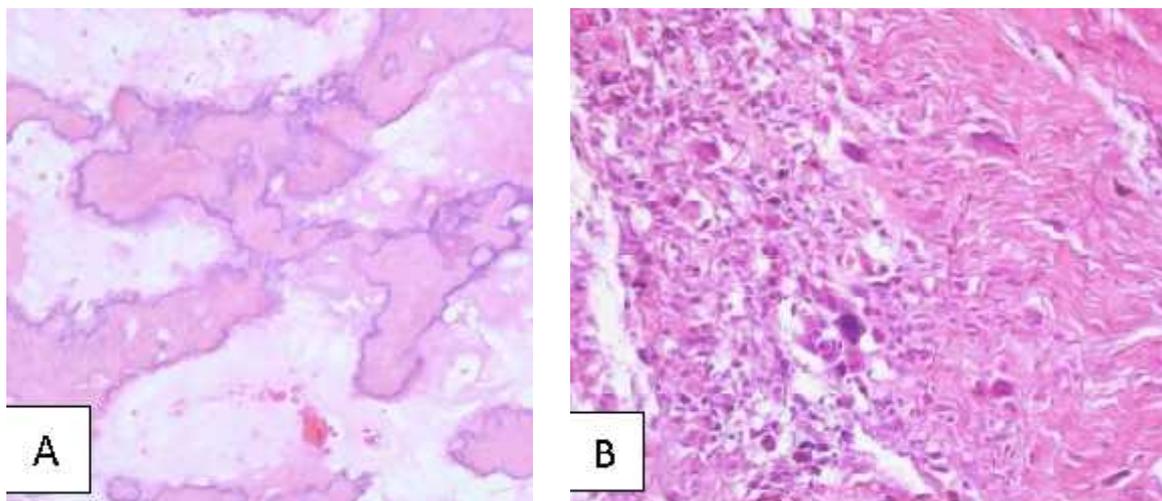


Figure9 : Réponse à la chimiothérapie selon la classification de Huvos et Rosen

A : Bon répondeur : absence de cellule tumorale viable réviduelle et présence de la fibrose ou de l'œdème qui remplace les cellules tumorales.

B : Mauvais répondeurs : persistance de cellules tumorales viables

(D'après Claire ILLA, V 2016).

➤ **D'autres approches thérapeutiques :**

Les nouvelles approches thérapeutiques visent à cibler le système immunitaire. Ce type de thérapie à montrer des résultats prometteurs dans le traitement des ostéosarcomes. Le tableau suivant résume les différents types des molécules du système immunitaire et leurs effets. (Audrey LAMORA, 2015 Claire ILLA, V 2016).

Tableau 2 : Effets des différentes molécules du système immunitaire. (Audrey LAMORA, 2015 Claire ILLA, V 2016).

Molécule	Effet
Utilisation de mifamurtide dans sa forme (muranyl tripeptide phosphatidyl ethanolamine L-MTP-PE)	Déclenche une réponse inflammatoire, qui active les monocytes et les macrophages.
Interféron INF	Stimule le système immunitaire par son activité angiogénique anti-tumorale. IFN- γ -2b inhibiteurs de la croissance des ostéosarcomes.
Inhibition des points de contrôles	Les anticorps anti-PDL1 bloquent PDL1 combiné

<p>immunitaires PDI et son ligand PDL1</p>	<p>avec un traitement anti-CTLA-4</p>
--	---------------------------------------

➤ **Rôle des bisphosphonates ou anticorps anti- RANKL :**

Ce type de traitement cible le cercle vicieux entre les ostéoclastes et l'ostéosarcome. Les cellules d'ostéosarcome secrètent des facteurs activateurs de la résorption osseuse, les ostéoclastes dégradent la matrice osseuse permettant la libération de cytokines de facteurs de croissance tels que : TGF- , IGF-1, **Platelet Derived Growth Factor** PDGF... Ces facteurs ont la capacité d'activer la prolifération des cellules tumorales.

Cependant, les bisphosphonates ou anticorps RANKL ont une efficacité dans le contrôle de la prolifération des cellules tumorales et le développement des métastases (Claire ILLA, V 2016). En plus les bisphosphonates inhibent la croissance de certaines tumeurs en induisant l'apoptose et en inhibant l'angiogénèse par l'inhibition de **vascultur endothelual growth factor (VEGF)** A et le récepteur VEGF. (Berengere GOBIN, 2013)

➤ **Rôle de l'Halofuginone :**

Halofuginone est une molécule qui a une capacité anti-tumorale et anti-métastatique dans l'ostéosarcome car elle cible le cercle vicieux par inhibition de la voie de signalisation du TGF- comme elle a la capacité d'induire l'apoptose de la caspase 3 et elle inhibe l'ostéolyse tumorale et l'angiogénèse (Audrey LAMORA, 2015)

➤ **Les micro RNA :**

La dégradation des voies de régulation post transcriptionnelles de l'expression génique favorise les mi RNA (suppresseurs des tumeurs) car ils ont perdu leurs activités et ils participent à la croissance tumorale (David MONDERER, 2013).

Dans l'ostéosarcome, une stratégie thérapeutique a été développée, il s'agit d'une production des anti-RNA qui inhibent les oncomirs surexprimés (Daniel PISSALOUX, 2014).

2- Le sarcome d'Ewing :

2-1 Description :

Le sarcome d'Ewing est une tumeur primitive maligne (Julie TALBOT, 2012 ; Guillaume-Anthony ODRI, 2014) de l'enfant et l'adolescent (Mascard JM Guinerbrière, 2001). Il est très rare en période néonatale (MD VIGNON-PENNAMEN, 2012).

Ce type de sarcome est prédominant chez les garçons (M. MARTINI et al, 2016) et il touche rarement les populations afro-américaines et asiatiques (Julie TALBOT, 2012) il représente environ 1,8 %, et 96% chez les sujets d'origine européenne.

2-2 Physiopathologie :

Le sarcome d'Ewing est caractérisé par des amas denses de petites cellules rondes uniformes en nappes, sous structure tissulaire reconnaissable.

En 1921, Ewing a attribué au tumeur osseuse primitive sensible à la radiothérapie : endothéliom diffus ou myélome endothélial.

Pendant une longue durée, le sarcome d'Ewing a été considéré un sarcome réticulo endothélial, et pour certains, le sarcome d'Ewing a été considéré qu'il provenait du mésenchyme indifférencié.

Tric-Carel et Aurias ont décrit la translocation 11-22, et à partir de là, le sarcome d'Ewing est établi qu'il était d'origine neuroectodermique, comme **tumeur neuroectodermique périphérique (PNET)** (Mascard JM Guinerbrière, 2001).

2-3 Localisation :

Le sarcome d'Ewing est localisé dans la zone diaphysaire des os longs, il atteint la zone métaphysaire et particulièrement diaphysométaphysaire (Mascard JM Guinerbrière, 2001 ; PICARD Laure, 2014) comme il atteint la zone épiphysaire exceptionnellement avant la fermeture du cartilage de croissance (Mascard JM Guinerbrière, 2001). Il est plus fréquent au niveau du pelvis de la cage thoracique, le fémur, le tibia et l'humérus (Roxane Therrien et al, 2013).



Figure 10 : Sarcome d'Ewing de la métaphysaire du tibia supérieur chez une fille de 15 ans.

A. Aspect condensant **B.** Aspect en imagerie par résonance magnétique.

D'après (Mascard JM Guinerbretière, 2001).

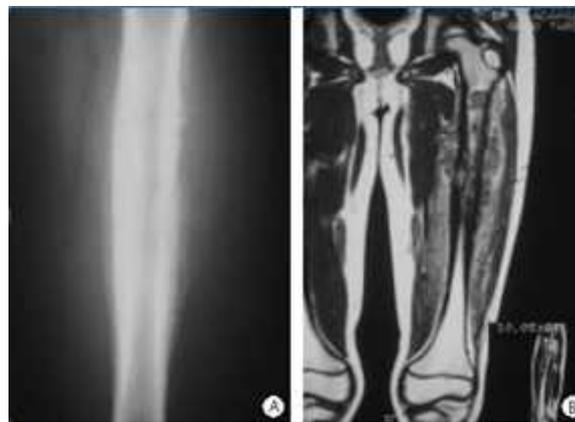


Figure 11 : Sarcome d'Ewing de la diaphyse du fémur chez un garçon de 9 ans.

A. Aspect typique en radiographie conventionnelle avec réaction périostée en pelure d'oignon

B. Aspect en imagerie par résonance magnétique.

D'après (Mascard JM Guinerbretière, 2001).

2-4 Biologie tumorale du sarcome d'Ewing :

Dans le sarcome d'Ewing, le gène **Ewing Sarcoma (EWS)** situé sur le chromosome 22 fusionne en amant d'un oncogène **Friend Leukemia Virus Integration 1 (FLI-1)** situé sur le chromosome 11 (Roxane Therrien, 2013).

Le gène EWS code pour une protéine qui possède dans sa région N- terminale des répétitions en tandem d'une séquence dégénérée, faiblement homologue à une séquence répétée en tandem, et dans la partie C-terminal elle présente des ARN polymérase II eucaryotes. La partie C-terminale de EWS présente une région ayant une forte analogie avec la structure consensus RNA *binding domain* connue pour interagir avec l'ARN et ADN simple brin.

Le gène sur le chromosome 11 présente une très forte homologie avec le gène Fli-1 murin, facteur de transcription appartenant à la famille **E26 Transformation Specific (ETS)**. Le produit de ce gène a un site de fixation à l'ADN grâce à la partie C-terminale (medecine/science, 1992).

L'oncoprotéine EWS-FLI se fixe sur des séquences d'ADN présentant des répétitions du motif GGAA puis elle peut interagir avec des protéines du splicéosome. D'autre part, cette oncoprotéine peut contribuer à la modulation d'épissage alternatif (Olivier SAULNLER, 2015)

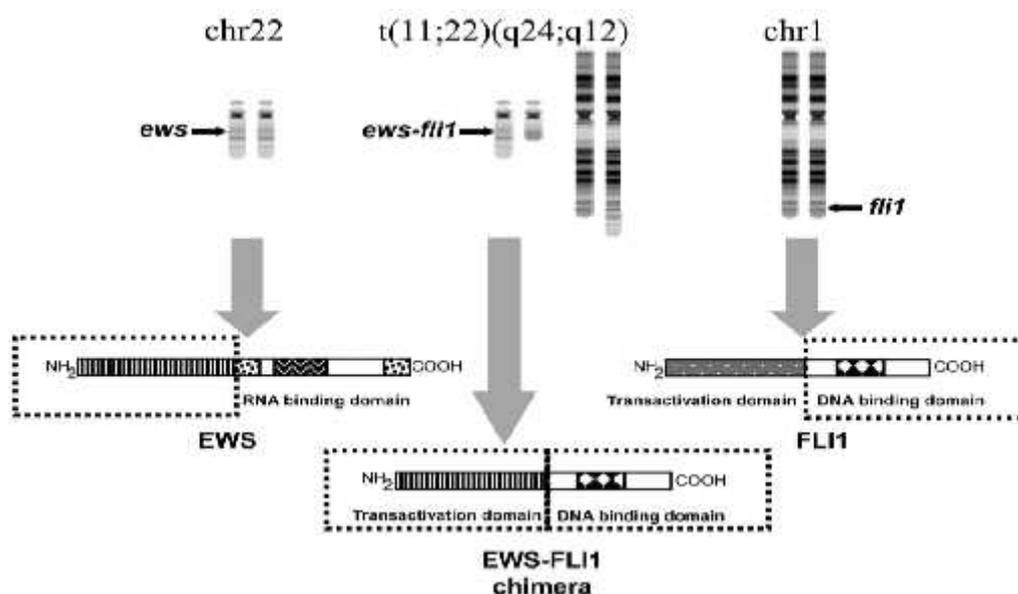


Figure 12 : La synthèse de la protéine chimérique EWS-FLI-1

D'après (Severine Clavier, 2016)

EWS- Fli-1 se caractérise par une suractivité qui dérégule les voies de différenciation, la prolifération et la survie cellulaire comme il peut favoriser l'hyper-expression de certains gènes

cibles **Méthionine Adenosyl Transferase II Beta (MAT2B)** qui développe par la suite le sarcome d'Ewing (Olivier SAULNLER, 2015)

Il existe d'autres translocations. Le tableau suivant les résume.

Tableau 3 : Différentes translocations, gène de fusion correspondants et leurs fréquences

D'après (Mascard JM Guinerbretière, 2001).

Translocation	Gène de fusion	Fréquence (%)
t(11;22)(q24,q12)	EWS-FR1	85
t(21;22)(q24,q12)	EWS-ERG	10
t(7;22)(q22,q12)	EWS-ETV1	rare
t(17;22)(q12,q12)	EWS-E1AF	rare
t(2;22)(q33,q12)	EWS-WT1	rare

Steven et al 2012 ont décrit les différences dans EWSR1 entre les populations blanches et les populations afro-américaines, leurs études montrent des différences dans l'intron 6 d'EWSR1 avec un allèle contenant moins de séquences répétitives observées chez la population africaine.

2-5 Diagnostic :

Les coupes histologiques montrent la présence de petites cellules rondes avec un rapport nucléo-cytoplasmique élevé. D'autre part, CD99 (associé aux cellules lymphoïdes) et CD57 (issus d'une différenciation neuro-ectodermique) sont exprimés sur les cellules du sarcome d'Ewing (Julie TALBOT, 2012)

Le CD99 est un marqueur du sarcome d'Ewing et est un indicateur de l'hyper-expression du micro RNA (Magali HERNANDEZ, 2013).

2-6 Traitement :

Le traitement du sarcome d'Ewing s'effectue sur trois étapes comme dans le traitement de l'ostéosarcome :

La chimiothérapie néoadjuvante repose sur l'utilisation de cinq agents (Vincristine, Cyclophosphamide, Ifosfamide, Doxorubicine et Etoposide). Puis, la résection chirurgicale de la tumeur locale associée à la radiothérapie et enfin, une chimiothérapie adjuvante associée ou non à la radiothérapie dans le but de diminuer et limiter l'évolution de la tumeur (Julie TALBOT, 2012).

➤ **La radiothérapie :**

La radiothérapie est post opératoire, elle est utilisée afin de diminuer la récidivité (PICARD Laure, 2014)

- **Inhibition de la voie mammalin target of rapamycine (mTOR) :**

La suractivité de mTOR dans la prolifération et la synthèse des protéines de transcription dans le sarcome d'Ewing est inhibée par plusieurs molécules telle que : Rapamycine, Everolimus, Temeserolimus, Ridaforolimus .

- **Acide Zolédonique :**

L'acide Zolédonique a un effet mieux de l'ifosfamide seul. Il a un rôle dans l'inhibition de la résorption osseuse et il rompt le cercle vicieux dans le développement du sarcome d'Ewing.

L'acide Zolédonique montre des propriétés anti-tumorales sur les cellules du sarcome d'Ewing, les cellules accumulent en phase S et le mécanisme indépendant des caspases favorise l'apoptose (Magali HERNANDEZ, 2013). .

- **Euro Ewing 2012 :**

Après le protocole Ewing Euro 99 qui compare les différentes chimiothérapies utilisées dans le traitement du sarcome d'Ewing, les groupes opérateurs européens ont mis le protocole Euro Ewing 2012 qui a débuté en Décembre 2013 et doit se poursuivre jusqu'en 2025 (Valentine Mirman, 2012). Il repose sur l'association de la chimiothérapie et l'acide Zolédonique afin de limiter les effets secondaires de la chimiothérapie (Euro Ewing 2012, 2014).

Radiothérapie pour le sarcome des tissus mous

En radiothérapie, on a recours à des rayons ou à des particules de haute énergie pour détruire les cellules cancéreuses. On l'administre souvent pour traiter le sarcome des tissus mous. Votre équipe de soins prendra en considération vos propres besoins pour choisir le type de

radiothérapie, la dose à administrer, la façon de le faire et l'horaire à suivre. Vous pourriez aussi recevoir d'autres traitements(Euro Ewing 2012, 2014).

Avant la chirurgie

Dans le cas d'une grosse tumeur ou d'une tumeur difficile à enlever, on peut administrer une radiothérapie avant la chirurgie, avec ou sans chimiothérapie. C'est la radiothérapie néoadjuvante, ou préopératoire. Une radiothérapie administrée avant la chirurgie peut détruire toutes les cellules cancéreuses qui se sont détachées de la tumeur principale et qui se trouvent dans un tissu voisin. Cela signifie qu'on enlève moins de tissu normal autour de la tumeur lors de la chirurgie et que la fonction et l'apparence sont moins affectées. Cela signifie parfois que la tumeur est plus facile à enlever. Cela réduit aussi le risque de réapparition, ou récurrence, de la tumeur après le traitement. La taille de certains types de sarcomes sera également réduite. On parle alors de régression du sarcome (Magali HERNANDEZ, 2013).

Après la chirurgie

On peut administrer une radiothérapie après la chirurgie, avec ou sans chimiothérapie, pour détruire les cellules cancéreuses qui restent et réduire le risque de réapparition, ou récurrence, du cancer. C'est la radiothérapie adjuvante(Euro Ewing 2012, 2014).

Traitement principal

On administre parfois la radiothérapie comme traitement principal du sarcome des tissus mous : quand une tumeur est très sensible à la radiation ou qu'elle se trouve dans une région où on ne peut pas faire de chirurgie sans danger par exemple. On peut aussi avoir recours à la radiothérapie comme traitement principal des personnes qui ne sont pas en assez bonne santé pour subir une chirurgie. L'administration d'une radiothérapie seulement n'engendre pas les mêmes bienfaits qu'une radiothérapie associée à une chirurgie.

Quand on administre une radiothérapie comme traitement principal, cela signifie habituellement que le cancer ne peut pas être guéri. La radiation peut contrôler la tumeur pendant un certain temps. Elle peut aussi soulager la douleur ou maîtriser d'autres symptômes d'un sarcome des tissus mous avancé. On parle alors de radiothérapie palliative (Magali HERNANDEZ, 2013).

1-Les biomarqueurs osseux :

Les marqueurs biochimiques osseux sont le reflet de l'activité ostéoblastique et ostéoclastique, ils traduisent le remodelage osseux.

1-1 Marqueurs biochimiques de la résorption osseuse :

Le dosage des marqueurs osseux de la résorption est le reflet du nombre d'ostéoclastes actifs ; il augmente dans toutes les pathologies qui sont caractérisées par une ostéolyse intense (Association des enseignants de biochimie et biologie moléculaire des facultés de pharmacie, 2011).

a-TRAP5b :

La **TRAP5b** est une isoenzyme de phosphatase de 35 -37 KDa, elle est exprimée par le gène *Apc 5* et elle est stimulée par des facteurs de transcription activés par RANK (Camille RAMIREZ, 2012) ; elle est synthétisée par les macrophages, les cellules dendritiques et les ostéoclastes. Le site actif contient un centre diferrique donc c'est une métalloprotéine, elle atteint son activité maximale à pH= 5,8.

Le substrat de la TRAP5b est déphosphorylé au niveau des résidus tyrosine de certaines protéines de la matrice organique. La déphosphorylation des protéines non collagénique de la matrice organique favorise la migration des ostéoclastes de la surface osseuse.

Les concentrations sériques élevées TRAP5b traduisent l'intensité de la résorption osseuse. En plus, elles jouent un rôle dans le développement du squelette et la minéralisation de l'os (KAPLON Hélène, 2014).

Par ailleurs, la TRAP5 b est exprimée aussi dans la prostate, la rate, les plaquettes et les globules rouges. Elle a une fonction indépendante de la fonction rénale (Marie-Sophie DUTERTRE SEQUEUAL, 2012).

Cette isoenzyme est résistante car elle n'est pas inhibée par l'acide tartique comme toutes les enzymes qui sont synthétisées par différents organes.

b- CTX :

Au cours de la résorption osseuse, la dégradation du collagène libère des fragments peptidiques contenant des molécules de pontage dans la circulation sanguine. Ce sont des télopeptides N-terminale et C-terminale de certaines lysines et hydroxylisines. Le télopeptide est formé par l'union d'une molécule de collagène à triple hélice d'une autre molécule de collagène.

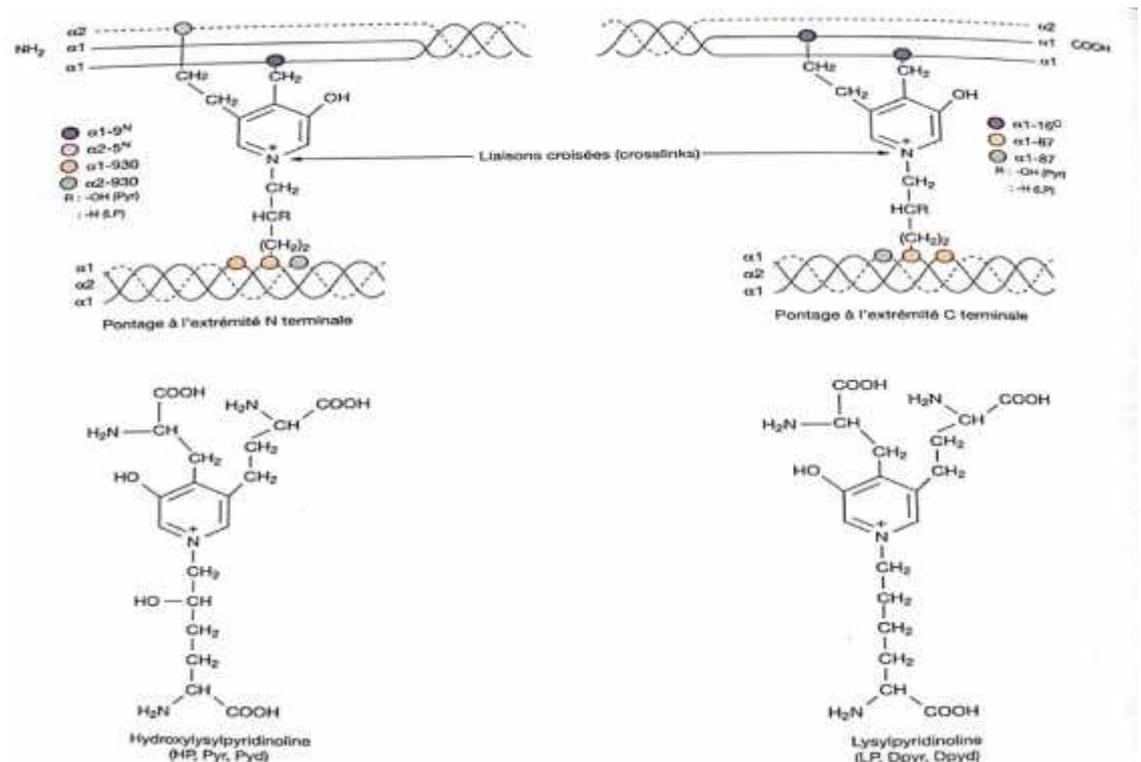


Figure 13 : Formation des molécules de pontage.

D'après (Association des enseignants de biochimie et biologie moléculaire des facultés de pharmacie, 2011).

L'utilisation du peptide synthétique de 8 acides aminés correspond à la séquence : Glu- Lys- Ala- His- **Asp- Gly**-Gly-Arg permet la détermination des fragments peptidiques ; cette séquence comporte une lysine impliquée dans la formation d'une molécule de pontage ; le site Asp-Gly dans cette séquence permet l'isomérisation. En plus, cette séquence est retrouvée sur l'extrémité C-terminale des chaînes 1 de la molécule de collagène de type I.

Lors de la résorption de la matrice par les ostéoclastes, les molécules de pontage pyridinolyne et déoxypyridinoline sont relarguées sous forme libre ou associées à des télopeptides (Marie-Sophie DUTERTRE SEQUEUAL, 2012).

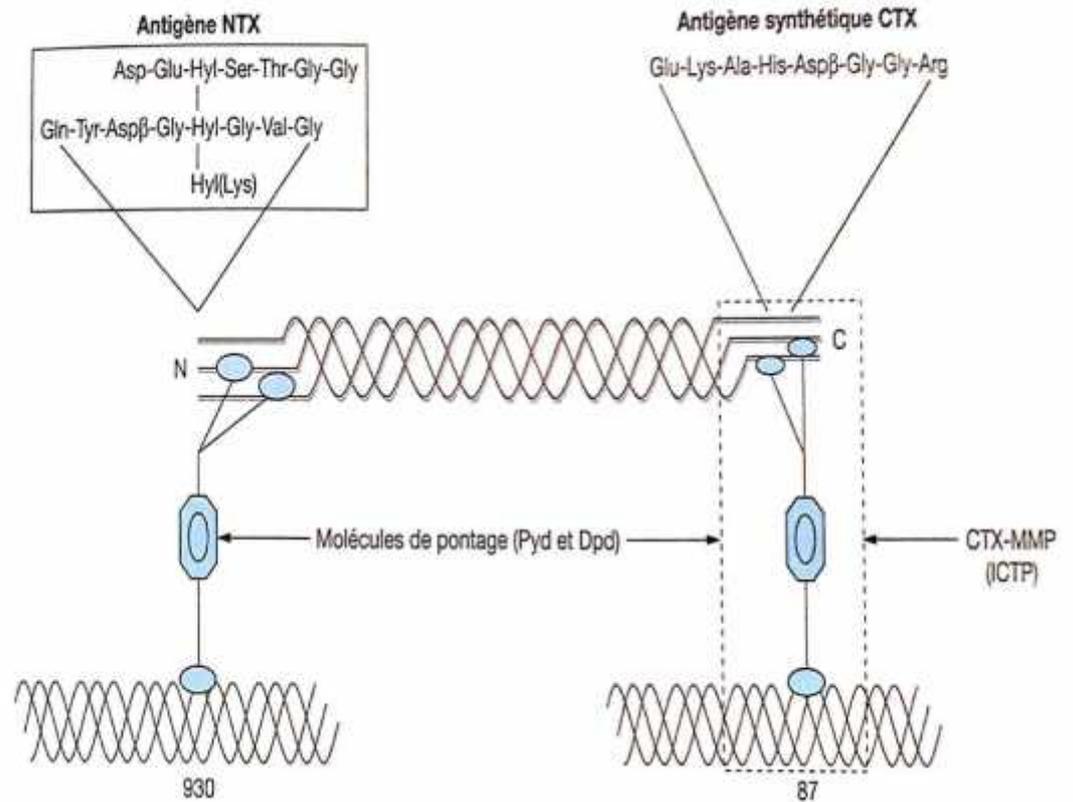


Figure14 :Bases moléculaires des marqueurs biochimiques utilisés actuellement pour évaluer la dégradation du collagène de type I.

D'après (Association des enseignants de biochimie et biologie moléculaire des facultés de pharmacie, 2011).

Tableau 4 : Marqueurs circulants de résorption osseuse

D'après (Sophie Bréban, 2009)

Marqueur	Origine	Prélèvement	Spécificité
Hydroxyproline totale dialysable (OH- pro)	Os, cartilage, tissus mous, peau	Urine	Tous collagène fibrillaires et dans des molécules collagéniques (C Iq et l'élastine) Présente dans le collagène mature et néosynthétisé .
Pyridoline (PYD)	Os, cartilage, tendon, vaisseaux, synoviale	Urine sérum	Collagène mature seulement, concentration maximale dans le cartilage et l'os, absent de la peau.
Désaxypyridoline (DPD)	Os, dentine	Urine Sérum	Collagène mature seulement ; concentration maximal dans l'os, absent de la peau
C-télopeptide du collagène de type 1 (ICTP)	Os, peau	Urine Sérum	Collagène de type I avec contribution osseuse préférentielle. Paramètre peu sensible dans l'ostéoporose .
C-télopeptide du collagène de type 1 (alpha TX, beta CTX)	Os et autre tissu contenant du collagène de type 1	Urine Sérum	Collagène type I avec préférentiellement d'origine osseuse
N-télopeptide du collagène de type 1 (NTX)	Os et autre tissu contenant du collagène de type 1	Urine Sérum	Collagène et protéine collagénique, essentiellement osseuse
Galactosyl-hydroxylysine (Gal-Hyl)	Os essentiellement	Urine Sérum	semble refléter essentiellement l'activité ostéoclastique
Sirtoprotéine osseuse	Os, dentine, cartilage hypertrophique	sérum	Ostéoclaste ,plaquettes ,érythrocytes ,l'isoenzyme Sb est préférentiellement ostéoclastique .
Phosphate acide tartrate résistante (TRAP)	Os, plaquettes	plasma sérum	

1-2 Marqueurs biochimiques de la formation osseuse :

Le liquide biologique de différents composés provenant de l'activité ostéoblastique est un reflet de la formation osseuse, il s'agit de la P1NP et PAO de type non collagénique (Dr Lukas Bestmann, 2011).

a-P1NP :

Les ostéoblastes produisent P1NP qui est une protéine. Le P1NP est formé par le clivage du procollagène en deux peptides : N-terminale (P1NP) et C-terminale (P1CP) (INESSS, 2016). Le P1NP est un peptide de 35 KDa, il circule dans le sang sous deux formes intactes (trimère et monomère) et sous forme de fragments de dégradation.

Ce peptide est catabolisé par le foie et éliminé par voie urinaire (Camille RAMIREZ, 2012).

Le P1NP, marqueur de la formation osseuse est plus sensible que P1CP dans le suivi de l'ostéoporose et il est encore plus sensible que la PAO dans la maladie de Paget (Isabelle Couret, 2003).

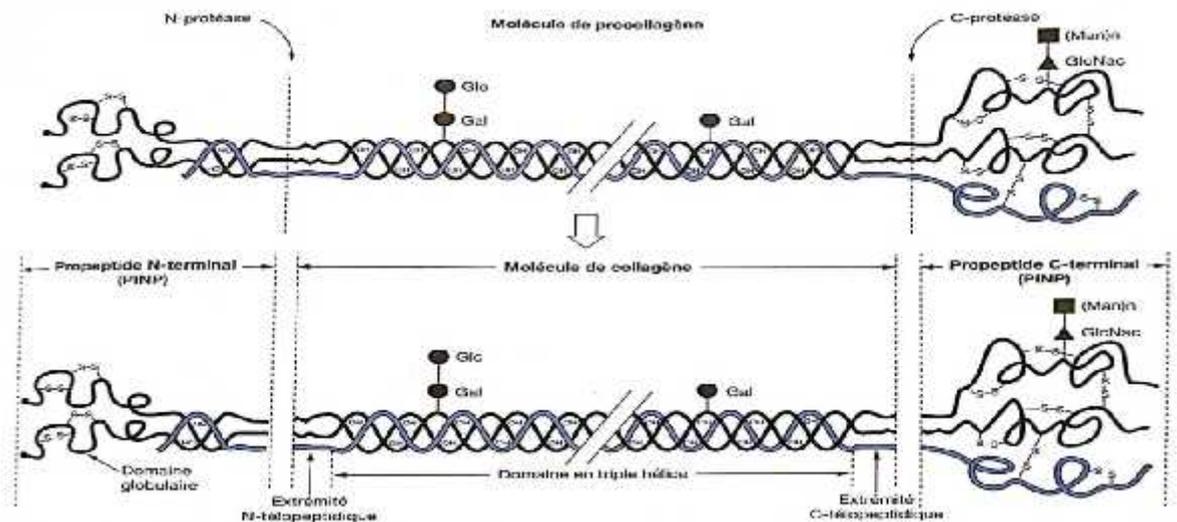


Figure15: Structure de la molécule de procollagène et de collagène de type I.

D'après (Association des enseignants de biochimie et biologie moléculaire des facultés de pharmacie, 2011).

b-PAO :

Les ostéoblastes présentent à leurs surfaces des PAO qui sont des glycoprotéines tétramériques de 80 KDa. L'hydrolyse de la matrice osseuse permet l'apparition du PAO sous forme dimère (Biomnis.Phosphatase alcaline osseuse. 2013). PAO est codée par quatre gènes où un seul gène code pour le groupe des phosphatases alcalines ; elle est exprimée dans le foie, le rein et l'os. Ces isoenzymes produites par

ces différents organes ne se diffèrent que par leur glycosilation post transcriptionnelle (Isabelle Couret, 2003) et par la mobilité électrophorétique, la stabilité vis-à-vis de la chaleur et par l'action d'inhibiteur chimique (J.GIUDICELLI et al, 1998). Elle joue un rôle dans la minéralisation.

D'autre part, la PAO est un marqueur sensible qui augmente avec le remodelage osseux chez les femmes post-ménopauses et elle est plus utilisée dans le suivi de la maladie de Paget et en néphrologie car sa concentration plasmatique est indépendante de la fonction rénale (Isabelle Couret, 2003).

Tableau 5 : Marqueur de la formation osseuse

D'après (Sophie Bréban, 2009)

Marqueur	Origine	Prélèvement	Spécificité
Phosphatase alcaline totale (ALP)	Os, Foie, intestin, rein, placenta	Sérum	Spécifique de la formation en l'absence d'atteinte hépatique et biliaire
Phosphatase alcaline osseuse (bALP)	Os,	Sérum	Spécifique de la fonction ostéoblastique
Ostéocalcine (OC)	Os, dentine	Sérum	Spécifique de la formation osseuse
Propeptide C-terminal du procollagène de type 1 (PIPC)	Os, tissu mous, peau	Sérum	Produit de la synthèse des ostéoblastes et fibroblastes
Propeptide N-terminal du procollagène de type 1 (PINP)	Os, tissu mous, peau	Sérum	Produit de la synthèse des ostéoblastes et fibroblastes Partiellement incorporé à la matrice

2- Impact des marqueurs de remodelage osseux dans les pathologies osseuses :

Le déséquilibre du remodelage osseux est évalué par les marqueurs du remodelage osseux qui ont un intérêt potentiel dans toutes les pathologies osseuses. La stimulation de la formation osseuse par les ostéoblastes développe des tumeurs ostéocondensantes ; dans ce cas là, P1NP et PAO sont élevés.

Par contre, la stimulation de l'activité ostéoclastique aboutit à la formation des tumeurs ostéolytiques. Le dosage des biomarqueurs osseux CTX et TRAP5b de la résorption osseuse est élevé dans les urines et le sérum.

D'autre part, les marqueurs du remodelage osseux permettent l'évaluation du degré d'atteinte squelettique ; le tissu osseux est le site privilégié du développement de métastase de nombreux cancers (Association des enseignants de biochimie et biologie moléculaire des facultés de pharmacie, 2011).

- **L'utilité des biomarqueurs du métabolisme osseux dans le diagnostic des métastases osseuses :**

Les métastases osseuses sont caractérisées par un déséquilibre entre la formation et la résorption osseuse, en outre, le dosage des protéines collagéniques et non collagéniques est un outil pour l'évaluation des métastases osseuses qui complète les examens conventionnels.

Chez les patients présentant des métastases osseuses, les niveaux sériques de la TRAP5b sont élevés. Les travaux de Leeming et al en 2006, suggère que le dosage des deux formes et de la CTX permettent l'identification des pathologies osseuses bénignes et malignes.

En plus, les concentrations de P1NP et P1CP sont élevés chez les patientes atteintes du cancer du sein et les patients atteints du cancer de la prostate ou pulmonaire avec des métastases osseuses. Le ratio P1CP/P1NP reflète le phénotype agressif de la tumeur avec une forte proportion de métastase osseuse.

La PAO est aussi élevée dans les atteintes de l'os par un cancer, soit il reflète une réaction ostéoblastique qui permet de développer des métastases ostéocondensantes, soit une réparation active du tissu osseux permettant l'évolution des métastases ostéolytiques.

La pertinence des biomarqueurs osseux dans les tumeurs osseuses apparait, car les biomarqueurs osseux de la résorption et de la formation sont élevés dans le diagnostic des tumeurs osseuses. En plus, le dosage des biomarqueurs du remodelage osseux est nécessaire car il est proche de l'imagerie médicale.

D'autre part, le taux des biomarqueurs osseux diminue après un traitement antirésorptif qui est souvent associé à une réduction de la douleur et à une progression tumorale (Sylvain Contié, 2013).

Partie pratique

*Matériel &
Méthodes*

Les expérimentations entretenues pour ce thème sont réparties en deux grandes parties :

Etude rétrospective et étude prospective.

1-partie rétrospective :

- **Objectifs :**

L'objectif général est d'étudier les différents types des tumeurs osseuses prises en charge dans le service de chirurgie orthopédique et traumatologique du Centre Hospitalo-Universitaire Ibn Badis Constantine (CHUC).

L'objectif spécifique est :

-D'évaluer la fréquence des tumeurs osseuses dans le service de chirurgie orthopédique et traumatologique du CHUC, d'identifier les formes anatomopathologique rencontrées et d'évaluer le résultat des traitements institués.

-Faire une approche épidémiologique de l'ostéosarcome et une comparaison de ce sarcome avec d'autres types des tumeurs osseuses.

-Faire le point sur la démarche diagnostic de cette tumeur au niveau du service d'orthopédie du CHUC.

- **Nature de l'étude :**

C'est une étude rétrospective qui décrit les aspects épidémiologiques, diagnostiques et thérapeutiques des tumeurs osseuses chez différents sujets.

- **Echantillonnage :**

L'étude rétrospective se base sur le traitement de 100 dossiers au service d'orthopédie du CHUC.

- **Le cadre d'étude :**

L'enquête s'est déroulée au niveau du service de chirurgie orthopédique et traumatologique du CHUC.

- **Période d'étude :**

L'étude s'est étendue sur une période de 4 ans, (depuis 2012 jusqu'à 2016).

- **Population d'étude :**

L'étude a été portée sur les patients porteurs de tumeur osseuse vus aux services durant notre période d'étude.

- **Les critères d'inclusion :**

Ils étaient inclus dans cette étude tous les patients vus au service de chirurgie orthopédique et traumatologique de l'hôpital, qui présentaient une tumeur osseuse suspectée à la radiographie et confirmée par anatomie pathologie dont nous avons suivi le traitement et l'évolution pendant la durée de cette étude.

- **Les critères d'exclusion :**

L'étude a trouvé des malades aux dossiers incomplets, des malades ayant été perdus de vue et des malades évacués ailleurs.

- **Collecte des données :**

Le recueil des données a été fait à partir des fiches d'enquête, de registre de consultation externe et les dossiers de consultation et de suivi post- opératoire des malades.

- **Traitement et analyse des données :**

La saisie et l'analyse des données ont été faites sur les logiciels Excel 2007 ANASTAT IPI info et SPSS 2013.

2-partie prospective :

- **Objectif d'étude :**

Les biomarqueurs osseux reflètent précocement la tumorigénèse osseuse au site primaire et au site métastatique.

Les marqueurs biochimiques osseux ont un fort potentiel dans le diagnostic, le pronostic et le suivi thérapeutique des pathologies osseuses car ils peuvent indiquer des variations du remodelage avant leurs détections par l'imagerie médicale.

L'objectif de ces travaux est d'évaluer l'intérêt des biomarqueurs osseux de formation P1NP et PAO et ceux de la résorption CTX et TRAP5b dans le diagnostic des tumeurs osseuses primitives l'ostéosarcome et le sarcome d'Ewing.

- **Constitution d'une population de patient :**

- Caractéristiques des échantillons étudiés :**

73 patients ont subi des analyses prospectives des tumeurs osseuses (73 patients atteints de tumeurs osseuses confirmée par anatomie pathologie, radiographie et post opération), 40 patients atteints ostéosarcome et 33 patients atteints du sarcome d'Ewing, et

100 patients sains sans affection de tumeurs osseuses (100 patients témoins) dont 50 patients hommes et 50 patients femmes âgés entre 5 ans et 20 ans.

- **Recueil de données :**

Un questionnaire a été réalisé afin d'enregistrer toutes les informations nécessaires à cette étude avec le malade lui-même et par la consultation de son dossier médical impliqué dans la prise en charge médicale des patients.

- **Prélèvement sanguin :**

Les prélèvements sanguins sont effectués à jeun en position semi assise par ponction veineuse franche sur des tubes héparinés placés immédiatement dans la glace à l'abri de la lumière acheminé au laboratoire de biochimie du CHU Constantine dans un délai maximal d'une heure de temps, centrifugés à raison de 4000 tours par min. Le plasma sanguin est divisé en 2 aliquotes : l'un pour le dosage et l'autre en réserve, ainsi les échantillons sont numérotés et codifiés.

- **Calendrier d'étude :**

L'étude prospective a débuté le 19 Janvier 2014 et terminée le 03 Janvier 2015. Elle a comporté deux évaluations :

En premier temps, dosage des biomarqueurs TRAP5b, CTX, P1NP et PAO dans le sérum avant une chimiothérapie néoadjuvante pour les patients atteints d'ostéosarcome ou sarcome d'Ewing.

En second temps, dosage des biomarqueurs TRAP5b, CTX, P1NP et PAO dans le sérum après la chimiothérapie néoadjuvante pour les patients atteints d'ostéosarcome ou sarcome d'Ewing.

La chimiothérapie néoadjuvante est basée sur l'utilisation de Méthotrexate, ifosfamide et cisplatine.

- **Dosage des biomarqueurs :**

Les dosages sériques effectués sont ceux de la TRAP5b, CTX, P1NP et PAO.

1-Dosage sérique de la TRAP5b :

Le dosage de la TRAP5b est fait selon la technique Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (Quidel, 2005).

Le principe du test est un immunodosage destiné à doser la TRAP5b dans le sérum ; cette technique est appelée « dosage en sandwich ».

Les échantillons sont incubés dans des microplaques et recouverts avec des anticorps humains de la TRAP5b. Après le rinçage, le complexe **TRAP5b - anticorps** est révélé par le substrat p NPP à pH= 5,5.

La réaction est arrêtée par l'addition de la solution de l'hydroxyde, ce qui donne une couleur jaunâtre ; cela permet la lecture au spectrophotomètre à 405 nm.

Les absorbances sont proportionnelles à l'activité de la TRAP5b. La cuve du standard est construite par un traceur des valeurs d'absorbance par opposition à l'activité enzymatique du recombinant TRAP5b étalonnage. L'activité de l'échantillon inconnu est déterminée en U/I par l'utilisation de la cuve de standard.

2-Dosage sérique de la PAO :

Le test est évalué avec Ysis Analyzer (IDS immune Diagnostics Systems) (Ostase®, 2006).

La PAO est dosée par une technique immunoenzymatique à deux sites sur phase solide utilisant des anticorps monoclonaux. Les échantillons sont mis en contact avec une solution contenant un anticorps monoclonal spécifique de PAO et à la biotine. La réaction a lieu dans des barrettes de puits en plastique (phase solide) sensibilisées avec de la streptavidine et entourées d'un cadre en plastique.

Après la formation d'un complexe phase solide/ anticorps de capture/PAO, la microplaque est lavée pour éliminer la PAO non liée et est ensuite incubée avec un substrat enzymatique. La quantité de substrat consommé est déterminée par colorimétrie en mesurant l'absorption de la réaction après blocage à 405nm dans un lecteur de microplaque. L'absorption est proportionnelle à la concentration de PAO présente dans l'échantillon à tester. Le calcul de concentration de PAO présente dans l'échantillon, est basé sur le dosage simultané des étalons PAO et de l'Etalon zéro/ Diluant.

3-Dosage sérique de la P1NP :

Dans la première incubation on a met 20 µl d'échantillon et anticorps monoclonal biotinylé spécifique de P1NP.

La seconde incubation est effectuée après addition de microparticules marquées streptavidine P1NP d'anticorps monoclonal spécifique marqué avec un complexe de ruthénium ; le complexe formé se forme en sandwich qui se lie à la phase solide par l'interaction entre la biotine et la streptavidine.

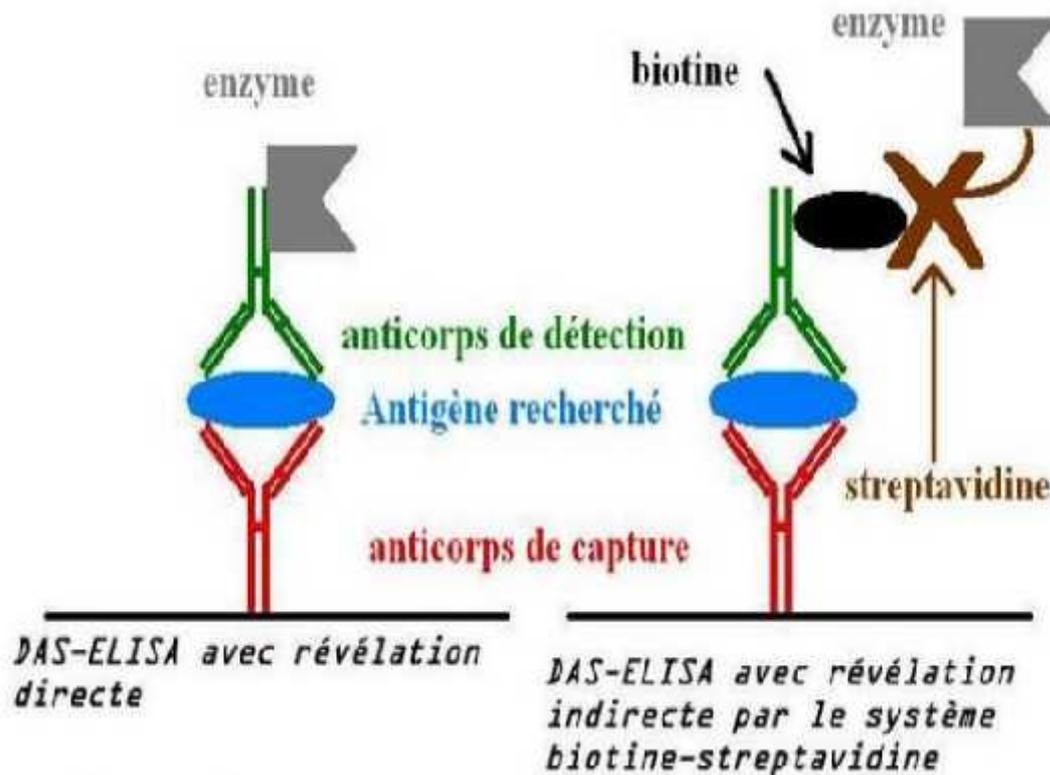


Figure 16 : Représentation schématique du système d'amplification du complexe biotine-streptavidine (D'après M.Frederick, 2008).

Le mélange réactionnel est aspiré dans une cellule de mesure où les microparticules avec des complexes liés sont capturées par un aimant. Les substances non liées sont éliminées avec ProCell / ProCell M. Les résultats sont déterminés à partir de la courbe d'étalonnage spécialement conçue pour l'instrument avec un étalonnage en deux points et la courbe principale, qui est lue à partir du code à barres du réactif (Cobas®, 2015).

4-Dosage sérique de la CTX :

Le dosage de la CTX est réalisé à température ambiante 18 à 25 °C.

La solution de l'anticorps est préparée 30 minutes avant de commencer les essais.

Pour la première incubation on ajoute 50µl d'échantillon avec un anticorps monoclonal anti -CrossLaps spécifique biotinylé dans un rotateur horizontal 300 rpm à 8-22 C.

Les microplaques sont lavées 5 fois avec une solution de lavage.

La deuxième incubation est réalisée par addition d'un anticorps monoclonal anti- CrossLaps spécifique où se forme un « Sandwich » 300 rpm à 8-22°C. La réaction est stoppée par l'addition de 100 µl de solution H₂SO₄. Enfin, la lecture des absorbances à 405 nm est faite dans un lecteur des microplaques (CrossLaps, 2013).

- **Analyse statistique :**

L'analyse statistique des données est effectuée à l'aide du logiciel EXEL STAT. Les variables quantitatives sont exprimées en moyennes ± écart type et les variables qualitatives en pourcentage des différentes modalités. Le test de chi 2 a été utilisé pour comparer les différences entre les groupes concernant les variables qualitatives. La recherche d'association entre les variables continues est effectuée par le calcul du coefficient de corrélation de SPEARMAN, MANN-Whitney et ANOVA, afin de déterminer les effets de la résorption et ceux de la formation osseuse, avec application d'un modèle d'analyse de covariance incluant différentes variables comme covariables. Pour tous les tests, le seuil de signification statistique est fixé à 0,05.

Cas particulier :

Il s'agit de 17 patients (7 femmes et 10 hommes) atteints des tumeurs osseuses : ostéosarcome, sarcome d'Ewing ou chondrosarcome avec des localisations différentes au niveau de l'os. L'âge des patients est différent par rapport au groupe de 73 patients ; il est de 27±10 pour les hommes et 32±13 pour les femmes, parmi eux il existe des femmes post ménopausés

Le dosage est effectué dans le sérum de la même manière afin de tester le taux sérique des biomarqueurs de formation PAO et P1NP et ceux de la résorption TRAP5b et CTX, sauf que dans ce cas là, le dosage est effectué une seule fois car il existe des malades qui ont subi déjà une chimiothérapie.

Le groupe de contrôle contient 17 témoins (7 femmes et 10 hommes).

*Résultats
rétrospectives*

1-Résultats relatifs à l'étude rétrospective:

Dans cette première partie, nous visons à explorer les aspects épidémiologiques, diagnostiques et traitements des tumeurs osseuses au niveau du CHU Constantine.

1-1 Variation de la tumeur osseuse en fonction d'âge et le sexe :

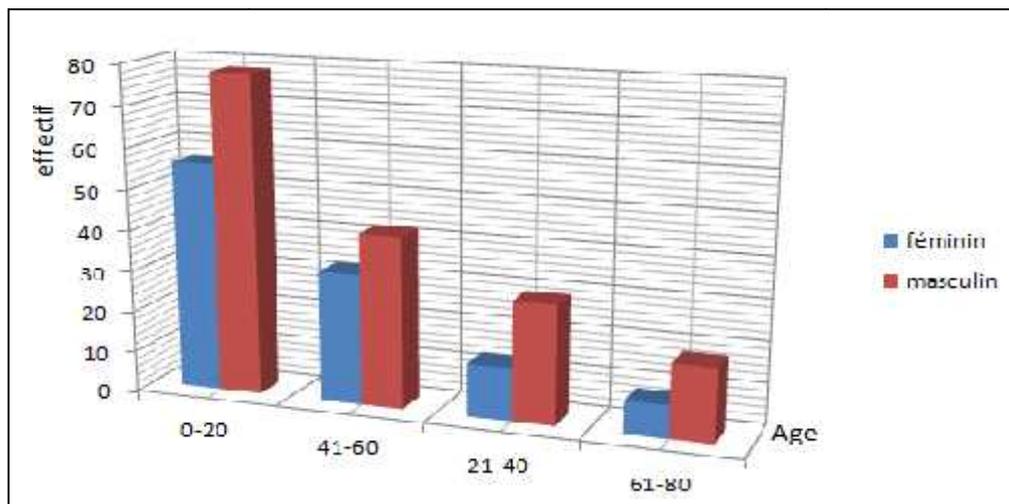


Figure17 : Répartition des patients présentant une tumeur osseuse selon l'âge et le sexe.

D'après la figure 17, la tumeur osseuse est plus fréquente chez les sujets âgés de moins de 20 ans, avec une dominance de la gente masculine.

1-2Variation de la tumeur osseuse selon le sexe et la nature de la tumeur :

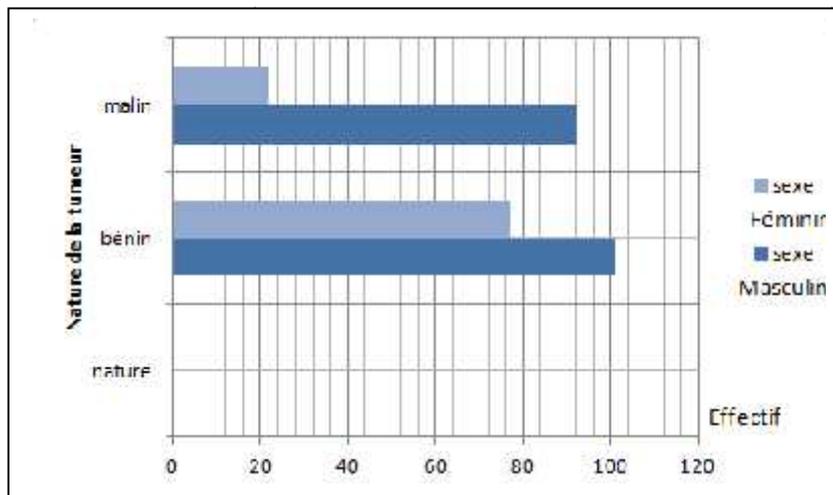


Figure 18 : Répartition des patients présentant une tumeur osseuse selon le sexe et la nature de la tumeur.

La tumeur bénigne est plus fréquente chez les deux sexes, avec une fréquence masculine plus élevée que celle féminine.

1-3 Variation de la tumeur osseuse selon l'âge et le sexe :

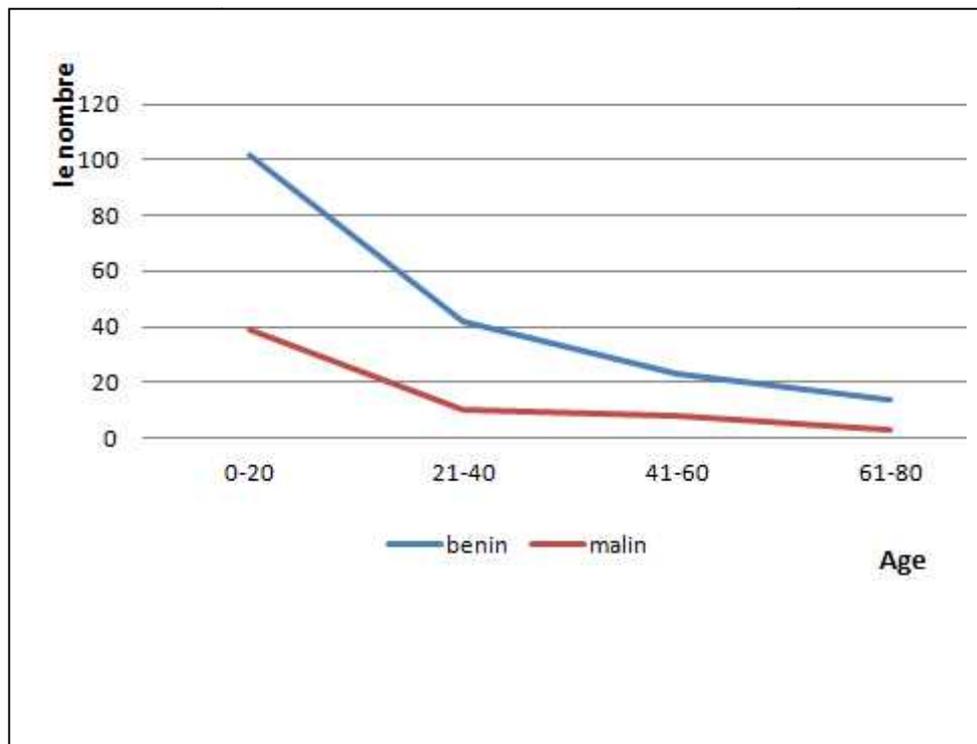


Figure 19 : Répartition des patients présentant une tumeur osseuse selon l'âge et la nature de la tumeur.

La tumeur osseuse présente une dominance chez les sujets âgés moins de 20 ans et diminue chez les sujets adultes. D'autre part, la tumeur bénigne est plus fréquente que la tumeur maligne.

1-4 Variation de la tumeur osseuse selon la profession :

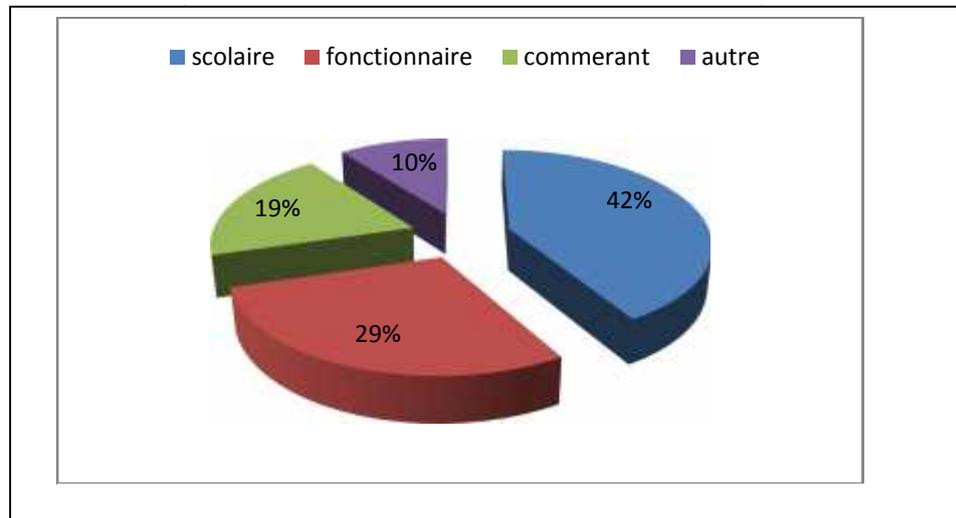


Figure 20 : Répartition des patients présentant une tumeur osseuse selon la profession.

La figure 20 montre que la tumeur osseuse est plus présente chez les scolarisés puis chez les fonctionnaires. Elle est un peu fréquente chez les commerçants.

1-5 Variation de tumeur osseuse selon les symptômes :

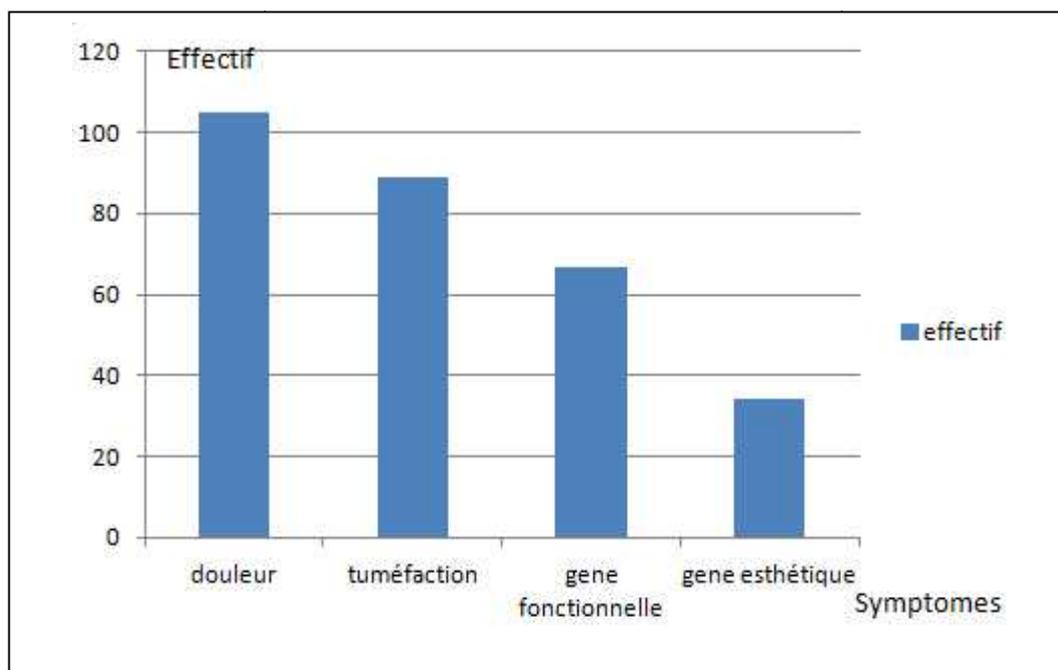


Figure 21 : Répartition des patients présentant une tumeur osseuse selon le motif de consultation.

Les gens qui ont les symptômes de douleur sont les plus touchés par la tumeur osseuse. Les autres symptômes : tuméfaction et gêne fonctionnelle présente aussi une tumeur osseuse mais d'un taux moins fréquent que le motif de consultation douleur. Le gêne esthétique présente un taux faible par rapport aux autres motifs de consultation.

1-6Variation de la tumeur osseuse selon la localisation de la tumeur:

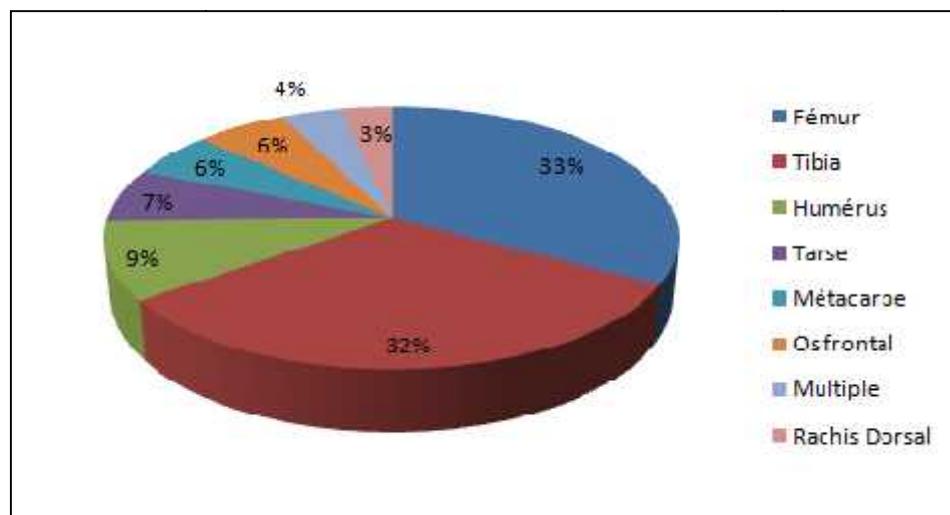


Figure 22 : Répartition des patients présentant une tumeur osseuse selon le siège de la tumeur.

Le fémur et le tibia sont les plus touchés par la tumeur osseuse ; ils représentent en moyenne 32,5% par rapport au siège de la tumeur. Par contre, l'humérus, le tarse, le métacarpe, l'os frontal et le rachis dorsal sont moins touchés par la tumeur osseuse ; leurs fréquences sont entre 3% à 9%.

1-7 Variation de la tumeur osseuse selon le mode de début :

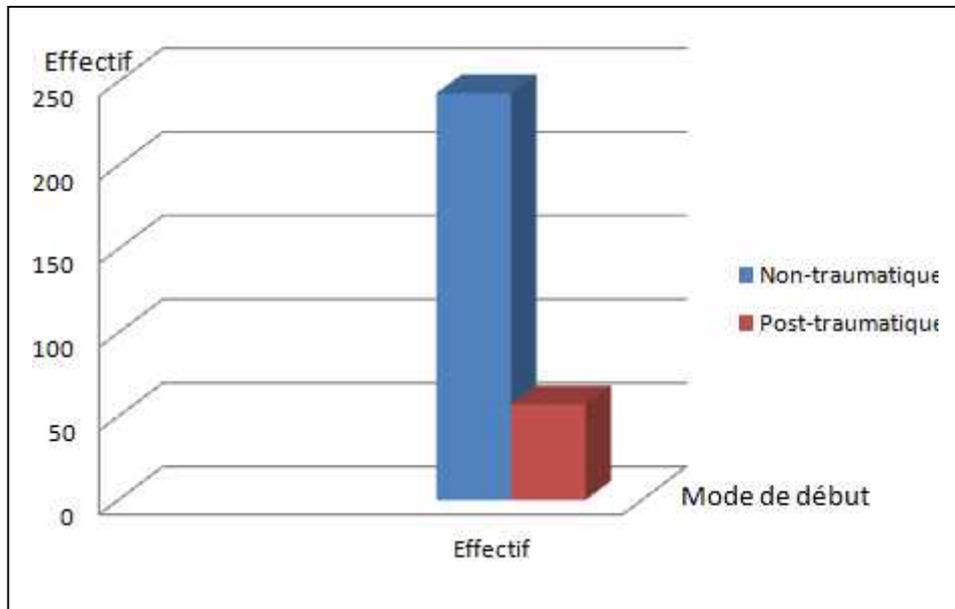


Figure 23 : Répartition des patients présentant une tumeur osseuse selon le mode de début.

La figure 23 montre que le mode de début non-traumatique est plus élevé que le mode de début post traumatique dans la tumeur osseuse.

1-8 Variation de la tumeur osseuse selon le type radiologique :

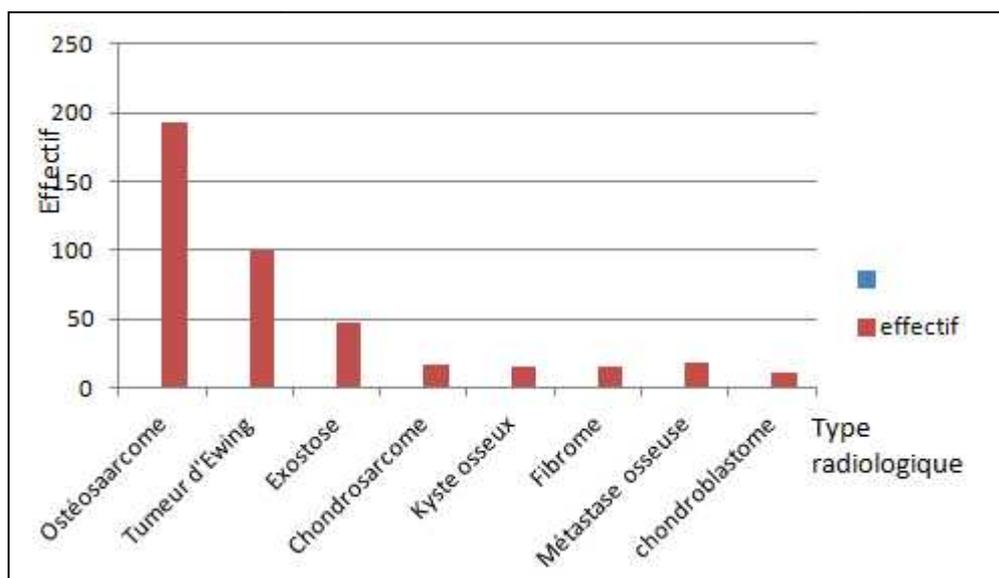
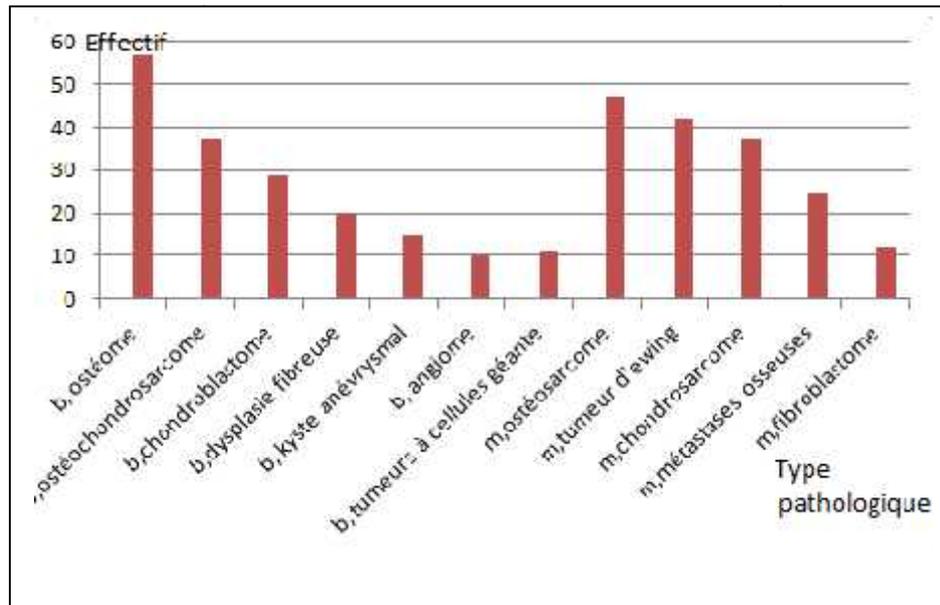


Figure 24 : Répartition des patients présentant une tumeur selon le type radiologique.

Dans la figure 24, l'ostéosarcome présente l'effectif le plus élevé puis le sarcome d'Ewing. Par ailleurs, l'exostose, le chondrosarcome, le kyste osseux, le fibrome et le chondroblastome sont les moins touchés.

1-9Variation de la tumeur osseuse selon les résultats anatomo-pathologique :



B : bénin m : malin

Figure 25 : Répartition des patients présentant une tumeur osseuse selon les résultats anatomo-pathologiques.

Selon la figure 25, l'ostéome bénin, la tumeur d'Ewing maligne et l'ostéosarcome malin représentent un taux élevé par rapport aux ostéosarcome bénin et chondrosarcome malin. En plus, les métastases osseuses sont moins fréquentes que la tumeur d'Ewing et l'ostéosarcome.

1-10Variation de la tumeur osseuse selon les analyses biologiques :

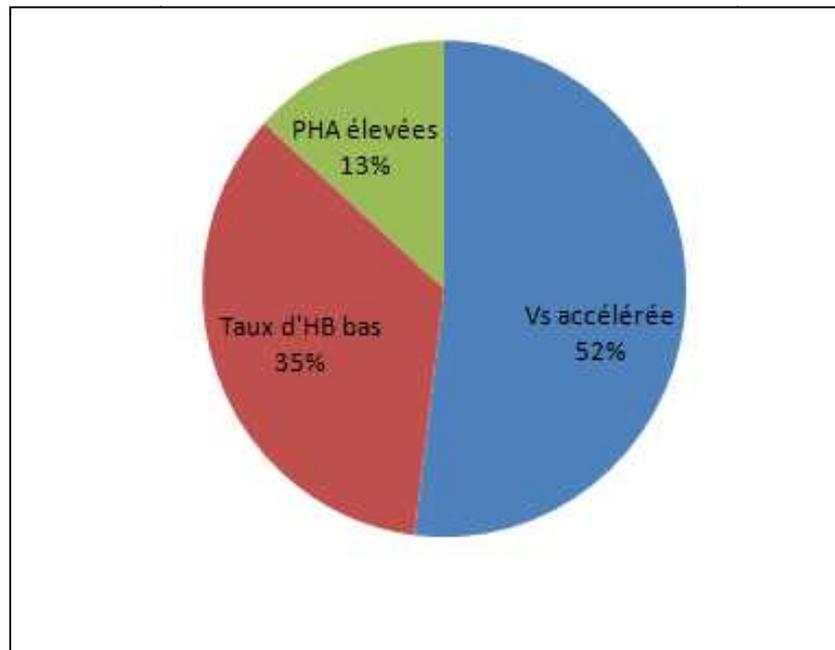


Figure 26 : Répartition des patients présentant de la tumeur osseuse selon les résultats de la biologie.

D'après la figure, les patients présentant une vitesse de sédimentation accélérée sont les plus touchés par la tumeur osseuse. Les sujets présentant un taux d'hémoglobine bas sont moins touchés par la tumeur osseuse. Alors que les patients qui ont un Phosphatase alcaline (PHA) élevé, sont peu touchés par la tumeur osseuse.

1-11 Variation de la tumeur osseuse selon la thérapie :

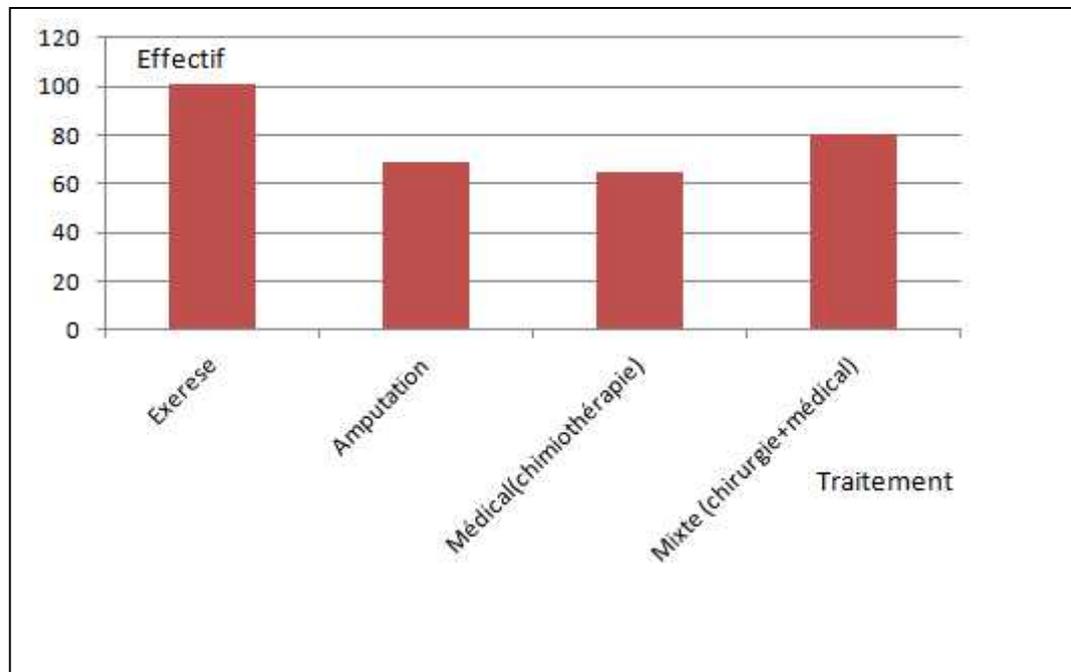


Figure 27 : Répartition des patients présentant une tumeur osseuse selon la thérapie.

Les personnes qui ont subi une exérèse sont plus touchées que les personnes qui ont subi une amputation ou une chimiothérapie.

Par ailleurs, les personnes qui ont subi un traitement mixte : chirurgie et médical sont plus touchées par la tumeur osseuse que celles qui ont subi une chimiothérapie ou une amputation.

1-12Variation de la tumeur osseuse selon les complications post-opératoire :

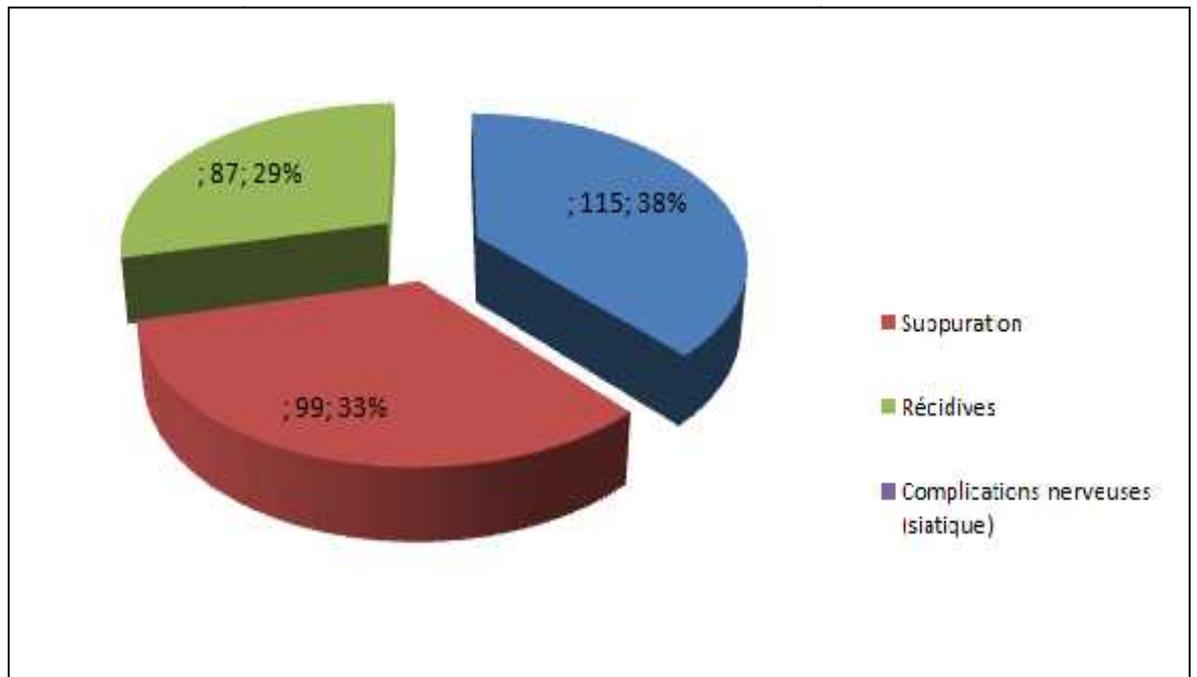


Figure 28 : Répartition des patients présentant une tumeur osseuse selon les complications post- opératoire.

La figure 28 montre que les gens qui ont subi une suppuration sont plus touchés que les personnes qui ont subi une récurrence. Les personnes qui ont des complications nerveuses² présentent un taux élevé de la tumeur osseuse mais ce taux reste inférieur par rapport aux personnes présentant les suppurations et récurrences.

²**Complications nerveuses** : Le nerf le plus souvent atteint est le nerf médian au niveau du canal carpien par contusion lors du traumatisme ou par compression due à l'hématome fracturaire. Cette complication est plus fréquente dans les fractures à déplacement antérieur.

1-13 Variation de la tumeur osseuse selon l'évolution post-thérapeutique :

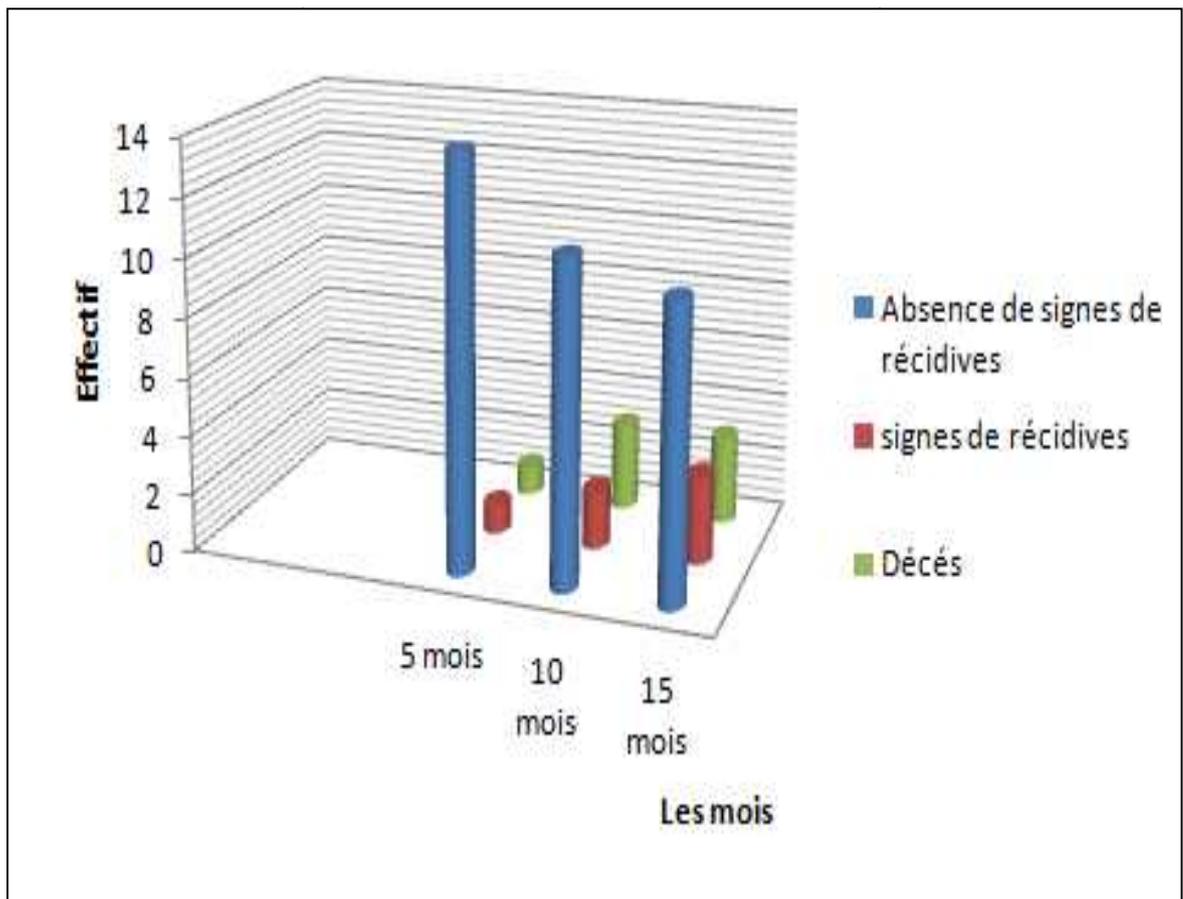


Figure 29 : Répartition des patients présentant une tumeur osseuse selon l'évolution post-thérapeutique.

Selon la figure 29, après 5 mois du traitement post-thérapeutique 14 patients au total de 16 patients ne représentent aucun signe de récurrences : un seul patient présente les signes de récurrence. Après 10 mois d'un traitement post-thérapeutique, sur 16 patients, 11 patients ne présentent aucun signe de récurrence, seul 2 patients présentent ces signes.

Après 15 mois, sur 16 patients, 10 personnes ne représentent aucun signe de récividité, ce taux de récividité s'est présent chez 3 patients dont 3 patients décédés.

1-14 Variation de la tumeur osseuse selon les métastases osseuses :

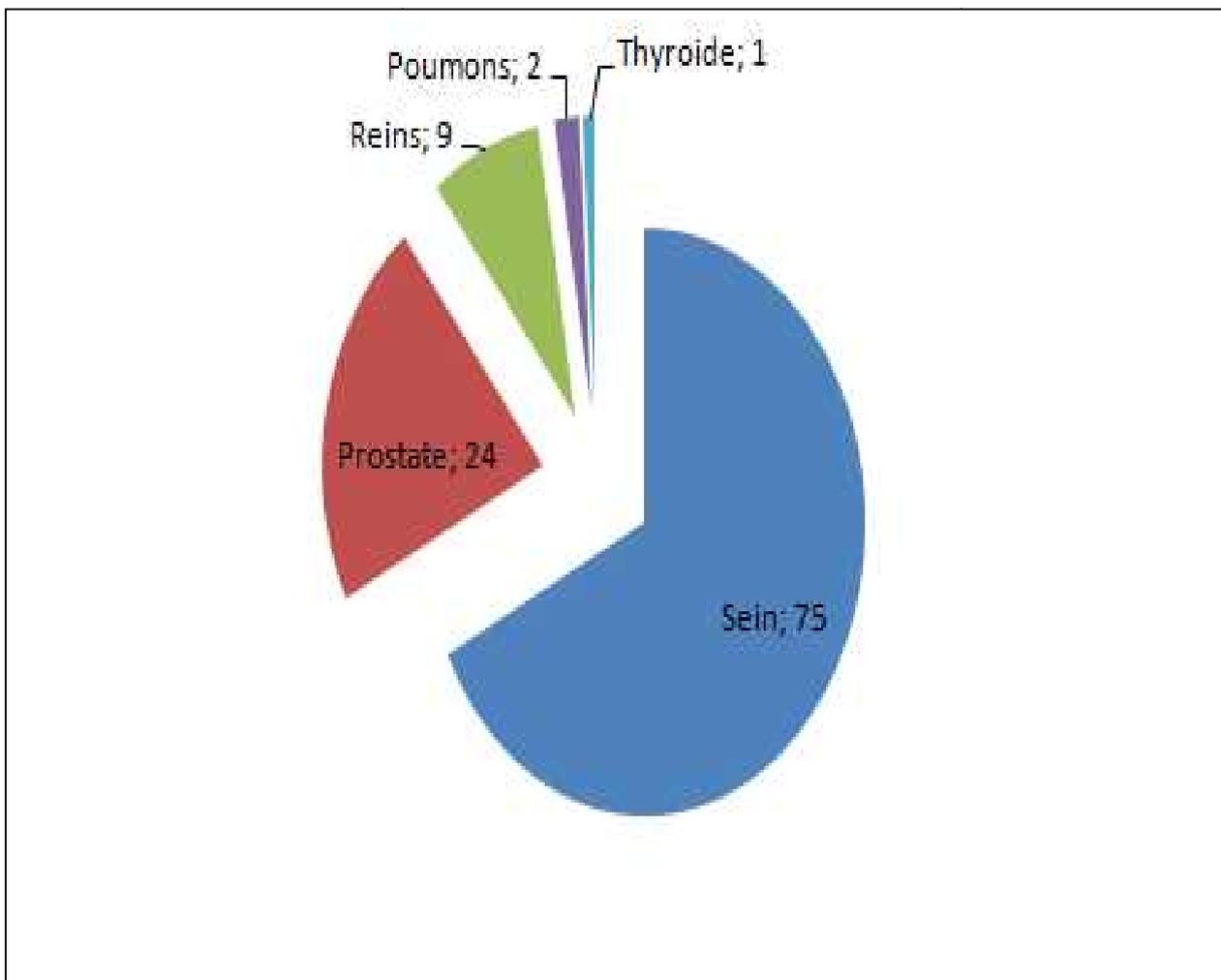


Figure 30 : Répartition des patients présentant une tumeur osseuse selon métastases osseuses.

Les femmes qui souffrent d'un cancer du sein ont une métastase osseuse. Les hommes qui ont un cancer de prostate présentent aussi une métastase osseuse mais elle est moins fréquente que celle présente chez les femmes.

Les gens qui ont un cancer des reins, des poumons et de la thyroïde n'ont pas un taux élevé de métastase osseuse.

*Résultats
prospectives*

2-Résultats prospectives :

Dans cette deuxième partie, nous visons à explorer les corrélations entre les différents biomarqueurs osseux de la formation PAO et P1NP, et de la résorption osseuse TRAP5b et CTX dosés chez les patients atteints des tumeurs osseuses : Ostéosarcome et Sarcome d'Ewing.

Les répartitions des patients sont résumées dans le tableau 6.

Tableau 6 : Répartition des patients et le groupe de contrôle

	Hommes		Femmes	
	Nombre	Moyenne âge	Nombre	Moyenne âge
Ostéosarcome	22	13,3±1,7 (range 5-20)	18	12,6±2,5 (range 4-19)
Sarcome d'Ewing	18	11,7±5,2 (range 4-19)	15	11,3±7,9 (range 3-18)
Contrôles	50	13,6±3,9 (range 3-20)	50	13,3±4,9 (range 3-20)

a-Dosage des biomarqueurs osseux:

-Dosage sérique de laTRAP5b :

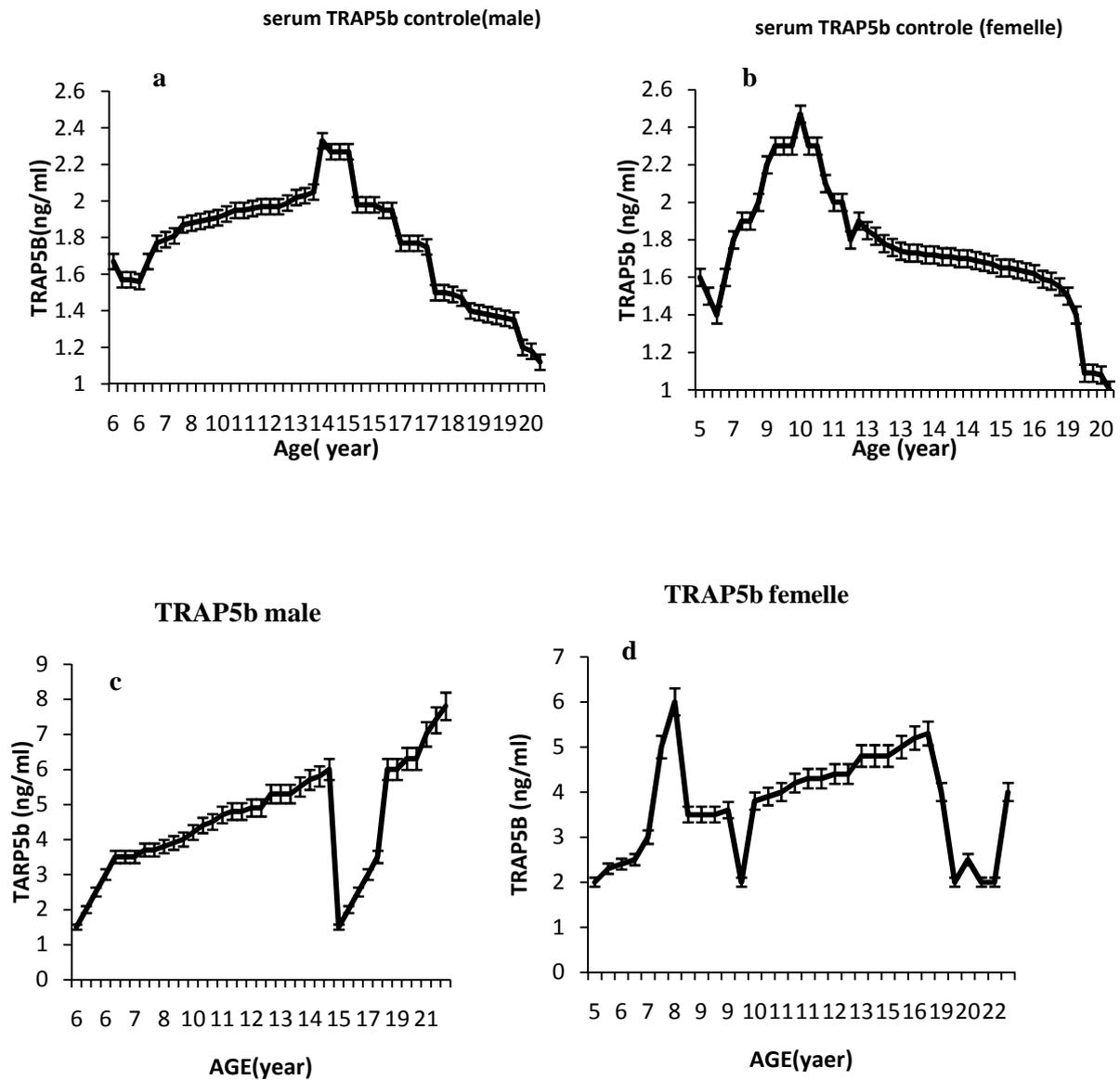


Figure 31 : Taux sérique de la TRAP5b en fonction d'âge.

Fig (31a, 31 b) chez le groupe de contrôle. Fig (31c, 31d) chez le groupe de patients.

Le taux sérique de la TRAP5b augmente chez les garçons atteint des tumeurs osseuses primaires (fig 31c), il atteint un pic à l'âge de 14 ans 6ng/ml, cette valeur est très élevée par rapport au groupe de contrôle où le pic au même âge est égale 2,4ng/ml. Il représente une autre diminution à 1ng/ml, puis il augmente et atteint 7ng/ml à l'âge de 21 ans contrairement au groupe de contrôle ; le taux de la TRAP5b diminue après le premier pic à l'âge de 14 ans et est égale à 12ng/ml à l'âge de 20 ans (fig 31a).

Chez les patientes, le taux sériques de la TRAP5b est constamment voisin de 2ng/ml à l'âge de 5 ans, et représente un pic à l'âge de 7 ans 6ng/ml, puis diminue à 3ng/ml rapidement au même âge ; il représente une autre diminution à l'âge de 10 ans et augmente pour atteindre un autre pic à l'âge de 16 ans 5ng/ml, puis il diminue et augmente à l'âge de 22 ans (fig 31d). Contrairement au groupe de contrôle, le taux sérique de la TRAP5b augmente et représente un seul pic à l'âge de 10 ans 2,5ng/ml puis diminue il atteint 1ng/ml à l'âge de 20 ans (fig 31b).

Les pics enregistrés de la concentration sérique de la TRAP5b sont précoces chez les filles par comparaison aux garçons qui sont tardifs.

-Dosage sérique de la PAO :

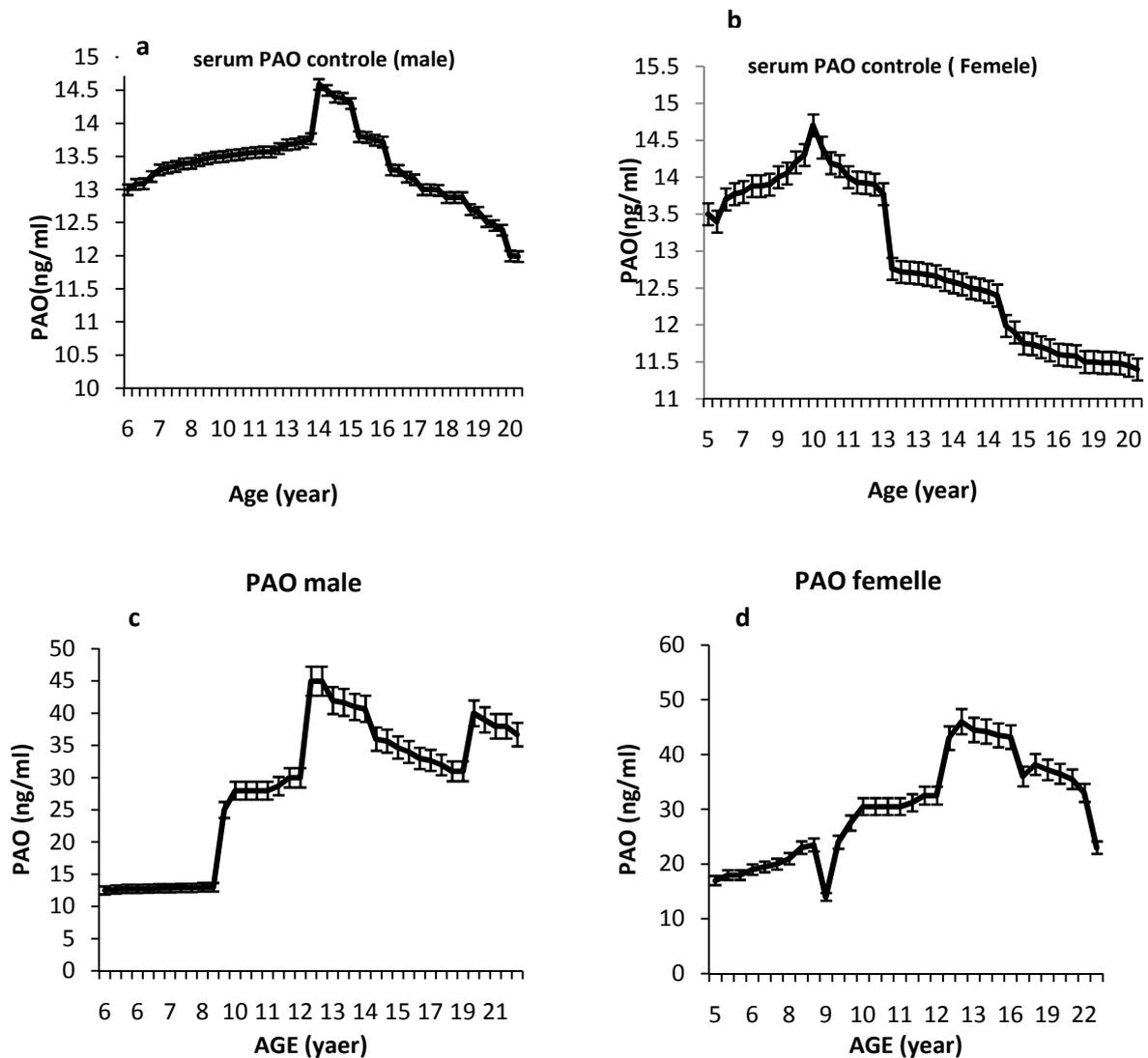


Figure 32 : Le taux sérique de la PAO en fonction d'âge chez les deux sexes.

Fig (32a, 32b) chez le groupe de contrôle. Fig (32c, 32d) chez le groupe de patients.

Le taux sérique de la PAO varie en fonction d'âge ; il est constant entre 6 ans et 8 ans chez les patients garçons au voisin de 12ng/ml, il augmente à 30ng/ml à l'âge de 10 ans ; il se stabilise à 30ng/ml jusqu'à 12 ans ensuite il atteint un pic à l'âge de 13 ans 45ng/ml ; on enregistre une autre diminution à 35ng/ml à l'âge de 17 ans puis augmente à 40ng/ml à 21 ans (fig 32c). Contrairement au groupe de contrôle garçons, le taux sérique de la PAO augmente et atteint un pic à l'âge de 14 ans 14,5ng/ml puis diminue au-delà de cet âge et atteint 12ng/ml (fig 32a).

Chez les patientes (fig 32d), le taux sérique de la PAO est constamment voisin à 20ng/ml entre 5 ans et 9 ans. Il représente un pic à l'âge de 9 ans 25ng/ml puis diminue ensuite et augmente à 30ng/ml et il se stabilise à cette concentration sérique entre 10 ans et 12 ans, ensuite il représente une autre augmentation à l'âge de 13 ans 45ng/ml, après il diminue à 20ng/ml à l'âge de 22 ans. Contrairement au groupe de contrôle fille, la concentration sérique de la PAO augmente et atteint un pic à l'âge de 10 ans 14,5ng/ml puis il diminue et atteint 11,5ng/ml à l'âge de 20 ans.

Le pic enregistré de la PAO est tardif chez les garçons du groupe de contrôle par rapport aux filles du groupe de contrôle ; chez les patients le pic est enregistré presque au même âge.

-Dosage sérique du CTX :

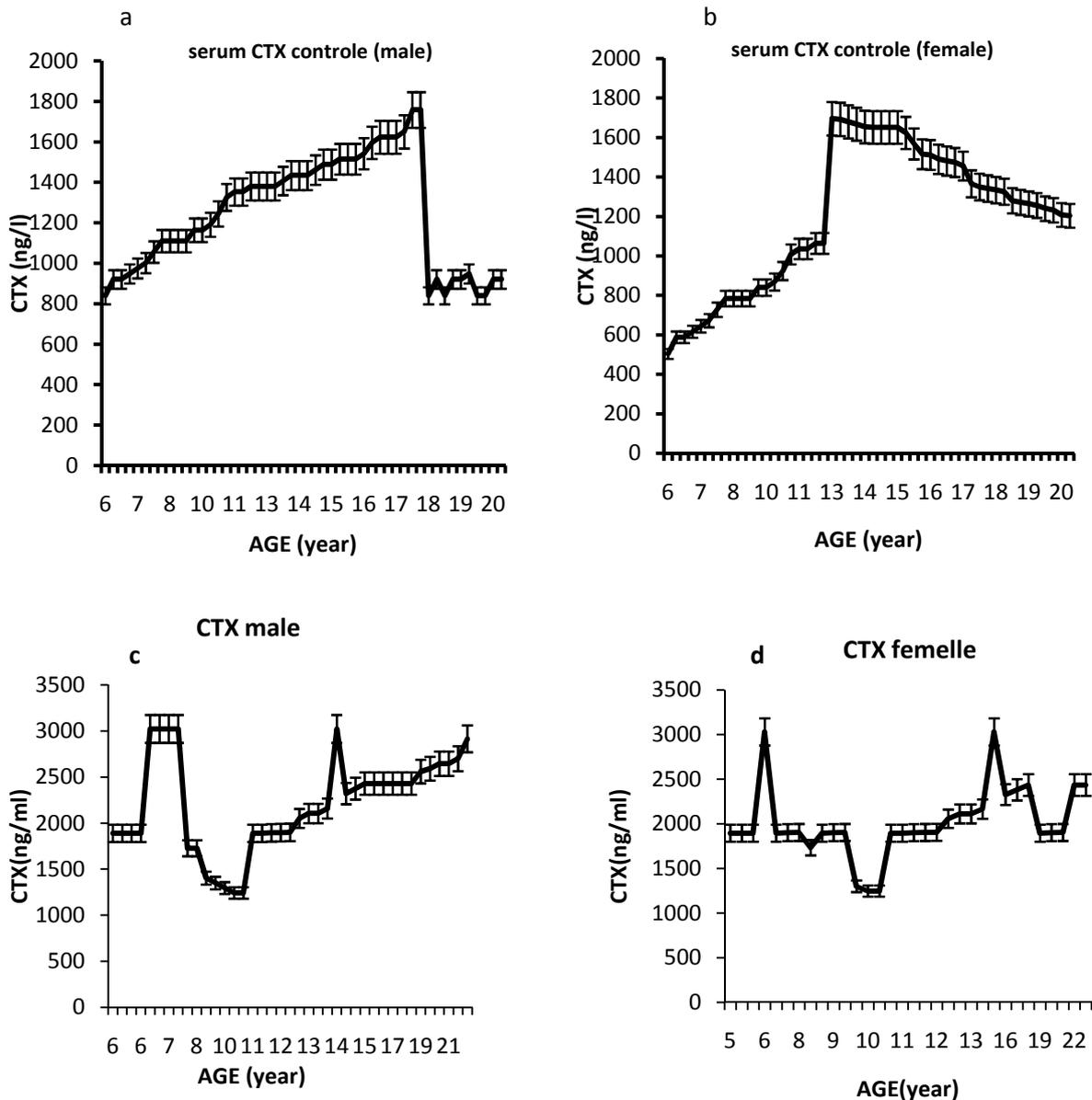


Figure 33 : Le taux sérique du CTX en fonction d'âge chez les deux sexes.

Fig (33a, 33 b) chez le groupe de contrôle. Fig (33c, 33d) chez le groupe de patients.

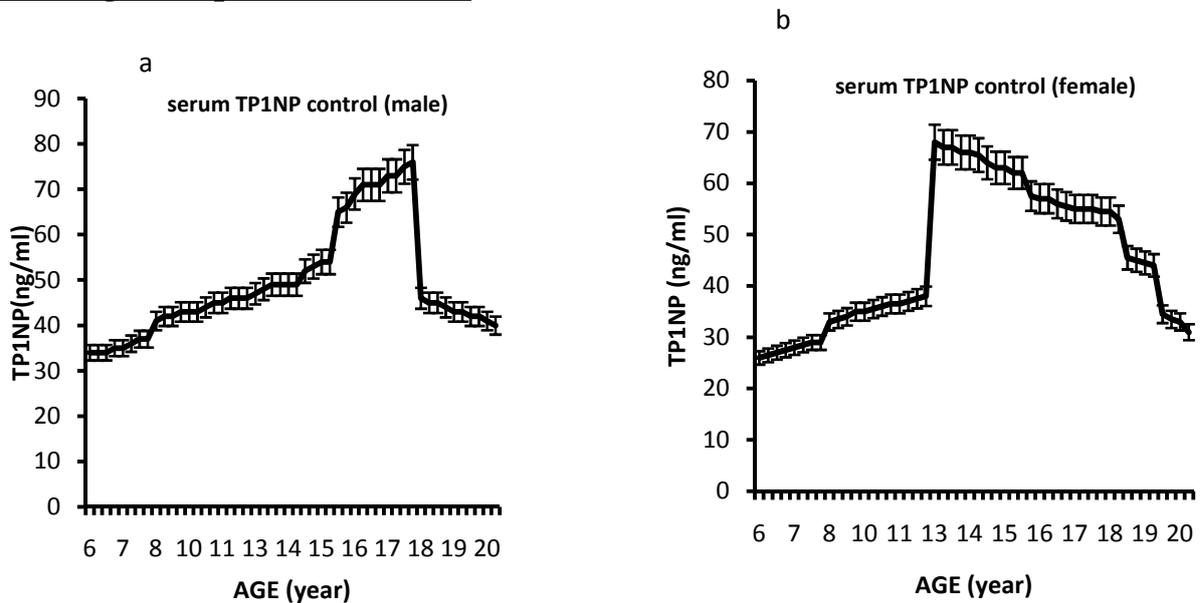
Le taux sérique de la CTX varie en fonction d'âge, chez les patients (fig 33c) ; on enregistre une augmentation de la concentration sérique du CTX à 3000ng/ml, puis elle se stabilise à cette valeur entre 6 ans et 8 ans, ensuite elle diminue constamment au voisin de 1200ng/ml, après elle augmente et représente un pic à l'âge de 14 ans 3000ng/ml puis diminue encore à 2300ng/ml, ensuite la concentration sérique du CTX augmente et atteint 2600ng/ml à

l'âge de 21 ans. Chez le groupe de contrôle, le taux sérique du CTX augmente et atteint un seul pic à l'âge de 17 ans 1700ng/ml, puis il diminue constamment au voisin de 800ng/ml.

Chez les patientes, la concentration sérique du CTX atteint deux pics : le premier pic est enregistré à l'âge de 6 ans 3000ng/ml et le deuxième pic à l'âge de 16 ans, contrairement aux filles du groupe de contrôle, le taux sérique atteint un pic à l'âge de 14 ans, ensuite il diminue à 1200ng/ml à l'âge de 20 ans.

Le taux sérique du CTX est atteint à un âge tardif par rapport au taux sérique de la TRAP5b et PAO chez le groupe de contrôle alors que chez les patients il atteint un pic précoce à l'enfance.

- Dosage sérique de la P1NP :



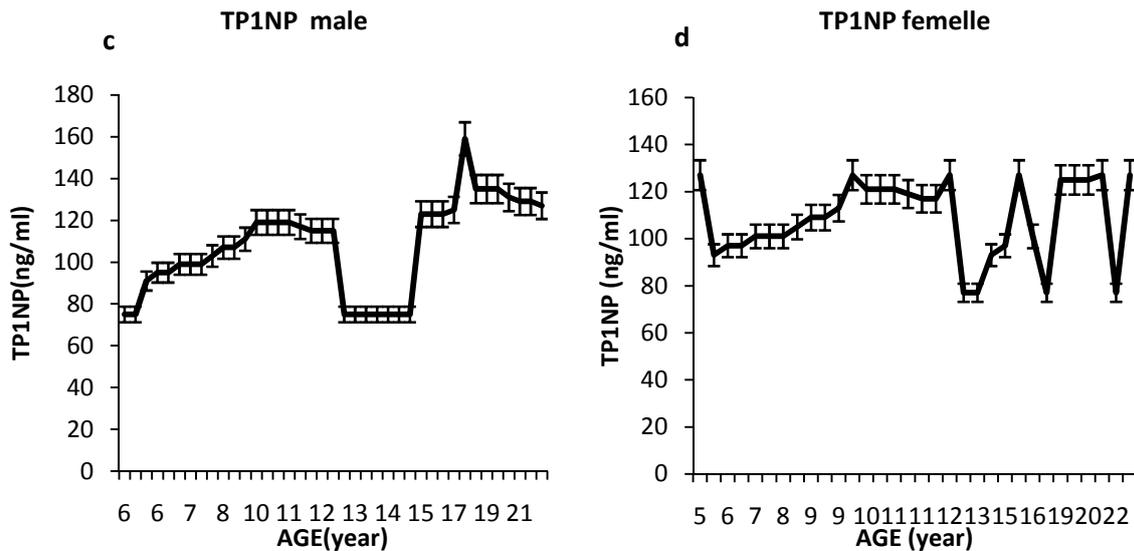


Figure 34 : Le taux sérique de la TP1NP chez les deux sexes

Fig (34a, 34b) chez le groupe de contrôle. Fig (34c, 34d) chez le groupe de patients.

Le taux sérique de la TP1NP varie en fonction d'âge. Chez les patients, la concentration sérique du P1NP augmente entre 6 ans et 12 ans puis diminue au voisin de 70ng/ml et stabilise à cette valeur entre 13 ans et 15 ans puis augmente et atteint un pic de concentration sérique du P1NP 160ng/ml à l'âge de 17 ans ; il représente une autre diminution à l'âge de 21 ans. Contrairement au groupe de contrôle, les garçons représentent un seul pic à l'âge de 17 ans où il est égal à 80ng/ml, puis diminue à 40ng/ml à l'âge de 20 ans. Chez les patientes, le taux sérique du P1NP est élevé constamment au voisin de 130ng/ml, il représente des diminutions à l'âge de 6 ans, 12 ans, 16 ans et 20 ans. Par comparaison au groupe de contrôle, les filles représentent un seul pic à l'âge de 13 ans et il est égale 70ng/ml puis diminue au-delà de cet âge à 30ng/ml.

Les pics atteints de TP1NP chez les patients sont élevés par rapport au groupe de contrôle.

b- Evaluation des biomarqueurs osseux dosés avant et après une chimiothérapie:

Afin de suivre les concentrations sériques des marqueurs biochimiques dosés chez les patients, nous avons évalué, le taux sérique avant et après la chimiothérapie et les corrélations entre les différents biomarqueurs osseux (PAO, P1NP, CTX et TRAP5b) avant et après un

traitement par chimiothérapie. Cette évaluation est évaluée par l'utilisation du test le test de Khi deux.

Les différents paramètres dosés chez les patients avant et après la chimiothérapie sont classés dans le tableau 7.

Tableau 7 : Paramètres biologiques des biomarqueurs osseux chez les patients atteints de l'ostéosarcome ou sarcome d'Ewing et le groupe de contrôle

pop mark	Patients avant chimiothérapie	Patient après chimiothérapie	Contrôle	p-valeur ^a
PAO	32.7 ± 28.7	27.7 ± 28.7	13.75.± 50.8	<0.05
Médiane PAO (ng/ml) ^b	26.1	24.7 ± 38.4	12.3.± 40.82	
P1NP (ng/ml)	90.9	82	42.5 ±509.4	<10 ⁻²
Médiane P1NP (ng/ml) ^c	87.6	81.6	46.6± 404.2	
TRAP5b (u/l)	2.78 ± 1.9	2.78 ± 1.98	1.48 ± 1.11	<0.05
Médiane TRAP5b (u/l) ^b	2.28	2.01	1.52± 2.12	
Serum Cross Laps (pg/ml)	2870 ± 126.4	2760± 336.8	1143 ± 255.5	<0.05
Médiane serum Cross Laps (pg/ml) ^b	2868.5	2760± 136.8	1242.4± 375.5	

- a. Mann Whitney test
- b. Médiane (25th through 75 th percentile)
- c. Procollagène de type 1 N- terminal propeptide.

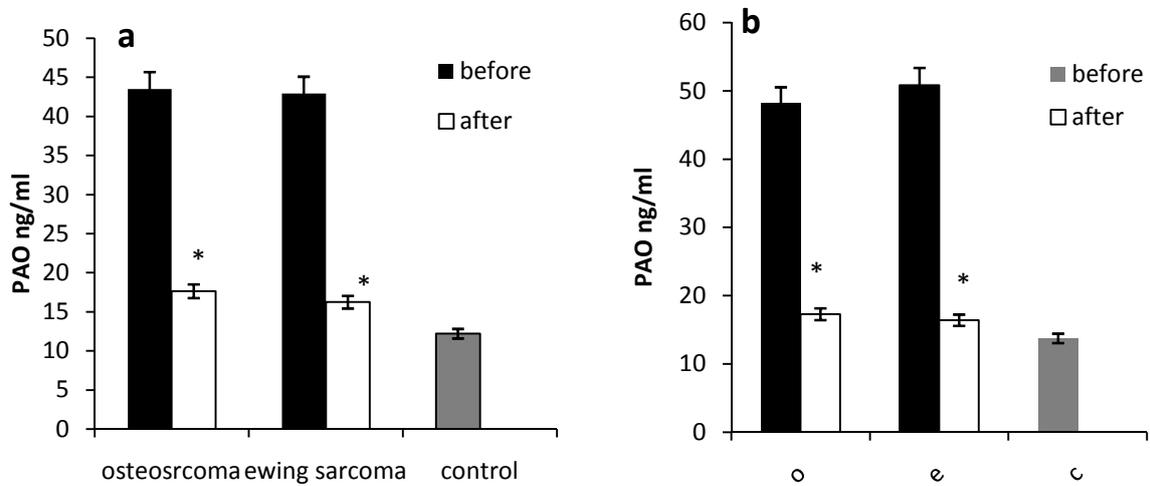


Figure 35 : PAO sérique chez les patients avant et après une chimiothérapie chez les hommes (a) et les femmes (b). (Les valeurs sont représentées par moyenne \pm SD (N=73)).

D'après le test de chi 2 qui était utilisé pour établir une discrimination statistique entre les tumeurs osseuses avant et après une chimiothérapie ($p < 0,05$), on note une diminution du taux sérique de la PAO après une chimiothérapie chez les deux sexes. La diminution est concomitante dans l'ostéosarcome et le sarcome d'Ewing pour les deux sexes.

Le taux sérique de la PAO est 43,51ng/ml avant la chimiothérapie diminue après la chimiothérapie à 17,64ng/ml chez l'homme et aussi chez les femmes qui était 48,14ng/ml avant la chimiothérapie puis diminue jusqu'à 17,29ng/ml après la chimiothérapie chez les patients atteints d'ostéosarcome. Chez les sujets atteints du sarcome d'Ewing, le taux sérique de la PAO est 42,94ng/ml avant une chimiothérapie chez les hommes puis diminue après une chimiothérapie à 16,24ng/ml. De même chez les femmes, le taux sérique de la PAO est de 50,84ng/ml avant la chimiothérapie et 16,42ng/ml après la chimiothérapie.

La diminution de la concentration sérique de la PAO diminue dans les deux types des sarcomes après une chimiothérapie mais cette diminution n'atteint pas la concentration sérique de la PAO chez le groupe de contrôle.

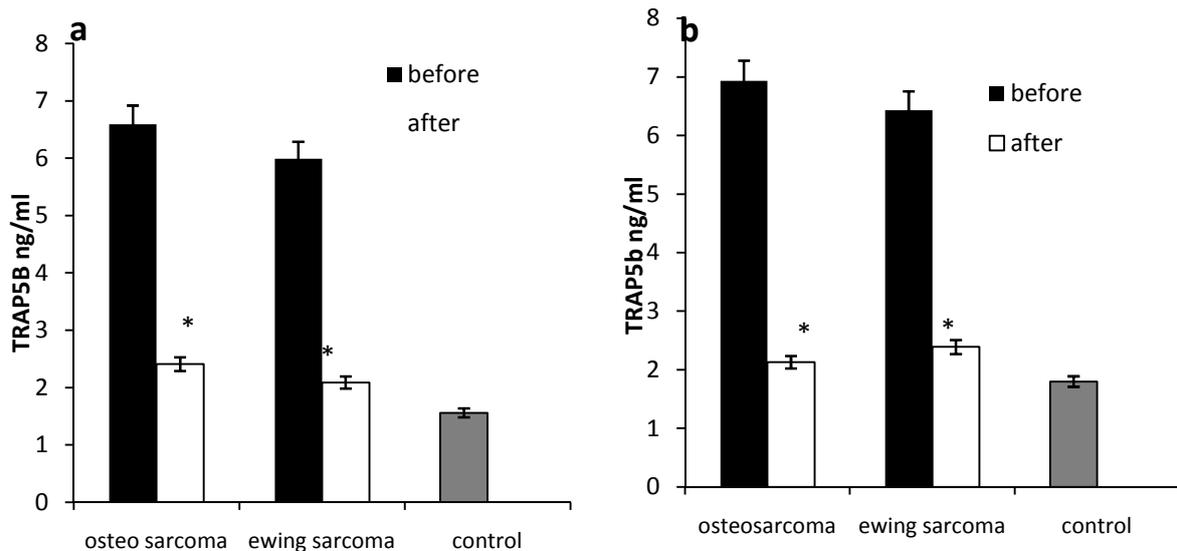


Figure 36 : TRAP5b sérique Chez les patients avant et après une chimiothérapie chez les hommes (a) et les femmes (b).

D'après le test de chi 2 qui était utilisé pour établir une discrimination statistique entre les tumeurs osseuses avant et après une chimiothérapie ($p < 0,05$) et ($0,352 < r < 0,903$), on note une diminution sérique de la TRAP5b après une chimiothérapie pour les deux sexes et les deux types de la tumeur osseuse ostéosarcome et le sarcome d'Ewing.

Le taux sérique de la TRAP5b chez les sujets atteints de l'ostéosarcome était égal à 6,59ng/ml avant la chimiothérapie et il égale à 2,41 ng/ml après une chimiothérapie chez l'homme. Cette notation est la même pour les femmes, le taux sérique de la TRAP5b diminue de 6,93ng/ml à 2,13ng/ml après une chimiothérapie.

Chez les sujets atteints du sarcome d'Ewing, le taux sérique de la TRAP5b avant une chimiothérapie est égale à 5,99ng/ml chez l'homme et il diminue à 2,09ng/ml. Cette diminution est de même chez les femmes aussi, le taux sérique de la TRAP5b avant une chimiothérapie est de 6,43ng/ml et de 2,39ng/ml après la chimiothérapie.

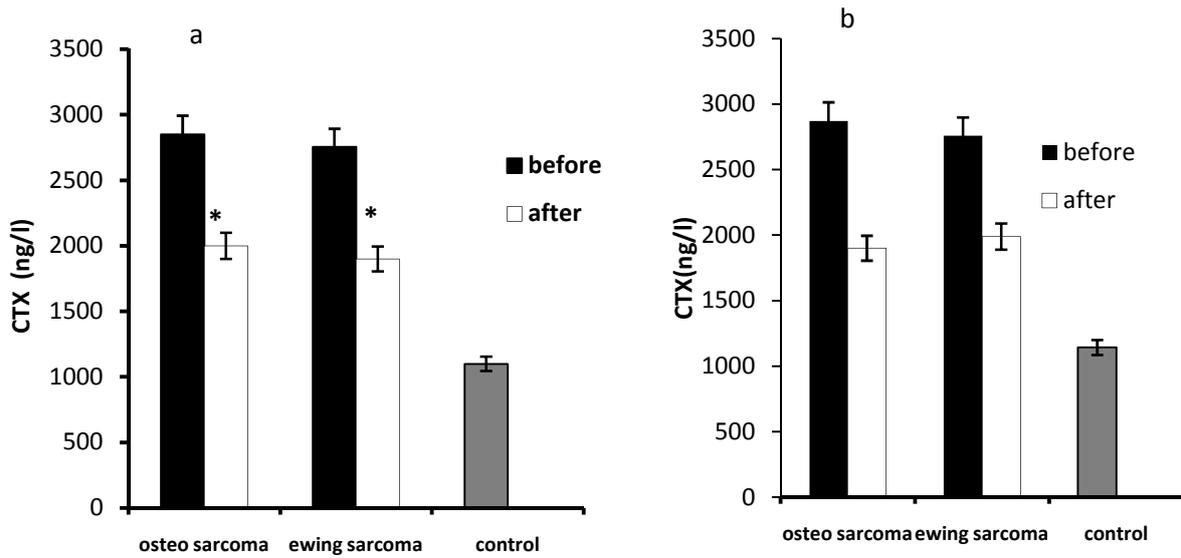


Figure 37 : CTX sérique Chez les patients avant et après une chimiothérapie chez les hommes (a) et les femmes (b).

D'après le test de chi 2 qui était utilisé pour établir une discrimination statistique entre les tumeurs osseuses avant et après une chimiothérapie ($p < 0,05$), on note une diminution du taux sérique du CTX après une chimiothérapie chez les deux sexes. La diminution est concomitante dans l'ostéosarcome et le sarcome d'Ewing pour les deux sexes.

Le taux sérique du CTX est 2800ng/ml avant la chimiothérapie diminue après la chimiothérapie à 2000ng/ml chez l'homme et aussi chez les femmes qui était 2800ng/ml avant la chimiothérapie puis il diminue jusqu'à 1900ng/ml après la chimiothérapie chez les patients atteints d'ostéosarcome. Chez les sujets atteints du sarcome d'Ewing, le taux sérique du CTX est de 2700ng/ml avant une chimiothérapie chez les hommes puis diminue après une chimiothérapie à 1900ng/ml. De même chez les femmes, le taux sérique du CTX est de 2700ng/ml avant la chimiothérapie et de 2100ng/ml après la chimiothérapie.

La diminution de la concentration sérique du CTX qui diminue dans les deux types des sarcomes après une chimiothérapie, n'est pas précisément égale au groupe de contrôle,

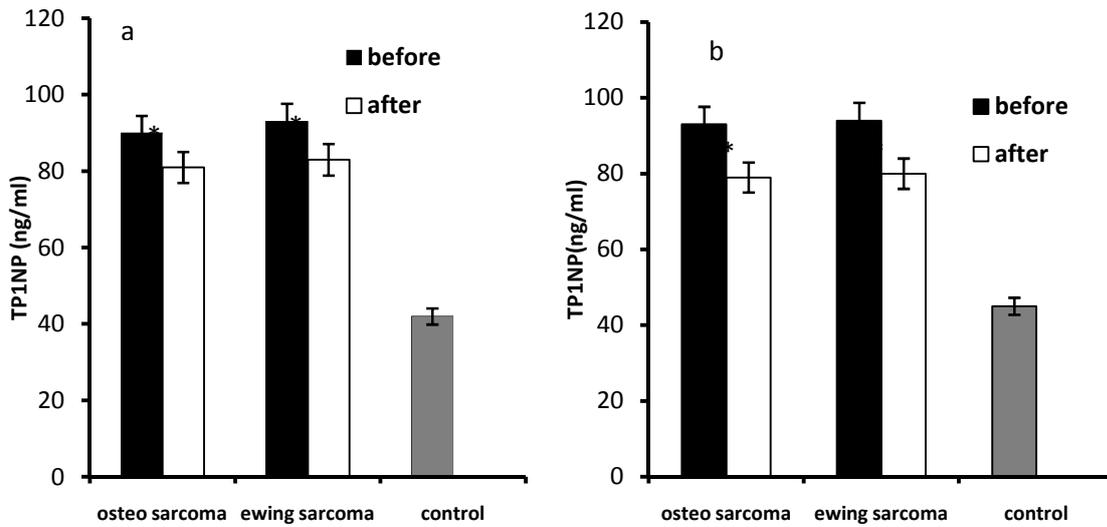


Figure 38: TP1NP sérique Chez les patients avant et après une chimiothérapie chez les hommes (a) et les femmes (b).

D'après le test de chi 2 qui était utilisé pour établir une discrimination statistique entre les tumeurs osseuses avant et après une chimiothérapie ($p < 0,05$), on note une diminution du taux sérique du TP1NP après une chimiothérapie pour les deux sexes. La diminution est concomitante dans l'ostéosarcome et le sarcome d'Ewing pour les deux sexes.

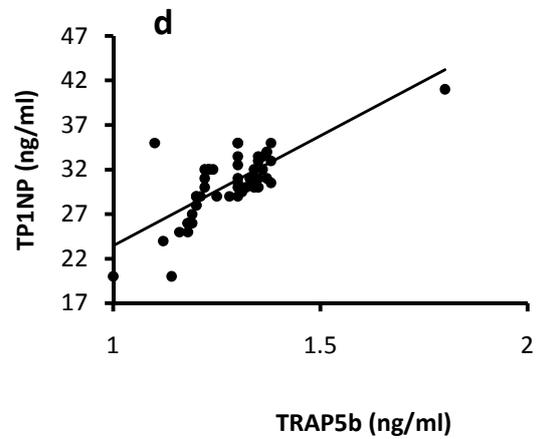
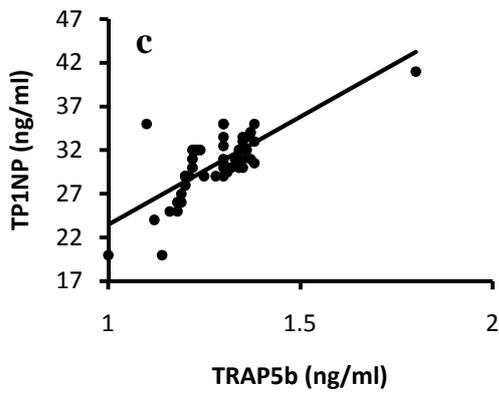
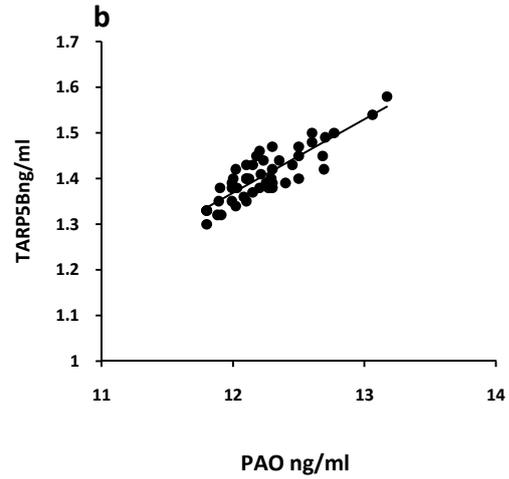
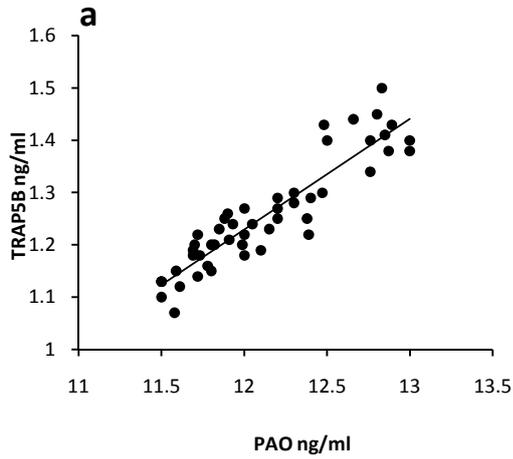
Le taux sérique du TP1NP est 2800ng/ml avant la chimiothérapie et diminue après la chimiothérapie à 98ng/ml chez l'homme et aussi chez les femmes qui était 99ng/ml avant la chimiothérapie puis il diminue jusqu'à 80ng/ml après la chimiothérapie chez les patients atteints d'ostéosarcome. Chez les sujets atteints du sarcome d'Ewing, le taux sérique du TP1NP est de 99ng/ml avant une chimiothérapie chez les hommes puis diminue après une chimiothérapie à 82ng/ml. De même chez les femmes, le taux sérique du TP1NP est de 99ng/ml avant la chimiothérapie et de 80ng/ml après la chimiothérapie.

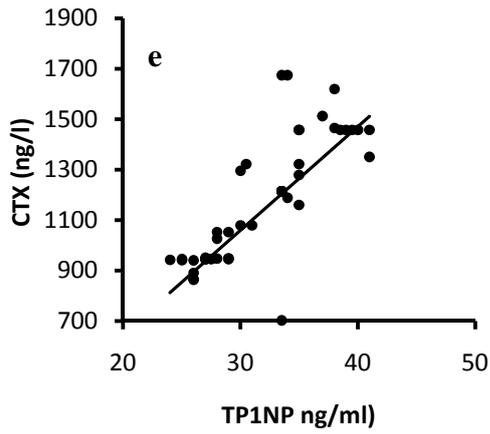
La diminution de la concentration sérique du TP1NP, qui diminue dans les deux types des sarcomes après une chimiothérapie, n'est pas précisément égale au groupe de contrôle,

c-Corrélations entre les différents biomarqueurs osseux :

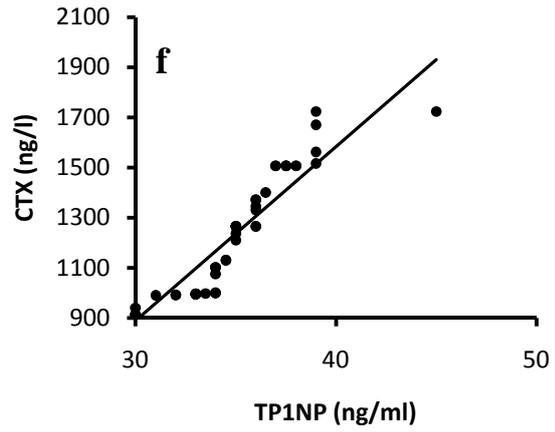
Afin d'avoir les liens entre les biomarqueurs osseux, on a utilisé le test de Spearman.

- **Chez le groupe de contrôle :**

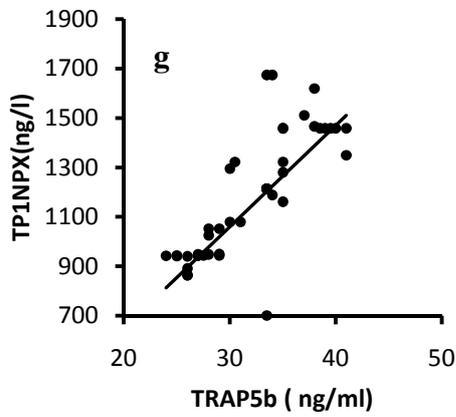




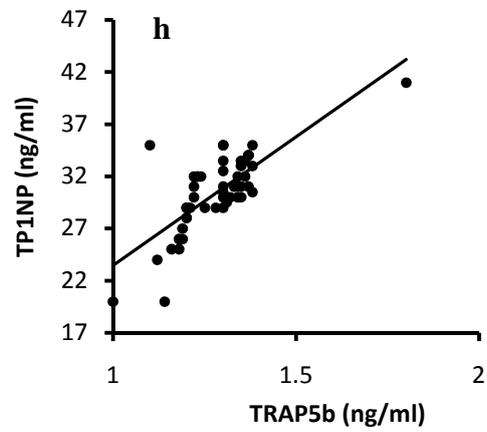
$r=0,29$ $p=0,009$



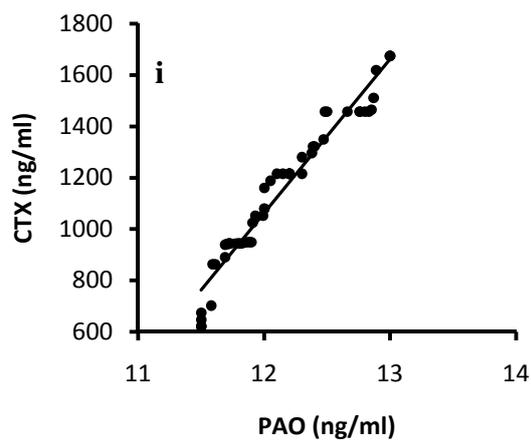
$r=0,35$ $p=0,065$



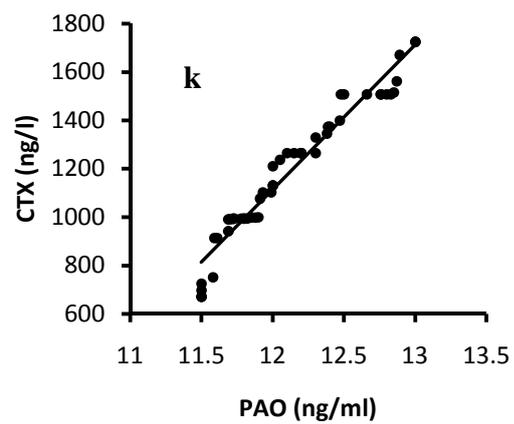
$r=0,17$ $p=0,0083$



$r=0,79$ $p=0,0025$



$r=0,27$ $p=0,0033$



$r=0,71$ $p=0,005$

Figure 39 : Corrélation entre les biomarqueurs osseux dosés chez le groupe de contrôle

Fig (a,c,e,g,i) les corrélations entre les biomarqueurs osseux chez les garçons. Fig(b,d,f,k) les corrélations entre les biomarqueurs osseux chez les filles.

Le test de Spearman a permis d'avoir une corrélation entre les deux variables quantitatives, il existe toujours une forte corrélation chez le groupe de contrôle entre (TRAP5b/ PAO), (TRAP5b/ TPNP), (CTX/TP1NP), (TP1NP/TRAP5b) et (CTX/PAO) et pour les deux sexes. Le coefficient de détermination des variables est expliqué par une régression linéaire.

• Corrélation chez les patients :

➤ Chez les patients atteints d'ostéosarcome :

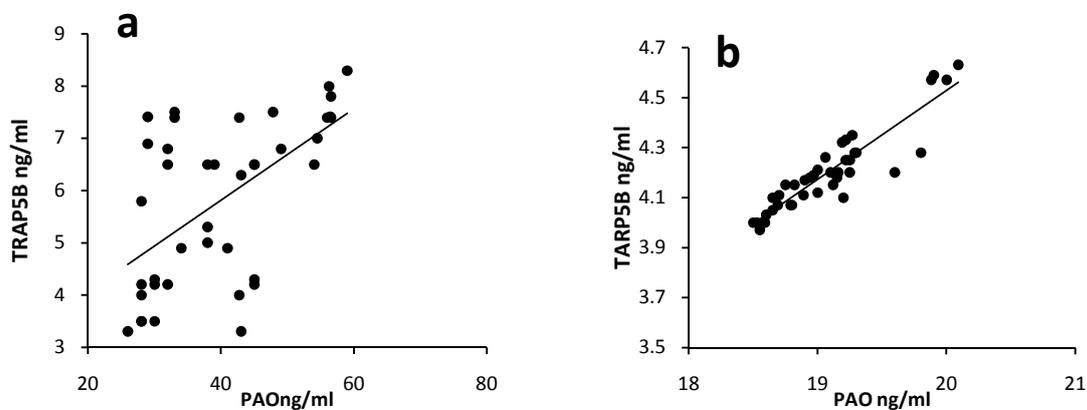


Figure 40 : Corrélation entre le taux sérique de la TRAP5b et PAO chez les patients atteints d'ostéosarcome avant et après une chimiothérapie

a-avant chimiothérapie

b-après chimiothérapie

Il n'existe aucune corrélation entre le taux sérique de la TRAP5b et PAO chez les patients atteints d'ostéosarcome avant le traitement par une chimiothérapie ($r=0,87$ $p=0,21$) ; mais il existe une corrélation entre taux sérique de la TRAP5b et PAO après une chimiothérapie. Le test de Spearman utilisé permet d'avoir une corrélation positive entre les deux variables étudiées, TRAP5b et PAO. Le coefficient de détermination du pourcentage de variable est expliqué par une régression linéaire. La corrélation entre les deux TRAP5b et PAO chez le groupe de patient après une chimiothérapie est ($r=0,89$ $p=0,001$).

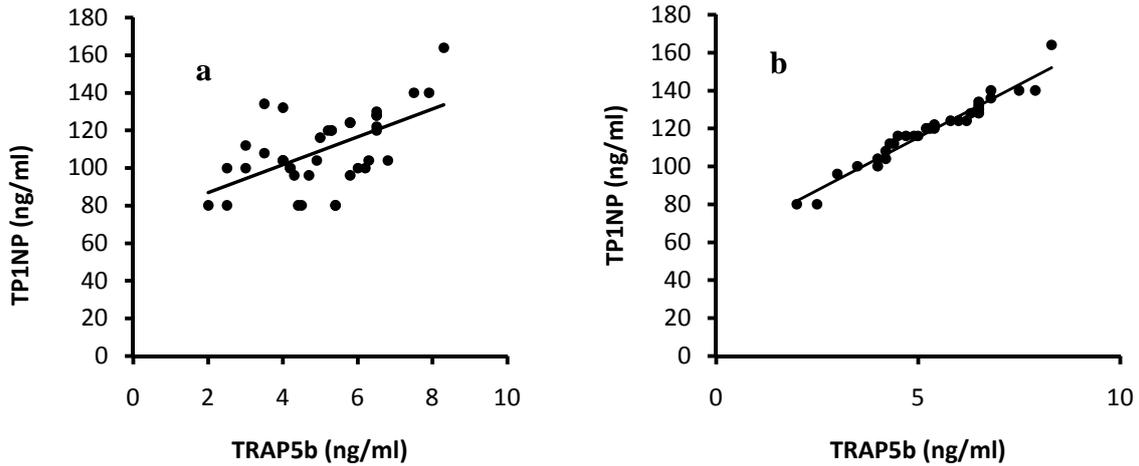


Figure 41 : Corrélation entre le taux sérique de la TRAP5b et TP1NP chez les patients atteints d'ostéosarcome avant et après une chimiothérapie

a-avant chimiothérapie

b-après chimiothérapie

Il n'existe aucune corrélation entre TRAP5b et TP1NP ($r=0,47$ $p=0,31$) chez les patients atteints d'ostéosarcome avant une chimiothérapie mais il existe une forte corrélation chez les patients après un traitement de chimiothérapie entre le taux sérique de la TRAP5b et TP1NP ($r=0,8$ $p=0,0021$).

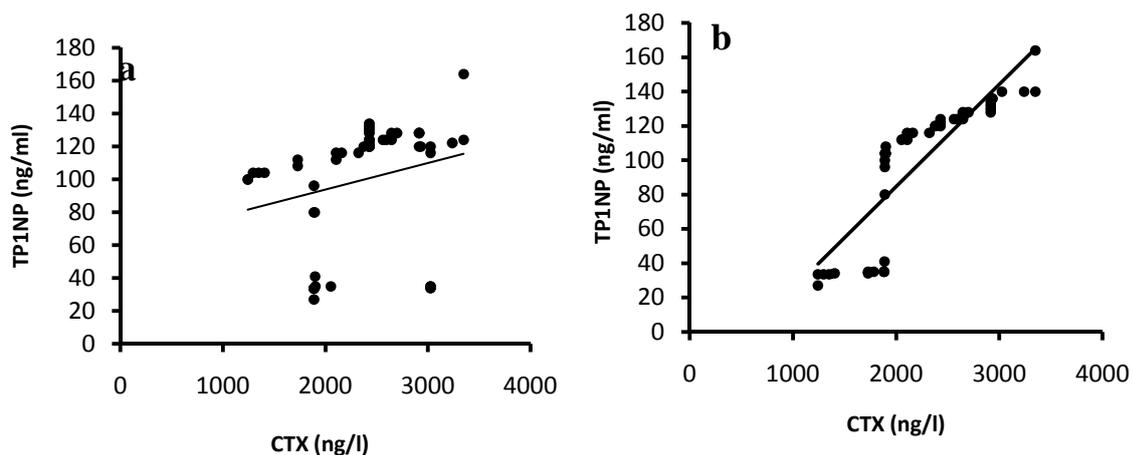


Figure 42 : Corrélation entre le taux sérique du CTX et TP1NP chez les patients atteints d'ostéosarcome avant et après une chimiothérapie a-avant chimiothérapie b-après chimiothérapie

Chez les patients atteints d'ostéosarcome, il n'existe aucune corrélation entre le taux sérique de la TP1NP et CTX chez les patients avant une chimiothérapie ($r=0,48$ $p=0,73$), mais il existe une forte corrélation entre ces deux biomarqueurs osseux dosés après une chimiothérapie ($r=0,39$ $p=0,0072$).

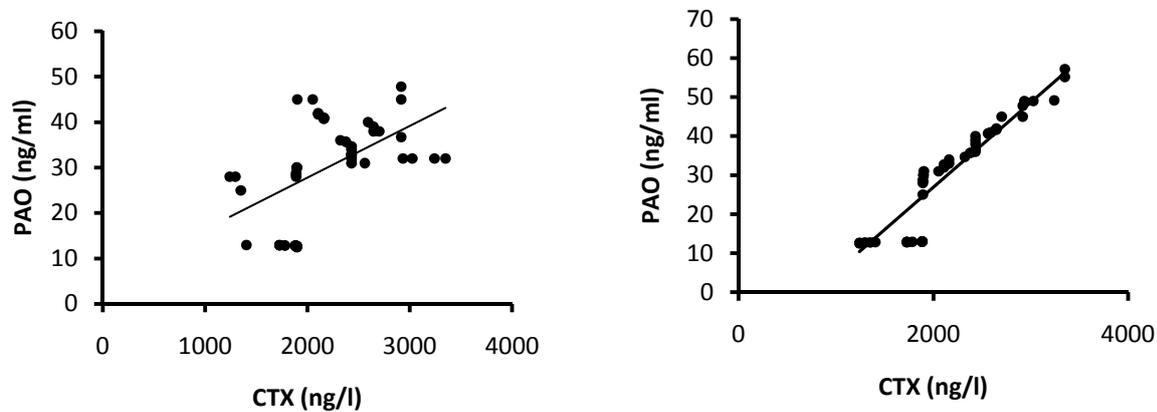


Figure 43 : Corrélation entre le taux sérique du CTX et PAO chez les patients atteints d'ostéosarcome avant et après une chimiothérapie

a-avant chimiothérapie

b-après chimiothérapie

Il n'existe aucune corrélation entre le taux sérique de la PAO et CTX chez les patients avant une chimiothérapie ($r=0,67$ $p=0,06$) mais il existe une forte corrélation entre ces deux biomarqueurs osseux après une chimiothérapie qui est présentée par une régression linéaire ($r=0,91$ $p=0,001$).

➤ **Chez les patients atteints du sarcome d'Ewing :**

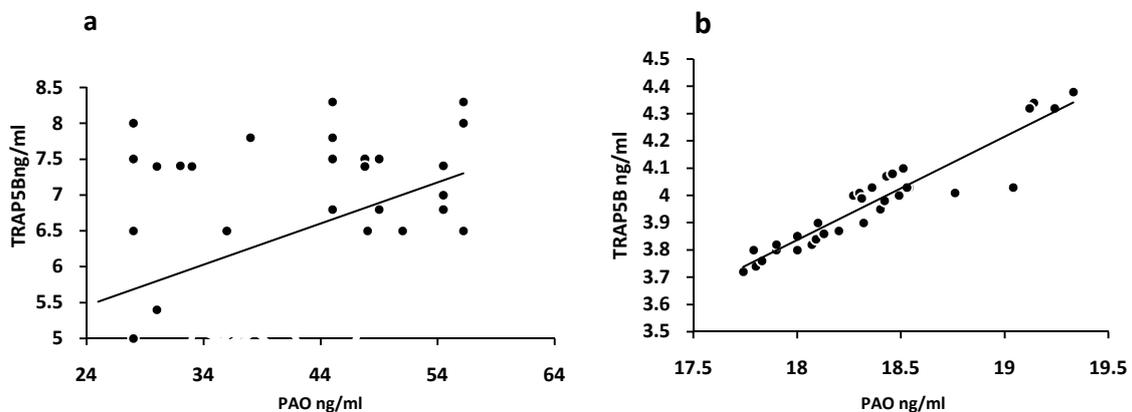


Figure 44 : Corrélation entre le taux sérique de la TRAP5b et PAO chez les patients atteints du sarcome d'Ewing avant et après une chimiothérapie

a- Avant la chimiothérapie

Il n'existe aucune corrélation chez les patients atteints du sarcome d'Ewing entre la TRAP5b et PAO avant le traitement de chimiothérapie néo-adjuvante ($r=0,28$ $p=0,071$), mais on enregistre une forte corrélation entre le taux sérique de la TRAP5b et PAO après la chimiothérapie néo-adjuvante ($r=0,651$ $p=0,006$).

b-après une chimiothérapie

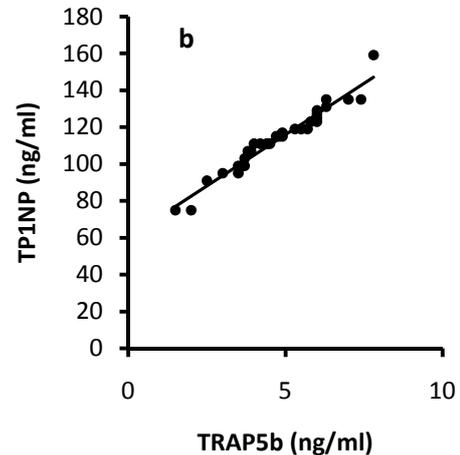
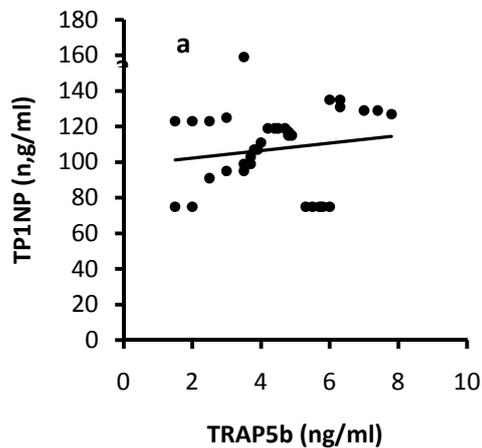


Figure 45 : Corrélation entre le taux sérique de la TRAP5b et TP1NP chez les patients atteints du sarcome d'Ewing avant et après une chimiothérapie

a-Avant la chimiothérapie

Il n'existe aucune corrélation entre la TRAP5b et TP1NP chez les patients atteints du sarcome d'Ewing avant un traitement par une chimiothérapie ($r=0,89$ $p=0,86$), mais il existe une forte corrélation entre le taux sérique de la TRAP5b et TP1NP après une chimiothérapie néo-adjuvante. Il existe un lien positif entre la TRAP5b et TP1NP ($r=0,521$ $p=0,0138$).

b-après une chimiothérapie

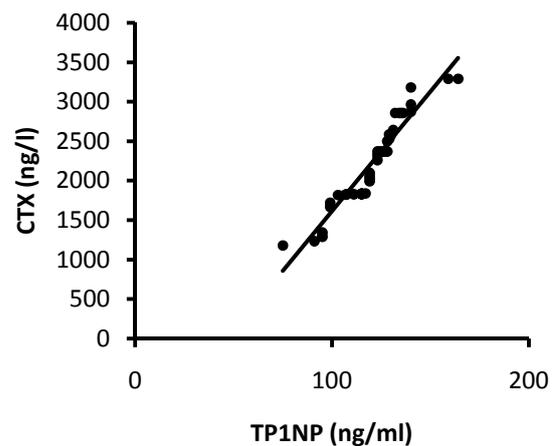
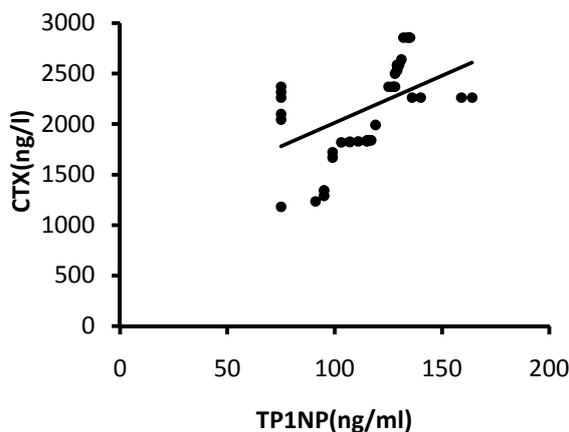


Figure 46 : Corrélation entre le taux sérique de la TP1NP et CTX chez les patients atteints du sarcome d'Ewing avant et après une chimiothérapie

a-Avant la chimiothérapie

b-après une chimiothérapie

Il n'existe aucune corrélation entre les concentrations sériques de la TP1NP et du CTX chez les patients atteints du sarcome d'Ewing avant la chimiothérapie néo-adjuvante ($r = 0,77$ $p = 0,4$). On note bien une corrélation entre ces deux biomarqueurs osseux après un traitement de chimiothérapie. Le test de Spearman utilisé montre un lien entre les deux variables quantitatives CTX et TP1NP après le traitement. Le coefficient de détermination et le pourcentage de la variance est expliqué par une régression linéaire ($r=0,71$ $p=0,005$).

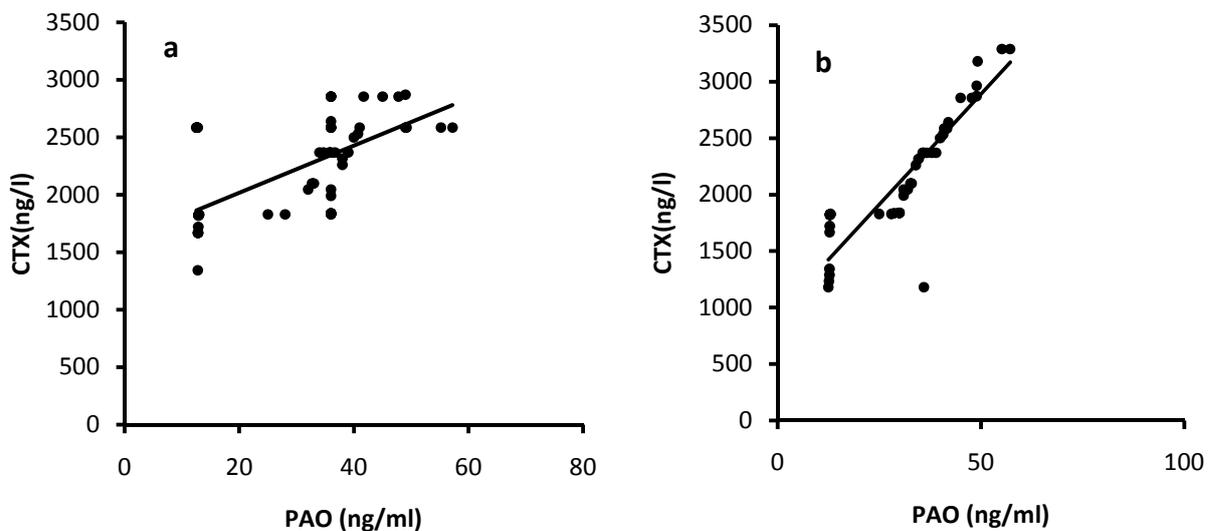


Figure 47 : Corrélation entre le taux sérique de la PAO et CTX chez les patients atteints du sarcome d'Ewing avant et après une chimiothérapie

a-Avant la chimiothérapie

b-après une chimiothérapie

Il n'existe aucune corrélation entre le taux sérique de la PAO et du CTX chez les patients atteints du sarcome d'Ewing avant la chimiothérapie ($r = 0,92$ $p = 0,48$), contrairement après la chimiothérapie, on observe une forte corrélation. Le test de Spearman a permis d'avoir une corrélation entre les deux variables quantitatives PAO et CTX qui est expliquée par la régression linéaire chez les patients après chimiothérapie $r = 0,48$ $p = 0,0072$.

Tableau 8 : Comparaison des biomarqueurs osseux chez les patients (valeur seuil : $p < 0,05$; test de Mann & Whithney chez les patients atteints d'ostéosarcome (avant et après une chimiothérapie)

	PAO			TP1NP			TRAP5b			Crosslaps		
Groupe	Patients		Contrôle	Patients		Contrôle	Patients		Contrôle	Patients		Contrôle
	Avant chimiothérapie	Après chimiothérapie		Avant chimiothérapie	Après chimiothérapie		Avant chimiothérapie	Après chimiothérapie		Avant chimiothérapie	Après chimiothérapie	
Nombre	40	40	100	40	40	100	40	40	100	40	40	100
Moyenne	32.7 ± 28.7	27.7 ± 28.7	13.75 ± 50.8	90.9	82	42.5 ± 509.4	2.78 ± 1.9	2.78 ± 1.98	1.48 ± 1.11	2870 ± 126.4	2760 ± 336.8	1143 ± 255.5
Ecart-Type	1.52	0.50	0.2	35.40	31.37	29.78	1.2	0.17	0.14	325.62	236.86	195.77
Médiane	26.1	24.7 ± 38.4	12.3 ± 40.82	87.6	81.6	46.6 ± 404.2	2.28	2.01	1.52 ± 2.12	2868.5	2760 ± 136.8	1242.4 ± 375.5
Quartile 25%	20.22	17.74	13.08	53.7	46.27	11.26	4.75	3.96	1.02	1024	945.78	76.99
p <	0.05			0.05			0.05			0.05		
Différenciation significative ?	oui			oui			oui			oui		

On retrouve une différence statistiquement significative entre les patients et le groupe de contrôle (moyenne : $32,7 \pm 28,7$ groupe de patients vs $13,75 \pm 50,8$ groupe de contrôle dans les concentrations sériques de la PAO, ainsi que pour les autres biomarqueurs osseux dosés.

D'autre part, on retrouve également une différenciation statistiquement significative avant et après un traitement basé sur la chimiothérapie chez les patients atteints d'ostéosarcome.

Tableau 9 : Comparaison des biomarqueurs osseux chez les patients (valeur seuil : $p < 0,05$; test de Mann &Whitney chez les patients atteints du sarcome d'Ewing (avant et après une chimiothérapie)

Résultats	PAO			TP1NP			TRAP5b			Crosslaps		
Groupe	Patients		Contrôle	Patients		Contrôle	Patients		Contrôle	Patients		Contrôle
	Avant chimiothérapie	Après chimiothérapie		Avant chimiothérapie	Après chimiothérapie		Avant chimiothérapie	Après chimiothérapie		Avant chimiothérapie	Après chimiothérapie	
Nombre	33	33	100	33	33	100	33	33	100	33	33	100
Moyenne	32.7 ± 389.7	29.7 ± 8.7	13.75±50.8	88.7±14	84±223	42.5±509.4	2.08 ± 0.9	1.98 ± 1.98	1.48 ±1,11	2670 ± 166.4	2456± 366.8	1143 ±255.5
Ecart-Type	1.52	0.50	0.2	35.40	31.37	29.78	1.2	0.17	0.14	325.62	236.86	195.77
Médiane	28.31± 214	26.7 ± 8.4	12.3.±40.82	89.3± 547	84.8±104	46.6±404.2	2.53 ±50	2.2 ±101	1.52±2.12	2868.54±57	2950± 186.8	1242.4± 375.5
Quartile 25%	21.2	16.84	13.08	57.6	47.37	11.26	5.05	4.26	1.02	1104	985.35	76.99
p <	0.05			0.05			0.05			0.05		

On retrouve une différence statistiquement significative entre les patients et le groupe de contrôle (moyenne : 2670 ± 166.4 groupe de patients vs 1143 ± 255.5 groupe de contrôle dans les concentrations sériques du CTX, ainsi que pour les autres biomarqueurs osseux dosés.

D'autre part, on retrouve également une différenciation statistiquement significative avant et après un traitement basé sur la chimiothérapie chez les patients atteints d'ostéosarcome.

➤ **Etude d'un cas particulier : 17 patients et 17 témoins**

Les patients sont : des femmes âgés entre 32 ± 13 ans, des hommes de 27 ± 10 ans. 12% post ménopausées où 12% sont pré ménopausées, 53% parmi eux ont subi un traitement de chimiothérapie. La population de notre étude est pour 47% patients atteints d'une tumeur osseuse, pour 50% atteints d'ostéosarcome et pour 38% atteints sarcome d'Ewing et pour 12% du chondrosarcome. Le nombre est relativement bas à cause de la rareté de cette maladie (Tableau 10).

Tableau 10 : Répartition des malades et la localisation des tumeurs.

Pop	Desc	patients	Médiane âge±SD	
	Ostéosarcome	8	MALE femelle	27 ± 10 32 ± 13
	Sarcome d'Ewing	6		
	Chondrosarcome	3		
	Localisation de la tumeur Tbia	29%		
	Localisation de la tumeur fémur	59%		
	Localisation de la tumeur Hémurus	12%		
Contrôle		17	MALE femelle	27 ± 10 32 ± 13

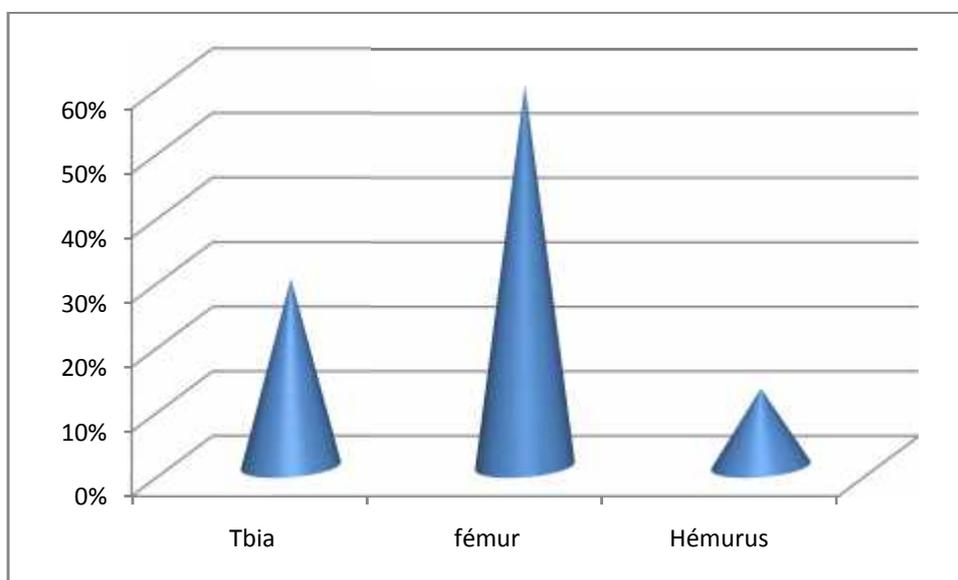


Figure 48 : Localisation des tumeurs osseuses chez les patients.

Chez les patients, la localisation des tumeurs osseuses est le fémur 59%, qui est un pourcentage plus élevé par rapport au tibia (29%). La localisation est moins préférentielle au niveau de l'humérus.

-Tableau 11: Contingence (Patient / Sexe) :

	F	H	totale
Malade	7	10	17
Temoin	7	10	17
Total	14	20	34

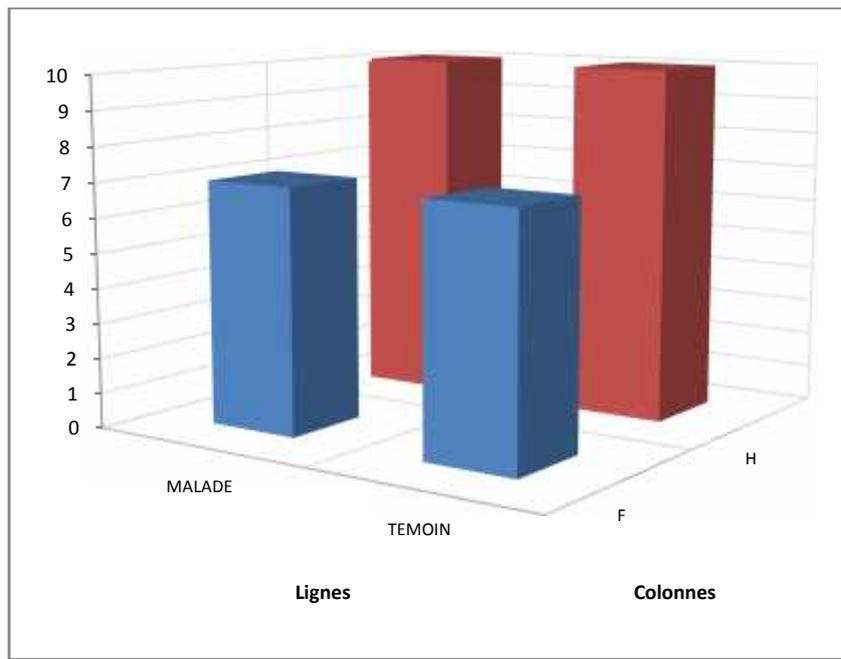


Figure 49 : Vue 3D du tableau de contingence

Les hommes représentent l'effectif le plus grand par rapport aux femmes.

Les fréquences des patients sont représentées dans le tableau 12.

Tableau12 : Fréquences des tumeurs chez les patients

Modalité	Effectifs	fréquence	Fréquence
Chondrosarcome	3	0.118	12%
Osteosarcome	8	0.471	50%
Sarcome d'Ewing	6	0.353	38%
Total	17	1	100%

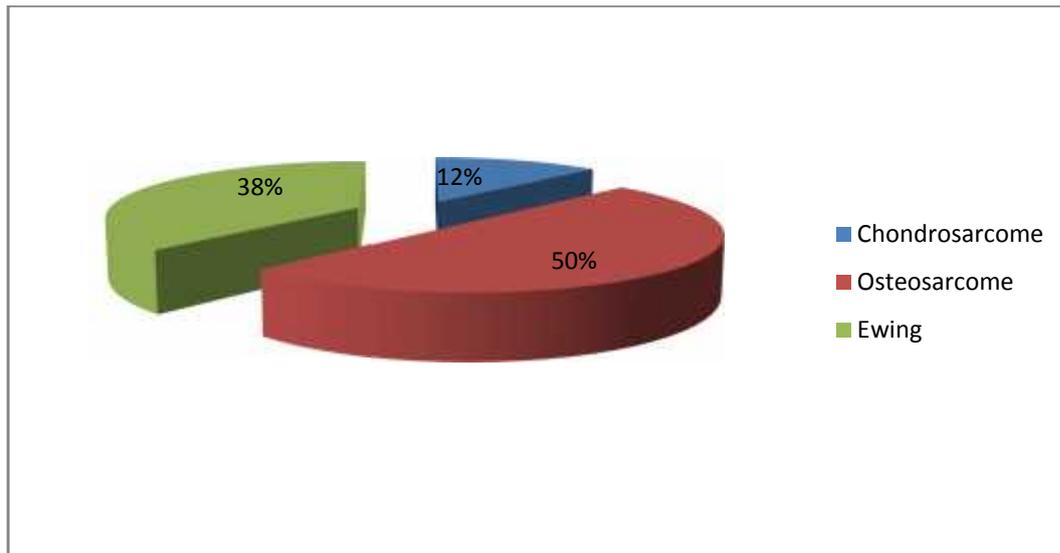


Figure 50 : Significativité par case (Test exact de Fisher) (Sexe / Pathologie3C)

Selon la figure 50, l'ostéosarcome est la tumeur osseuse la plus fréquente et elle représente 50%, le sarcome d'Ewing représente 38% et le chondrosarcome est moins fréquent il représente 12%.

Tableau 13 : Contingence des patients

	Chondrosarcome	Ewing	Ostéosarcome	Total
F	28.571	28.571	42.857	100.000
H	10.000	40.000	50.000	100.000
Total	17.6470588	35.2941176	47.0588235	100

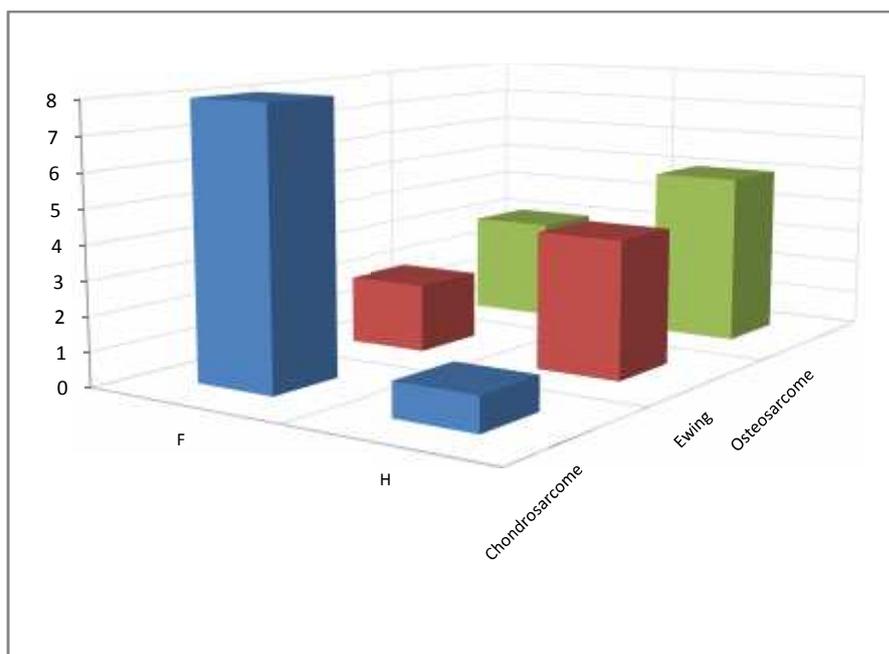


Figure 51 : Vue 3D du tableau de contingence

Tableau 14 : Résultat du test non-paramétrique de comparaison des moyennes de plusieurs groupes différents-Test de Kruskal-Wallis

Identifiant	Chondréosarcome	Sarcome d'Ewing	Ostéosarcome
Nombre	3	6	8
Moyenne	20,9	38,47	31,83
Ecart-type	6,379	40,01	23,05
Médiane	23,7	26,22	23,25
Quartile 25%	18,65	19,13	21,2
Quartile 75%	24,55	27,28	32,3
Inter Quartile	5,9	8,143	11,1
Somme des rangs	20	59	74
Moyenne des rangs	6,667	9,833	9,25

Tableau 15 : Représentation des patients selon le test de Kruskal-Wallis

	Chondréosarcome	Sarcome d'Ewing	Ostéosarcome
Moy-sd	14,52	-1,536	8,777
Min-nonatypique	13,6	-1,536	8,777
Moyenne	20,9	38,47	31,83
Max-nonatypique	27,28	119,4	87,9
Moy+sd	27,28	78,48	54,87

Le nombre de sujet est suffisant pour comparer l'incidence de K-W à la distribution de Chi 2 à k-1 degrés de liberté.

Le test de Kruskal-Wallis est significatif $p < 0,05$.

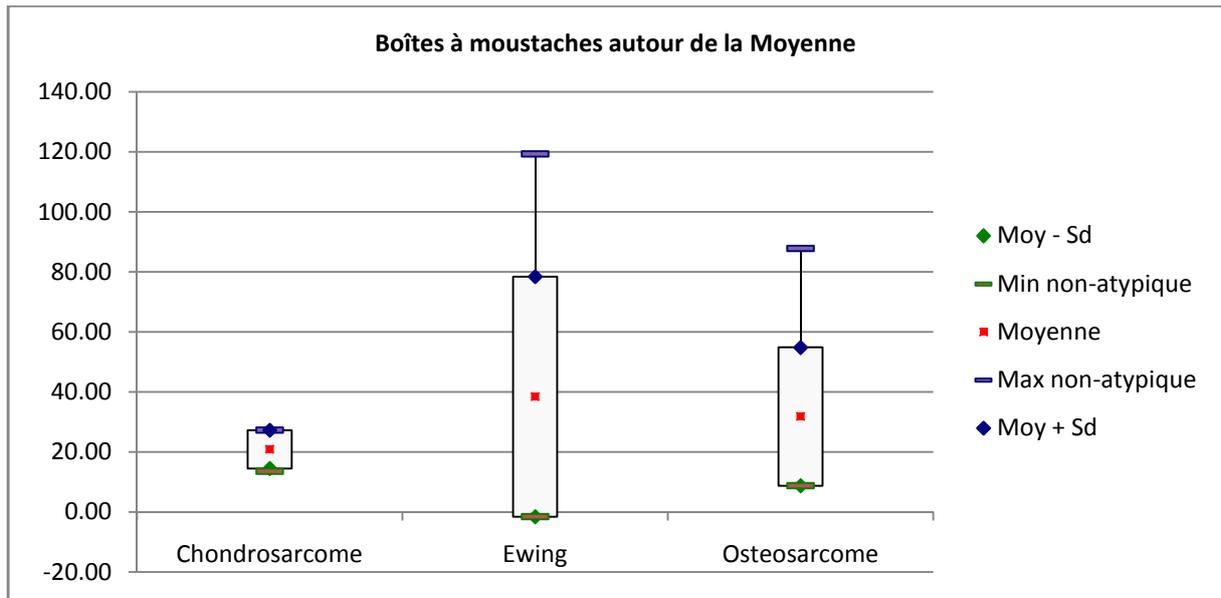


Figure 52 : Représentation de la moyenne des patients selon le test de Kruskal-Wallis

On note une augmentation significative de la moyenne du sarcome d'Ewing.

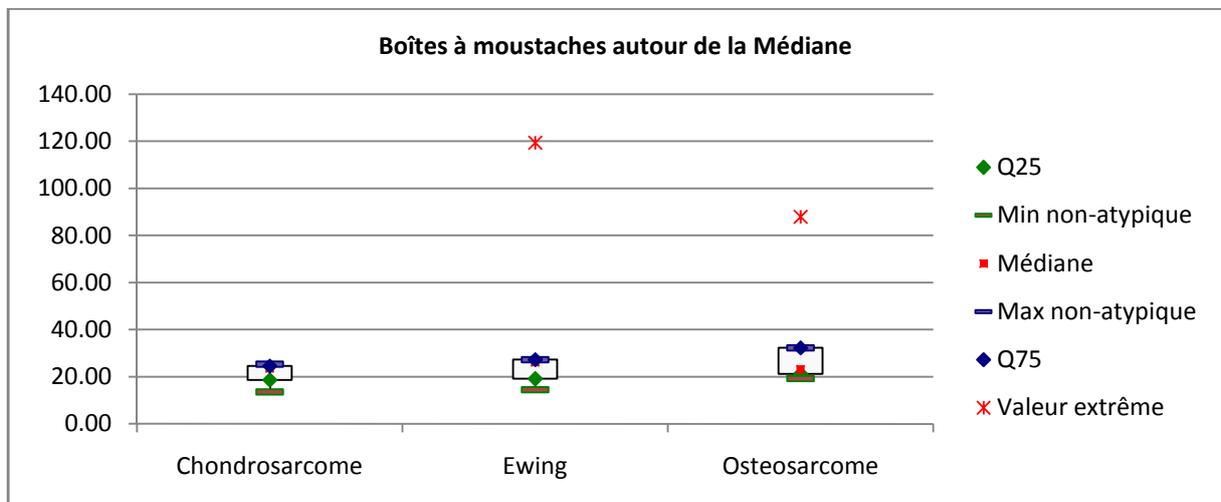


Figure 53 : Représentation de la médiane des patients selon le test de Kruskal-Wallis

On note une augmentation de la médiane du sarcome d'Ewing.

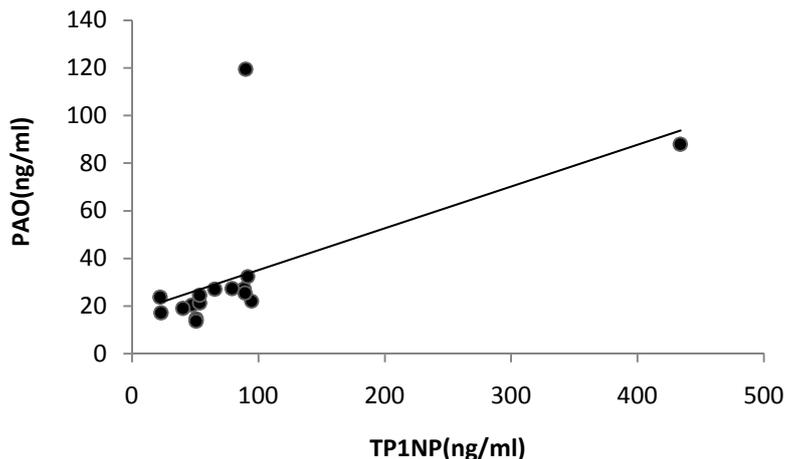


Figure 54 : Corrélation entre PAO/P1NP chez les patients.

Le test de Spearman utilisé afin d’avoir cette corrélation, montre un lien entre les deux variables quantitatives étudiées. Le coefficient de détermination et le pourcentage de la variance est expliqué par un modèle de régression linéaire. Il existe une corrélation significative entre PAO /P1NP sérique chez les patients ($P < 0,0042$) et ($0,352 < r < 0,903$).

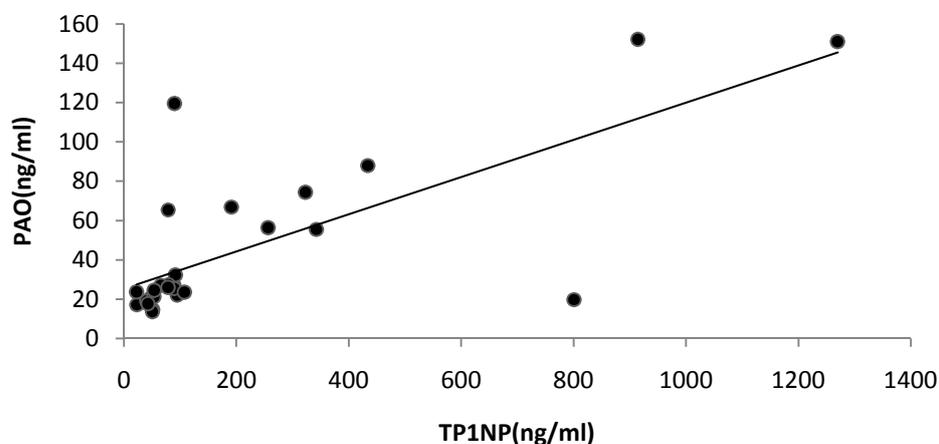


Figure 55: Corrélation entre PAO/P1NP chez les patients et groupe de contrôle.

Le test de Spearman permet d’avoir une corrélation entre les deux variables quantitatives, donc il existe un lien positif entre les deux variables étudiées PAO et P1NP.

Le coefficient de détermination du pourcentage de variable est expliqué par une régression linéaire. La corrélation entre PAO et P1NP chez le groupe de patients et contrôle est ;

($p < 0,00027$) et ($r = 0,714$).

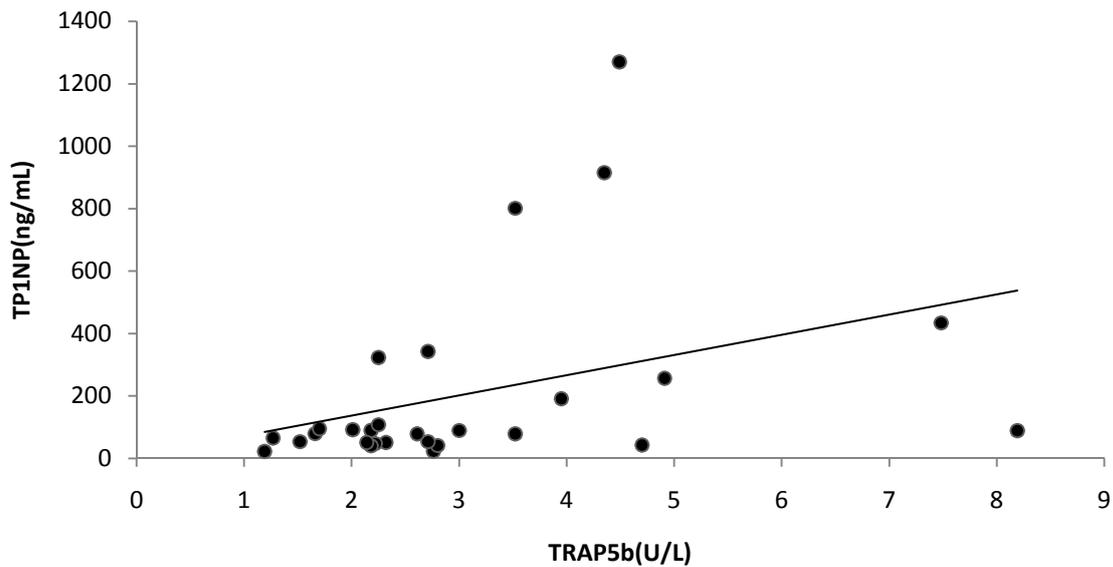


Figure 56 : Corrélation entre P1NP et TRAP5b chez les patients et le groupe de contrôle.

Il existe une corrélation entre les deux variables quantitatives étudiées. Pearson corrélation montre un lien positif entre eux.

Le coefficient de détermination du pourcentage de variance est expliqué par une régression linéaire, donc il existe une corrélation significative entre P1NP et TRAP5b dans le groupe de patients ($p < 0,033$) et ($0,451 < r < 0,680$).

Tableau 16 : Résultats du test non-paramétrique de comparaison des moyenne de deux groupes différents (Test de Mann-Whitney).

Résultats	PAO		TP1NP		TRAP5b		CrossLaps	
Groupe	Patients	Contrôle	Patients	Contrôle	Patients	Contrôle	Patients	Contrôle
Nombre	17	17	17	17	17	17	17	17
Moyenne	32,24	69,97	130,9	267,0	2,755	3,225	443,0	861,0
Ecart type	27,86	43,44	219,0	328,1	2,005	0,464	392,0	772,7
Médiane	24,5	66,8	53,59	155,8	2,18	3,03	383, 6	702,1
Quartile 25%	20,4	26	47,45	99,5	1,66	2,91	242	227,3
Quartile 75%	27,2	88,9	89,5	256,6	2,76	3,5	436,2	1127
Inter Quartile	6,8	62,9	42,05	157,1	1,1	0,59	194,2	899,7
Conditions d'utilisation statistique	Sans condition		Sans condition		Sans condition		Sans condition	
P<0,05	2,463		3,043		3,393		1,739	
Différenciation significative ?	0,0138		0,0024		0,0007		0,082	
	Oui		Oui		Oui		Non	

On retrouve une différence statistiquement significative entre les patients et le groupe de contrôle (moyenne : 32,24 groupe de patients 69,97 groupe de contrôle dans les concentrations sériques de la PAO, ainsi que pour TP1NP et TRAP5b mais il n'existe aucune différence significative pour CTX..

Discusión

-Discussion la partie rétrospective :

1-Aspects épidémiologiques des tumeurs osseuses :

Les études épidémiologiques, diagnostiques et thérapeutiques de O Ndour et al (2013) montrent que les tumeurs osseuses malignes forment des entités et que l'ostéosarcome est la tumeur la plus fréquente des tumeurs malignes primitives.

En plus, l'ostéosarcome survient chez les enfants entre 8 et 15 ans. La prédominance masculine est élevée.

Dans notre étude, les tumeurs osseuses touchent les enfants de moins de 20 ans dont la moyenne est 10 ans, avec une prédominance masculine. Les scolarisés présentent 49% par rapport aux d'autres patients. Cela explique la fréquence et le pic d'âge des enfants et les jeunes adultes touchés par la tumeur osseuse.

Dans la même littérature, la localisation préférentielle des ostéosarcomes sont le genou 87,5%, des cas avec au premier plan l'extrémité inférieure du fémur 81,25%.

Dans notre étude, le fémur est le siège de la tumeur osseuse le plus fréquent, il représente 33% des localisations de ce type des tumeurs suivi du tibia de 32%.

Des travaux menés par K. Ando et al (2013) montrent que le sarcome d'Ewing est la deuxième tumeur osseuse la plus répandue chez les enfants et les jeunes adultes, avec une malignité agressive à fort potentiel de métastases.

Dans notre étude, le sarcome d'Ewing est une tumeur osseuse maligne, il représente le deuxième pic suivi d'ostéosarcome.

2-Aspects diagnostiques des tumeurs osseuses:

Les patients sont adressés vers la structure hospitalière de référence devant la douleur, ce motif de consultation est identique à celle des travaux de M. HERNANDEZ (2013).

Dans les travaux d'O, Ndour et al en 2013, le motif de consultation est l'augmentation importante de volume de tuméfaction.

Dans notre étude, la douleur est le motif de consultation pour la plus part des patients suivis de la tuméfaction.

Les modes de découverte et les motifs de consultation sont nombreux. D'autre part, la présentation clinique des tumeurs osseuses n'est pas spécifique. La douleur, l'enflure et l'inconfort général sont les symptômes les plus courants (O, Ndour et al, 2013).

Nos études montrent que les gênes fonctionnelles et les gênes esthétiques font aussi partie du motif de consultation.

Il est désormais admis que, les analyses biologiques sont nécessaires. L'utilisation de marqueurs osseux dans les tumeurs malignes permet un diagnostic précoce et un début rapide du traitement.

Dans la présente étude de Neerav Shukla et al (2013), les défis liés à l'identification et à la validation des biomarqueurs cliniquement pertinents dans les sarcomes d'Ewing soulèvent un obstacle important à l'individualisation de la thérapie dans tout cancer rare.

Récemment, Francesco R et al en 2017 montrent que les marqueurs moléculaires PINP, OPG, Sialoprotéine osseuse (BSP), Phosphate alcaline spécifique (BSAP) augmentent la précision du diagnostic et aident à subtyper les tumeurs osseuses.

Dans notre étude, des résultats biologiques montrent que la vitesse de sédimentation accélérée est plus élevée chez les patients présentant une tumeur osseuse, ainsi que le taux d'hémoglobine bas qui est due à la perturbation de la fonction hématopoïétique du tissu osseux.

Il ressort de nos résultats que, les patients non traumatisés sont les plus touchés par les tumeurs osseuses par rapport aux patients traumatisés.

Les constatations de Timothy N et al, (2016) qui tentent d'expliquer les mécanismes des métastases sont provoquées par les micro-environnements de la tumeur. Ces derniers comprennent des composants cellulaires et non cellulaires. Cependant, la matrice extracellulaire fournit des signaux structuraux de soutien de signalisation aux cellules. Un groupe particulier de molécules associées à la matrice extracellulaire connu sous le nom de protéines matrice cellulaires modulent les aspects multiples de la biologie tumorale, y compris la croissance, la migration, l'invasion, l'angiogenèse et la métastase. Ces protéines sont également importantes pour la fonction normale dans l'os en régulant la formation des os et la résorption osseuse.

Les travaux menés dans ce sens de R.Rizzoli et al (2013) montrent que la grande majorité des tumeurs se métastase vers l'os. Dans le cancer du sein, l'os est souvent le premier site de métastase à distance avec environ la moitié des patientes présentant des métastases osseuses comme lieu de première rechute. Dans le cancer du sein ou de la prostate, la maladie osseuse métastatique est présente dans la grande majorité des patients. Les métastases osseuses peuvent également être observées dans 15 à 30% des cas de cancer du poumon. Dans le cancer de la thyroïde avancé et le mélanome, les métastases osseuses sont également fréquentes.

Par ailleurs, les travaux de Claire-Sophie DEVIGNES (2016) affirment que les os peuvent affecter le cancer du sein.

Dans notre étude, chez les femmes souffrant d'un cancer du sein sont les plus présentant des métastases osseuses. Cette maladie osseuse métastatique est moins fréquente chez les patients qui ont un cancer du poumon, du rein ou de la thyroïde.

3-Aspects thérapeutiques des tumeurs osseuses :

L'amputation est l'option thérapeutique principale et standard pour les patients atteints de l'ostéosarcome (N.Shukla et al 2013).

Dans les travaux de M. HERNANDEZ (2013), l'exérèse reste le seul traitement efficace.

Dans notre étude, les patients ont subi des traitements différents, la majorité des patients présentant des tumeurs osseuses sont traités par une exérèse, d'autre ont subi une amputation ou un traitement mixte constitué de la chirurgie et de la chimiothérapie.

Ce multiple traitement est expliqué par l'état avancé ou non de la tumeur osseuse ainsi que la taille de la tumeur.

Cependant, le but du traitement est d'améliorer la qualité de vie de l'enfant et de la survie mais, les complications post opératoire sont multiples.

Plusieurs complications sont causées par l'amputation : la nécrose de la plaie, l'infection chez les enfants (K, Ando et al, 2013), et le taux de survie diminue avec l'évolution post thérapeutique.

Notre étude montre que les suppurations sont les plus fréquentes dans les complications post- opératoires. Les récidivités et les complications nerveuses sont aussi présentes.

Les signes de récidivité sont absents dans les premiers mois qui suivent le traitement et augmentent après le 10^{ème} et le 15^{ème} mois ; ce qui augmente aussi le décès chez les patients présentant des tumeurs osseuses.

-Discussion de la partie prospective :

Le nombre de patients dans notre étude est petit à cause de la rareté de l'ostéosarcome et pour le sarcome d'Ewing à cause de la rareté de cette maladie. Selon P. Journeau et al, 2006 les tumeurs malignes de l'enfant sont assez rares, représentant 5% de toutes les tumeurs malignes pédiatriques. Toutefois, parmi l'ensemble des tumeurs osseuses en pathologie infantile, 15% d'entre elles sont malignes. Les deux principales sont l'ostéosarcome et le sarcome d'Ewing. Ainsi, beaucoup de travail montre un nombre réduit des patients atteints de l'ostéosarcome, Shoja. S et al, 2014 ont fait une étude rétrospective de 538 patients âgés entre 1 et 18 ans, inclus de 24 patients atteint de l'ostéosarcome afin d'avoir une nouvelle méthode du diagnostic de l'ostéosarcome chez les enfants et les adolescents par PAO.

D'après Eric Choudja, 2013 l'incidence annuelle du sarcome d'Ewing en USA est de 2,9 nouveaux cas sur un million chez les patients âgés moins de 20 ans ; et elle est plus élevée en France chez les patients âgés moins de 15 ans.

Dans notre étude, on a dosé les biomarqueurs osseux de formation PAO et P1NP et de la résorption CTX et la TRAP5b dans le diagnostic de l'ostéosarcome et le sarcome d'Ewing, ainsi que dans le suivi du traitement basé sur la chimiothérapie.

Selon Catherine Cormatier et al, 2000 la méthode de référence pour étudier le remodelage osseux (cinétique de radiotracteur) est compliquée à mettre en œuvre, en routine. Il y avait une nécessité de développer des techniques simples, non invasives et spécifiques. Les marqueurs biologiques du remodelage osseux devrait répondre à cette demande. Ces paramètres peuvent être un composant de la matrice osseuse relargué dans la circulation lors de la formation ou de la résorption osseuse ou une activité enzymatique spécifique des ostéoblastes ou des ostéoclastes. Les marqueurs osseux représentent une évaluation globale du remodelage osseux. Les marqueurs les plus intéressants aujourd'hui sont l'ostéocalcine, PAO et P1NP pour la formation osseuse, CTX et NTX pour la résorption osseuse.

En plus, P, Garnero et al, 2000 suggèrent que les biomarqueurs osseux sont utilisés dans les études cliniques de recherche, notamment comme critère d'efficacité de nouveaux médicaments à visé osseuse.

➤ Intérêt des biomarqueurs osseux dans l'estimation des tumeurs :

Dans la littérature, l'utilisation des marqueurs osseux dans les tumeurs osseuses permet un diagnostic rapide, un départ rapide de la thérapie, limite les complications et la rechute de la tumeur (Joerger et al, 2012). D'autre part, les taux sériques de la **Bone specific alkaline phosphatase (BAP)** dans l'ostéosarcome et le sarcome d'Ewing ont été évalués avec d'autres méthodes (Li MX et al, 2014 Hao M et al, 2016) mais pas avec des biomarqueurs osseux. Les biomarqueurs osseux sériques sont confirmés dans différents cancers (Whelan J et al, 2012). Peu d'études ont exploré la valeur pronostic des biomarqueurs sériques dans le sarcome (Li MX et al, 2014).

Dans notre étude, les biomarqueurs osseux de la formation PAO et P1NP et ceux de la résorption osseuse CTX et TRAP5b présentent des niveaux anormaux dans la situation des tumeurs osseuses primaires ostéosarcome et le sarcome d'Ewing, et ils permettent le diagnostic de ces types des tumeurs osseuses, car le taux sérique de la PAO, CTX, TRAP5b et P1NP est élevé chez les patients avant le traitement par chimiothérapie néoadjuvante par rapport au groupe de contrôle.

D'autre part, les marqueurs du remodelage osseux permettent de quantifier l'activité des cellules osseuses. Certains sont spécifiques de la formation (ostéocalcine, PAO, peptide d'extension du procollagène) et d'autres de la résorption osseuse déoxyopyridine, télopeptides du collagène I) K. Briot et al, 2005.

La TRAP5b est décrit comme un biomarqueur le plus utilisé dans les métastases osseuses de cancer du sein, de la prostate et myelome selon les travaux de Peter Heüma, 2015 et Capeller B et al, 2003 ont montré que la TRAP5b est élevée chez les patientes représentantes des métastases osseuses du cancer du sein.

Comme marqueur de la résorption osseuse, la TRAP5b est élevée chez les patients atteints de l'ostéosarcome et le sarcome d'Ewing pour les deux sexes (Figure 31), la PAO est le marqueur de la formation osseuse (figure 32).

Nos résultats montrent si le niveau de la PAO est supérieur à 42,64ng/ml chez les hommes et 49,14ng/ml chez les femmes, et que si le taux de la TRAP5b est supérieur à 5,59ng/ml chez l'homme et 6,83ng/ml en fin de vie, le patient devrait être suspecté d'avoir des tumeurs osseuses.

En plus, les marqueurs du renouvellement osseux sont utilisés dans la prédiction des métastases osseuses chez les patients atteints des tumeurs malignes, il s'agit de la P1NP, ICTP et sialoproteïn (BSP). Dans le diagnostic, serum bone specific alkaline phosphatase (BSAP), P1NP et OPG sont associés avec les métastases osseuses du cancer des poumons et du sein. Ainsi, le dosage urinaire dans le diagnostic des tumeurs osseuses NTX (N-Terminal cross-linked telopeptide of type I collagen) et le taux sérique de la TRAP5b sont utilisés dans le diagnostic des patientes avec cancer du sein, et BSAP, P1NP et OPG dans le cancer de la prostate (Singer et al, 2008 Joerger et al, 2012).

Dans une étude réalisée chez 39 patients avec un cancer de la prostate et métastases osseuses, la concentration urinaire de -CTX et la concentration sérique de -CTX sont élevées. Les différents marqueurs de résorption osseuse présentent des sensibilités variables pour détecter la présence des métastases osseuses (Patrick GARNERO, 2007).

Les études de MC. Carlier et al, 1998 ont été faites dans le but de diagnostiquer de façon précoce les métastases osseuses. La population sans métastases montre une augmentation significative versus la population avec métastase osseuse, l'augmentation des concentrations excrétées de désoxypyridinoline et CTX est plus importante que celle de la population sans métastase, cette augmentation est significative versus la population normale avec pour le CTX.

Dans notre étude, le taux sérique du CTX est élevé chez les patients atteints par l'ostéosarcome ou le sarcome d'Ewing ; il atteint deux pics le premier pic est enregistré à l'âge de 6 ans avec 3000ng/ml et le deuxième pic à l'âge de 16 ans ; contrairement aux filles du groupe de contrôle : le taux sérique atteint un pic à l'âge de 14 ans, ensuite il diminue à 1200ng/ml à l'âge de 20 ans.

D'autre part, nos résultats montrent aussi la concentration élevée de la P1NP marqueur biologique de la résorption osseuse chez les patients atteints de l'ostéosarcome ou le sarcome d'Ewing.

➤ Evaluation des biomarqueurs osseux en fonction de l'âge et le sexe:

Il ressort de notre étude, qu'il existe une dispersion importante des valeurs des biomarqueurs osseux, on a observé un pic pubertaire plus tardif chez les garçons de 14 ans alors que pour les filles l'âge est de 10 ans. Les concentrations des biomarqueurs de la formation et de la résorption osseuse subissent chez l'enfant d'importante variation en rapport avec la croissance.

Plusieurs études ont montré que les marqueurs du remodelage osseux augmentent avec l'âge. Une association positive entre l'âge et les marqueurs du remodelage osseux (PAO, P1NP, CrossLaps, TRAP5b) dans une population (Ambroszkiewicz et al, 2010).

Il est désormais admis que, le taux des biomarqueurs de la formation et de la résorption sont élevés dès le début du processus pubertaire, en relation avec le remodelage osseux et l'augmentation des dimensions des pièces osseuses (Mora S et al, 1999). Le développement pubertaire étant différent d'un sujet à un autre, la notion d'âge chronologique ne peut avoir le même sens que chez les adultes du fait de la variabilité de l'âge selon le sujet et l'influence des hormones sexuelles sur l'évolution de la taille et de la masse osseuse ; il importe de tenir compte le développement physiologique qui peut être estimé par l'âge osseux (Sabatier JP et al, 1997).

L'évaluation de la PAO et TRAP5b chez les enfants et les adolescents est difficile, parce que les taux sériques sont généralement plus élevés que chez les adultes (Rauchenzauner M et al, 2007 Turan S et al, 2011 Szulc P et al, 2000).

D'autre part, des paramètres spéciaux PAO, P1NP et ostéocalcine représentent l'activité des ostéoblastes et la formation osseuse. Tous ces paramètres ont montré une augmentation au dessus de la plage de référence physiologique dans le groupe d'étude. Par conséquent, le paramètre de l'activité des ostéoclastes TRAP5b a montré des taux sériques plus élevés. Tous ces marqueurs reflètent le processus simultané de modélisation et du remodelage osseux qui est supposé être plus élevé pendant l'enfance et l'adolescence en raison de la croissance et du gain net d'os (Ulrike Michaela Pirker Frühauf, 2011).

Nos résultats montrent que le pic sérique des biomarqueurs osseux de la TRAP5b et de la PAO correspond à l'âge de la puberté. Alors que le pic sérique des biomarqueurs osseux de la P1NP et CTX est tardif par rapport à la TRAP5b et PAO.

Récemment, Mariska C et al 2017, la puberté est très importante pour l'accumulation de la masse osseuse. Il est bien établi que l'œstrogène joue un rôle central dans la régulation de la résorption osseuse par les ostéoclastes (Fung-Ping et al, 2009).

Timothy J, 1998 traite les effets directs et indirects de l'œstrogène sur la formation osseuse et le rôle crucial de l'œstrogène dans la régulation de la masse squelettique normale pendant le développement et pour le maintien de cette masse par la suite. Ainsi il y a une augmentation rapide de la densité osseuse dans les vertèbres des femelles pendant la puberté.

D'autres travaux ont montré que l'œstrogène en tant qu'hormone sexuelle, présente un autre aspect majeur concernant les propriétés de la régulation de la croissance et du remodelage osseux (Turn RT, et al 1994). D'autre part, les œstrogènes ont un double effet sur la croissance osseuse : inhibition de la résorption induite par les ostéoclastes et stimulation de la synthèse des ostéoblastes. Ils induisent la formation osseuse par l'activation de la prolifération, l'induction de la sécrétion de la matrice extracellulaire osseuse et la sécrétion de facteurs de croissance (insulin-like growth factor, transforming growth factor 3) qui est responsable d'une augmentation de la prolifération et la différenciation cellulaire comme il stimule l'expression des PAO et les collagènes. D'autre part, ils induisent des effets antirésorptifs indirects en inhibant la production par les ostéoblastes ou les cellules stromales, cytokines (IL-6), intervenant dans le recrutement des ostéoclastes (Jean-Marc et al, 1999).

Le processus du remodelage osseux qui se produit tout au long de la vie est caractérisé par la formation et la résorption osseuses. Ces derniers varient en fonction de l'âge et d'autres facteurs. Les travaux de S.P Wyness et al, 2012 qui ayant pour but d'établir des intervalles de références pédiatriques ont montré que les concentrations sériques de la P1NP diminuent jusqu'à l'âge de 3 ans pour les garçons et les filles.

Les constatations fournies par notre dosage montrent le taux sérique élevé de la PAO chez les patients est de 60ng/ml chez les garçons et de 55ng/ml chez les filles, le taux sérique de la PAO qui est de 160ng/ml chez les garçons et de 145ng/ml chez les filles.

Le taux sérique de PAO moyen obtenu dans cette étude a montré un motif similaire tétraphasique à ces références. Nos résultats diffèrent de la littérature selon laquelle la concentration moyenne de PAO est de 14,2ng/ml.

Brown et al, 2009, PAO est un acteur actif dans la calcification et la minéralisation squelettique dans la membrane plasmique des ostéoblastes

Plus tard, Zhang B et al, 2016, TRAP5b est sécrétée par les ostéoclastes et a été défendue comme biomarqueurs de l'activité de la résorption ; PAO peut être principalement conduire à la variabilité du taux de la croissance osseuse.

Dans les travaux de Turan S et al 2011, l'évaluation des taux sériques de PAO chez les enfants et les adolescents a montré un modèle tétraphasique avec deux pics à l'enfance et à la fin de la puberté.

Ces données corroborent avec notre résultat.

Des travaux menés dans ce sens suggèrent que les taux sériques de la PAO sont indiqués pour démontrer 77-89% du total des taux de **Phosphatase alcaline osseuse (ALP)** chez les enfants (Ambroszkiewicz et al, 2010), dans les travaux de Singer et al 2008, l'activité totale de la PAO peut être principalement chez les adolescents, en raison des variations du taux de croissance osseuse dans différents groupes d'âge et chez différents individus ; comme il est difficile d'établir des références spécifiques à l'âge pour les marqueurs biochimiques dans une population pédiatrique particulière.

Deux méta-analyses récentes du pronostic significative du sérum PAO dans l'ostéosarcome (Hao, H et al, 2016 Ren, H.Y et al, 2015) mentionnent que ALP peut être un potentiel pronostic marqueurs pour l'ostéosarcome. ALP est plus simple, rapide en comparaison avec **Phosphatase alcaline osseuse (BALP)**.

Des études menées sur 36 échantillons montrent que PINP aide à diagnostiquer les métastases osseuses et évaluer la progression de la chimiothérapie chez les patients qui ont un cancer rénal.

En plus, il existe une association entre le taux de -CTX et la progression de l'os ostéolytique chez les patients avec multiples myelomes. (Nadia Falah Makki, et al 2017).

La métastase est un facteur pronostic de l'ostéosarcome et le sarcome d'Ewing (Nakamura T et al, 2012 Wang B et al, 2015).

➤ Pertinence des biomarqueurs osseux :

Pour établir une nouvelle méthode dans l'évaluation des taux sériques de PAO et TRAP5b, nous avons évalué la corrélation entre le taux sérique de la PAO et le taux sérique de la TRAP5b.

Nos résultats montrent une forte corrélation entre le taux sérique de la PAO et le taux sérique de la TRAP5b chez les patients et le groupe de contrôle.

Le taux sérique de la PAO et TRAP5b s'est avéré plus simple et utile pour la confirmation du diagnostic différentiel des tumeurs osseuses primaires, parce qu'il est peu affecté par l'âge chez les enfants et les adolescents.

En plus, le taux de la PAO et TRAP5b est toujours élevé chez la femme que chez l'homme ; la PAO est supérieure à 42,64ng/ml chez les hommes et 49,14ng/ml chez les femmes. La TRAP5b est supérieure à 5,59ng/ml chez les hommes (groupe de contrôle) et à 6,83ng/ml chez les hommes patients ; PAO est plus de 13,34 chez les hommes, et de 14,20mg/ml chez les femmes.

Selon les travaux de Shoji S et al, 2014, l'activité totale de la PAO peut souvent être attribuée à l'activité TRAP5b, ce qui représente environ 90-92% de l'activité totale de la PAO. L'enfant jusqu'à 12 ans, 80% chez les enfants âgés de 12 à 18 ans et 67% chez les adultes. La fraction de la TRAP5b représente environ 75% de l'activité totale DTP chez les enfants jusqu'à 14 ans pour les filles et 19 ans pour les garçons et 64% chez les adultes.

Récemment, Boon E et al, 2016 ont montré une augmentation significative des deux marqueurs de formation (PAO, P1NP) par rapport à ceux de la résorption osseuse (CrossLaps, TRAP5b).

Le test de Spearman utilisé dans cette présente étude a montré des corrélations entre un biomarqueur de résorption et un biomarqueur de la formation chez le groupe de contrôle, ainsi que chez les patients après une chimiothérapie. Cela est expliqué par l'équilibre entre la

balance de formation/résorption qui n'est pas de même chez les patients atteints d'ostéosarcome ou le sarcome d'Ewing.

Singer et al, 2008, des études longitudinales ont montré une corrélation significative mais faibles entre perte osseuse et les concentrations de biomarqueurs osseux mesurées au début de la période d'observation.

Une étude établit par Markus Rauchenzauner et al, 2014 sur 572 enfants et adolescents âgés entre 2 mois-18ans fournit des courbes de référence pour ostéocalcine, BALP, CTX, ICTP et la TRAP5b chez les enfants en bonne santé ; les corrélations trouvées entre les marqueurs de la dégradation du collagène ICTP et CTX ($r=0,14$ $p=0,002$) et SD score pour les phosphatases ($r=0,34$ $p<0,001$) suggèrent qu'ils dérivent des mêmes processus biologiques.

Notre étude montre qu'il y a une corrélation significative entre PAO sérique et TRAP5b chez les femmes et les hommes ; il n'existe aucune corrélation entre les taux sériques de la PAO et TRAP5b chez les patients atteints d'ostéosarcome avant la chimiothérapie et entre le taux de la PAO et la TRAP5b chez les patients atteints du sarcome d'Ewing avant la chimiothérapie. Ces résultats signifient qu'il existe une spécificité dans le diagnostic de tumeur à l'aide des biomarqueurs osseux comme on peut confirmer ces résultats par la corrélation entre PAO et TRAP5b sériques chez les patients atteints du sarcome d'Ewing après la chimiothérapie.

La combinaison de différents marqueurs pourrait permettre d'améliorer le diagnostic. Patrick GARNERO, 2007 a montré que l'association CTX, ICTP et TRAP5b permettait d'identifier correctement 85% des patients avec et sans métastases osseuses. Etant donné qu'ils sont plus spécifiques des atteintes osseuses que les marqueurs normaux classiques (PSA...), ils pourraient être utiles en combinaison avec les biomarqueurs classiques afin d'éviter la réalisation de scintigraphie osseuse.

➤ Evaluation des biomarqueurs osseux après le traitement :

Le taux de la TRAP5b diminue après une chimiothérapie basée sur la prise de bisphosphonate ou aucune progression est détectée.

La TRAP5b est utilisée comme un biomarqueur des métastases osseuses du cancer du sein, précisément dans la détection de la progression de cette maladie sous le traitement de la bisphosphonate (Capeller B et al, 2003).

Chez nos patients recevant une chimiothérapie prolongée à haute dose, il y avait une diminution significative des concentrations des biomarqueurs osseux (PAO, TRAP5b, CTX et P1NP), en plus, d'une diminution de la PAO, après une chimiothérapie, ce qui explique une réduction de l'activité des ostéoblastes et montrent une évaluation pronostic.

Plusieurs études en ouvert et randomisées contre placebo ont montré que les bisphosphonates, clodronate, panidronate, ibandronate et zoledronate entraînent une diminution importante et dose dépendante des marqueurs biochimiques de la résorption osseuse, chez les patients avec métastases osseuses d'origine mammaire ou prostatique et dans le myélome (Patrick GARNERO, 2007).

L'institut Rizzoli ont analysé la valeur PAO après une chimiothérapie néoadjuvante mais ils n'ont pas réussi à trouver la relation significative avec la rechute. Cependant, Bramer et al, 2005 et Han et al, 2012 ont indiqué que PAO post-chimiothérapie élevée, et que la PAO est corrélée avec TRAP5b après une chimiothérapie. Ainsi, la diminution du niveau de la PAO et TRAP5b pendant la thérapie clinique peut être un symptôme d'une réaction positive au traitement et rémission de la maladie.

De même, nous avons trouvé une diminution du niveau de la PAO et la TRAP5b après une chimiothérapie chez les deux sexes et dans les deux types des tumeurs osseuses traités dans notre thèse. Bien que, l'âge croissant soit souvent considéré comme facteur pronostic défavorable.

➤ **Etude d'un cas particulier:**

La TRAP5b est secrétée par les ostéoclastes et elle est préconisée comme un biomarqueur de l'activité des ostéoclastes et la résorption osseuse.

L'activité totale de la PAO peut souvent être attribuée à l'activité de la TRAP5b, ce qui représente environ 90-92% de l'activité totale de la PAO (Shoji S et al. 2014).

Dans notre étude, il existe une forte corrélation entre le taux sérique de la PAO et le taux sérique de la P1NP chez le groupe de patient ($p = 0,0042$) et une forte corrélation entre PAO et P1NP chez le groupe de contrôle ($p = 0,00027$) comme il existe une forte corrélation entre PAO et P1NP dans le groupe de patients ($p = 0,033$).

Les taux sériques de la PAO obtenus en fonction de l'âge dans notre étude montrent un motif similaire tétraphasique.

Ces données corroborent avec les travaux de Wang et al 2015.

Nos résultats diffèrent de la littérature selon laquelle la concentration moyenne de la PAO est 14,2mg/l selon Brown Jp et al, 2009. Alors que la concentration moyenne de la PAO chez le groupe de patient de notre étude est de $32,7 \pm 287$ ng/ml et de $68,5 \pm 50,8$ ng/ml chez le groupe de contrôle. Cette différence peut être due au choix de la population étudiée, y compris le sexe, l'âge, le traitement, et au nombre relativement faible de patients dans notre population étudiée.

Dans la présente étude, il existe une forte corrélation entre les taux sériques de la PAO et P1NP chez les patients atteints d'ostéosarcome ou les patients atteints du sarcome d'Ewing, ainsi qu'une corrélation entre les taux sériques (PAO et TRAP5b), (TRAP5b et P1NP). Ces corrélations qui existent entre ces différents marqueurs biochimiques ne sont pas suffisamment prouvées dans la littérature concernant les tumeurs osseuses primaires ostéosarcome et le sarcome d'Ewing.

En fait, Boom et al, 2016 ont montré une augmentation significative des deux marqueurs de formation (PAO et P1NP) par rapport à ceux de la résorption osseuse (CrossLaps, TRAP5b).

De même, le dosage des marqueurs biochimiques chez les patients atteints soit l'ostéosarcome ou le sarcome d'Ewing et recevant une chimiothérapie prolongée à haute dose, a montré une diminution importante de la PAO sérique qui est expliquée par une réduction de l'activité des ostéoblastes.

Des études longitudinales ont été montrées par Singer Fr et al, 2008 suggèrent l'existence des corrélations significatives, mais faible entre la perte osseuse et les concentrations de biomarqueurs osseux mesurés au début de la période d'observation.

Callegari et al, 2016 ont démontré que, si un niveau élevé d'un biomarqueur osseux dans le sérum d'un patient adolescent, il est difficile de déterminer s'il est atteint par l'ostéosarcome ou le sarcome d'Ewing car les personnes normales peuvent également atteindre un niveau élevé en raison d'une poussée pubertaire.

Notre étude a montré l'évaluation et la surveillance des tumeurs osseuses primitives et le taux de marqueurs biochimiques qui a été diminué après une chimiothérapie avec des corrélations élevées.

Conclusion et perspective

Conclusion :

En Algérie, le cancer était identifié comme le 17^{ème} problème de santé publique en 1975 et ce n'est qu'au tournant des années 2000 qu'il a été signalé comme un sérieux problème de santé publique (Zitouni et al., 2014), à cause d'une transition démographique profonde et rapide entraînant un changement de la structure épidémiologique de la population Algérienne. Cette transition a été accompagnée d'une modification profonde du mode de vie agissant probablement sur les facteurs de risque liée à la survenue de la maladie cancéreuse. Les facteurs de risque sont nombreux et le cancer gagne du terrain et il fait chaque jour plusieurs victimes. En Algérie plusieurs patients décèdent suite à cette pathologie soit parce que le diagnostic est tardif soit parce qu'elles n'ont pas bénéficié d'une prise en charge adéquate. Il devient indispensable d'utiliser les biomarqueurs osseux pour avoir une vision claire du remodelage du tissu et des processus pathologiques ceci va permettre le diagnostic et le pronostic précoce ce qui va sans doute faciliter une prise en charge rapide.

Les biomarqueurs s'avèrent d'une importance capitale dans ce type de cancer en effet, ils peuvent indiquer des variations du remodelage osseux avant que celles-ci soient détectables par imagerie médicale ils devancent l'imagerie ce qui prouvent leur efficacité. Ils peuvent renseigner sur le niveau d'activité de certains processus tumoraux spécialement, l'ostéosarcome et le sarcome d'Ewing.

Les taux sériques de la (PAO/ TRAP5b) et (P1NP/TRAP5b) sont fortement corrélés les uns avec les autres, cette corrélation est utile pour l'évaluation de l'ostéosarcome et le sarcome d'Ewing, ils sont utiles pour le diagnostic des tumeurs osseuses primaires.

En revanche, les combinaisons de ces marqueurs biochimiques entre eux, a permis une évaluation clinique efficace des patients atteints d'ostéosarcome et le sarcome d'Ewing.

L'évaluation des taux sériques de la PAO, CTX, P1NP et TRAP5b est une nouvelle approche clinique utile pour la confirmation et le suivi du traitement anti-tumoral.

Ces nouveaux facteurs pronostiques peuvent aider et améliorer les résultats dans ces maladies rares surtout dans l'Est d'Algérie où les formes anatomo-pathologiques des tumeurs osseuses sont élevées.

Perspectives :

Un certain nombre de pistes de problématiques se sont dessinées à l'issue de ce travail. Il est très intéressant d'étudier les causes biologiques de ces types des tumeurs osseuses primitives rares : ostéosarcome et le sarcome d'Ewing en Est d'Algérie, notamment l'épissage alternatif des biomarqueurs de formation PAO et P1NP, et de la résorption CTX et la TRAP5b.

Par ailleurs, ces biomarqueurs osseux peuvent être utiles dans le diagnostic, suivi et évaluation d'autres types des tumeurs osseuses primaires comme le chondrosarcome.

*Références
bibliographiques*

Références Bibliographiques :

- **Ambroszkiewicz J, Gajewska J, Klepacka T, Chelchowska M, Laskowska-Klita T, Wozniak W.** Clinical utility of biochemical bone turnover markers in children and adolescents with osteosarcoma. *Adv Med Sci.*, 2010; 55: 266–72.

- Association des enseignants de biochimie et biologie moléculaire des facultés de pharmacie.** Biochimie médicale Marqueurs actuels et perspectives. 2^e édition Lavoisier. Paris. 2011. P 401-421.

- Aude SEGALINY.** Biologie de l'interleukine- 34 et rôle dans la pathologie de l'ostéosarcome. Faculté Médecine et pharmacie. Ecole doctorale de Biologie – Santé. Université de NANTES.2014. p 57 -77.

- Audrey LAMORA.** Evaluation du potentiel anti-tumoral des inhibiteurs de la voie de signalisation du TGF- dans l'ostéosarcome. Ecole Doctorale Biologie-Santé. Faculté de médecine et pharmacie. Université de NANTES. 2015. P 1-88.

- Berengere GOBIN.** Approches thérapeutiques des ostéosarcomes par ciblage des activités kinases. Ecole Doctorale Biologie- Santé. Faculté de Médecine Biologie cellulaire et moléculaire.2013. p 1-33.

- Biomnis.**Phosphatase alcaline osseuse. 2013.

- Boon E, Van der Graaf WT, Gelderblon H et al.** Impact of chemotherapy on the outcome of osteosarcoma of the head and neck in adults. *Head Neck.* 2016 Aug 10. Do; 10.1002/hed.24556

- Bramer JAM, Abudu AA, Tilman RM et al.** Pre and post-chemotherapy alkaline phosphatase levels as prognostic indicators in adults with localised osteosarcoma. *European Journal of cancer.* 41(18):2846-2852. 2005

- Brown JP, Albert C, Nassar BA et al.** Bone turnover markers in the management of post menopausal osteoporosis. *Clin Biochem.* 2009, 42: 929-42

- Callegari ET, Gorelik A, Garlaud SM et al.** ANNALS EXPRESS : Bone turnover marker reference intervals in young women. *Ann Clin Biochem,* 2016Aug 5. Pii: 0004563216665123

-**Camille RAMIREZ**. Diagnostic et pronostic des troubles minéraux et osseux associés aux maladies rénales chroniques en hémodialyse. Apport de marqueurs cliniques et biologiques. 2012. P29-32.

-**Capeller B, Caffier H, Sütterlin M W et al**. Evaluation of tartrate resistant acid phosphatase (TRAP)5b as serum marker of bone metastases in human breast cancer. Anticancer Res, ,23 (2A): 1011-5. Mar- Apr 2003

-**Catherine Cormier, Catherine Kindermaus, Jean-Claude Souberbielle**. Marqueurs du remodelage osseux. Médecine thérapeutique/ Endocrinologie. Vol 2, N° 5, Sep-Oct 2000

-**Cathrine Lauzon**. Etude des mécanismes de toxicité induite par l'adriamycine et sensibilisation des cellules cancéreuses par le choc thermique. Université Du Quebec à Montreal. Janvier 2008. P10-11

-**Claire Sophie DEVIGNES**. Contrôle micro-environnemental des métastases osseuses du cancer du sein. Journées Jeunes Chercheurs en Cancérologie. FONDATION ARC pour La recherche sur le CANCER. 2016. P26.

-**Claire ILLAC-UAUQUELIN**. Implication de la voie sphingosine kinase 1/ Sphingosine 1- phosphate dans l'hypoxie intratumorale des ostéosarcomes. Facultés de médecine Université Toulouse III. PAUL SABATIER. 2016. P10-27

-**Cobas®**. Total P1NP. V11. 2015

-**CrossLap**. Dosage Biological Medical. Groupe LCD. 2013

-**Daniel Pissaloux**. Profils d'expression des micro ARN dans les sarcomes : des données brutes aux applications cliniques. Ecole Doctorale Biologie Moléculaire Intégrative et Cellulaire. Université Claude Bernard-Lyon 1. 2014. P 30-53.

-**David MONDERER**. Potentiel Thérapeutique de la différenciation mésenchymateuse dans les chondrosarcomes et les ostéosarcomes. Ecole doctorale Biologie Santé. Ecoles polytechnique de l'université de NANTES. 2013. p 33-35.

-**Dr Lukas Bestmann**. Ostéoporose : diagnostic et surveillance du traitement à l'aide de marqueurs. Information scientifique. Unilabs. 2011.

-**Eric Choudja.Ouaba**. Sarcome d'Ewing. Conference Paper. Septembre 2013

- Euro Ewing 2012**. Résumé du protocole. Version 2. mars 2014. P2-11
- Fondation ARC pour la recherche sur le cancer**. Les sarcomes osseux.. 2016. P11
- Francesco R. Evolu, Luciano Castarella, Vito Pavone et al.** Biomarqueurs des ostéosarcomes, chondrosarcomes et sarcome d'Ewing. 7 Avril 2017.
- Fung-Ping Chen, Kun-Chuang Wang, Jing-Duan Huang**. Effect of estrogen on the activity and growth of human osteoclasts *in vitro*. ELSEVIER. Vol 48-N°4. Dec 2009
- Guillaume-Anthony ODRI**. Acide Zoledronique Nouvel agent thérapeutique dans le sarcome d'Ewing. Ecole Doctorale Biologie Santé. Biologie- Médecine-Santé-Cancérologie. Université de NANTES. . 2014 . p5-85
- Han J, Yong B, Luo C et al.** High serum alkaline phosphatase cooperating with MMP-9 predicts metastasis and poor prognosis in patient with primary osteosarcoma in southern china. World Journal of Surgical Oncology. Article 37. 2012
- Hao H, Chen L, Huang D, Ge J, Qiu Y, Hao L**. Meta-analysis of alkaline phosphatase and prognosis for osteosarcoma. Eur J Cancer Care (Engl). 2016.
- Henghe Tian, M.D, Bruce N. Cronstein, M.D**. Understanding The Mechanisms of Action of Méthotrexate. Bulletin of the NYU Hospital for joint Diseases 2007. P 169
- INESSS**. Dosage du propeptide N-terminal du procollagène de type 1 (P1NP). Quebec. 2016.
- Isabelle Couret**. Imagerie fonctionnelle et métabolique. Medecine nucléaire Service de Médecine Nucléaire. N°11, Vol 27.2003. p 615-616.
- J. GUIDICELLI, J. C, SOUBERRBIELLE**. Le remodelage osseux et l'exploration de l'ostéoporose. Laboratoire de biochimie, CHU de Nice- NICE. Revue de l'ACOMEN, Vol 4, n° 3. 1998
- Jean-Marc Vancker, Edith Bonnelye, Brigitte Fournier et al.** L'effet de l'œstrogène sur l'os une histoire de famille. Médecine/sciences, 15 : 538-44 .1999

-**Joerger M. Huober J.** Diagnostic et pronostic of bone turnover markers. Recent Result Cancer Res. 192 197- 223.10.1007/978-3-642-21892. 2012

-**Julie TALBOT.** Rôle de la connexion 43 dans l'ostéogénèse et dans le développement tumoral dans des sarcomes d'Ewing. Biologie cellulaire et moléculaire. Biologie-Médecine- Santé. Université de NANTES.2012. p1-69.

-**K.Briot, C. Roux.** Les marqueurs biochimiques du remodelage osseux. Gynécologie Obstétrique& Fertilité ELSEVIER. Vol 33, Issue 12. Dec 2005

-**KAPLON Hélène.** Rationnel de la conception de la première biothérapie dans le traitement de l'ostéoporose : le dénosumab. Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques de Lile 2. Université de Lile 2. 2014. P 41-42.

-**Kosei Ando, Marie-Françoise Heymann, Verena Stresing et al.** Current Therpeutic Strategies and Novel approaches in Osteosarcoma. MDPI.24 Mai 2013.

-**Leening DJ, Koizumu M, Byrjalsen I et al.** The relation use of eight collagenous and non collagenous markers for diagnosis of skeletal metastases in breast, prostate, or lung cancer patients. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2006; 15(1):32-8

-**Li Mx, Liu XM, Zhang XF et al.** Pronostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in colorectal cancer. A Systemetic review and meta-analysis. Int S J Cancer. 2014 ; 134 : 2403. 2013

-**Louis doublet.** Métastases des tumeurs solides : détection, évaluation de la réponse aux traitements, recherche de complications. Faculté de médecine HENRI WAREBOURG. Université Lille 2 Droit et Santé.2016. p18.

-**M.C. de Wyeth.** Méthotrexate, comprimés USP. Méthotrexate, injection USP.
©Pfizer Canada inc. Numéro de contrôles. 2011.P33-42 .

-**M. MARTINI, A. MANSCOUR, M-BOUAZIZ.** Sarcome d'Ewing de l'orbite. A propos d'un cas et revue de littérature. Service de neurologie, CHU Annaba. Algérie. Poster 1. 2016. P5.

-**Magali HERNANDEZ**. Le sarcome d'Ewing chez l'enfant : Présentation d'un cas clinique localisé à la Mandibule. Faculté d'oncologie. Université de Lorraine. 2013. P 1-118.

-**Magniez FrédéricK**, La technique ELISA. Biotechnologie. 8 Avril 2008.

-**Marie-Sophie DUTERTRE SEQUEUAL**. Etude transversale du métabolisme minéral et osseux d'une population de patients hémodialysés. Faculté de Médecine. Université de NANTES. France.2012. p 13-16.

-**Mariska C. Vlot, Annemieke C. Daniel T et al**. Effect of Purbetal Suppression and cross-sex hormone therapy on bone turnover markers and bone mineral apparent density (BMAD) in transgender adolescents.Vol 95. Feb 2017

-**Markus Rauchenzauner, Andrea Schmid, Peter Heinz Erian et al**. Sex-and Age- Specific Reference Curves for Serum Markers of bone turnover in Healthy children from 2 Months to 18 years. The journal of clinical endocrinology & metabolism 92(2): 443-449. Feb 2007

-**Mascard JM Guinerbretière**. Sarcome d'Ewing. Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris. 14-756. 2001. P 1-6

-**MC. Carlier, PJ Souquet, P. Bombaron et al**. Desoxypyridinoline et Grosslaps™. Intérêt de ces deux marqueurs de résorption osseuse dans le dépistage des métastases osseuses des cancers bronchiques. Immuno-analyse&Biologie spécialisée. Volume 13. Issue 3. May-Juin 1998

-**MD VIGNON-PENNAMEN**. Tumeurs malignes de l'enfant : urgences et pièges diagnostiques. Paris.2012. P12.

-**médecine/ science**. Identification des gènes impliqués dans la translocation t(11, 22) caractéristique du sarcome d'Ewing. N° 9 vol 8. Novembre 1992. P994-995.

-**Molly Brunner**. L'intégrine $\alpha 1$ et de son régulateur ICAP-1 dans l'ostéogénèse rôle dans la prolifération, la différenciation et la fonction ostéoblastique. Université Grenoble Alpes.HAL 2016. P 39-41.

-**MONOGRAPHIE DE PRODUIT**. ^{Pr} DOXORUBICIN. Pfizer. Canada inc. 2014.p22-23

- **MONOGRAPHIE DE PRODUIT.** ^{Pr} Ifosfamide pour injection. Canada.29 Mai 2015. P16
- Mora S, Pitukcheewonont P, Kaufman FR et al.** Biochemical markers of bone turnover and the volume and the density of bone in children at different stages of sexual development. J Bone Miner Res. 1999, 14 (10): 1664-71
- Nadia Falah Makki, Dr. Jeak Bilem.** The clinical utility of bone turnover markers measurements and their use in UZL Hospital. CAT Critically Appraised Topic. UZ LEUVEN LABORATOR IUHGEN EE SKUNDE.16 Mai 2017. P29- 31.
- **Nakamura T, Matsumine A, Matsubara T, Asanuma K, Uchida A, Sudo A.** Clinical significance of pretreatment serum Creactive protein level in soft tissue sarcoma Cancer. 2012;118(4):1055-61. DOI: 10.1002/cncr.26353 Epub 2011 Jul 14
- Neerav Shukla, Joshua D.Schiffman. Domon Reed et al.** Biomarkers in Ewing Sarcoma: The promise and Challenge of Personalized Medicine. A Report from the Children's. Oncology Group. 6 Juin 2013.
- Olivier SAULNLER.** Modulation de l'épissage alternatif par la protéine de fusion EWS- FLI-1 dans le sarcome d'Ewing. Université Paris DiDeROT. Paris 7. 2015. P 1-16.
- Ostase ® BAP.** Phosphatase Alcaline d'origine osseuse (BAP) dans le sérum humain (Test immunoenzymatique). 3,5/2012-01-20
- Oumar Ndour,** Desire Munyali Alumeti, Mbaye Fall et al. Epidemiological, diagnostic and therapeutic aspects of osteosarcoma of the child at Aristide Le Dantec teaching Hospital in Dakar about 16 cases. The Pan African Medical Journal. 16 Mars 2013.
- P. Journeau, G. Dautel, P. Lascombes.** Prises en charge chirurgicale des tumeurs osseuses chez l'enfant. Annales Françaises d'anesthésie et de réanimation. Elsevier. Vol 25, Issue 4. Apr 2006
- Patrick GARNERO.** Nouveau Marqueurs Biologiques du remodelage osseux dans l'évaluation des metastases osseuses. Congrès de GEMO. Avril 2007. P2-3.
- Pharmacologie DCEM3.** Chapitre 22 Chimiothérapie anticancéreuse. Strasbourg. L. Monassier 2012. P9-10

-**Peter Heüma, PhD. TRAP5b.** A biomarker for osteoclastic bone-resorption Activity in renal insufficiency and cancer. TECO medical Clinical and Technical Review. January 2015. P19.

-**PICARD Laure.** Résultats de reconstructions de l'extrémité supérieure de l'humérus après exeresse tumorale maligne chez l'enfant. Faculté Médecine de Creteil. Université Paris 12 Val-De- Marne. 2014. P 8-24.

-**P. Garnero, F. Bianchi, MC.Carlier et al.** Les marqueurs biologiques du remodelage osseux : Variation pré-analytiques et recommandation pour leur utilisation. Annales de Biologie Clinique. Vol 58, N° 6, Nov-Déc 2000

-**Quidel.** MicroVue™ Bone TRAP5b EIA. Dosage immunoenzymatique de l'isoforme 5b de la phosphatase acide tartrate-résistante dans le sérum ou le plasma humain. Germany 2005.

-**R.Rizzoli, J-J Body, M-L Brandi et al.** Cancer-associated Bone disease.24 Dec 2013.

-**Rauchenzauner M, Schnid A, Heinz- Erian et al.** Specific reference curves for serum markers of bone turnover in healthy children from 2 months to 18 years. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 2007; 92 (2): 443-449

-**Raven, Johnson, Mason et al.** Chapitre 47 : L'appareil locomoteur. Biologie. 2^{ème} édition 2012. P 965.

-**Ren HY, Sun LL, Li HY, Ye ZM.** Prognostic Significance of Serum Alkaline Phosphatase Level in Osteosarcoma: A Meta-Analysis of Published Data. Biomed Res Int. 2015.

-**Roxane Therrien, Jean François Delisle, Gabrielle Ferland et al.** Le cancer chez l'enfant. Pharmacothérapie. Canada.2013. p 198-199.

-**S.P Wyness, W.L.Roberts, ARUP.** Pediatric reference intervals for four serum bone markers on two automated analysers. In Clinical Chemistry. Abstracts of the Scientific posters. Volume 58 Number S10. P142 October 2012

-**Sabatier JP, G Guaydier- Souquieres.** Densitométrie rachidienne chez la jeune fille ; étude transversale chez 574 sujets témoins âgés de 10 à 24 ans. Médecine Nucléaire. 21 : 15-23. 1997

-**Severine Clavier**. Effet Moléculaire du peptide vecteur (R/W)9 sur le phénotype de cellules modèles du sarcome d'Ewing : Etude protéomique. HAL. . P 35-37.

2016.

-**Shoji S, Tadahiko K, Jun F et al**. A novel assessment method of serum alkaline phosphatase for the diagnosis of osteosarcoma in children and adolescents. Jorhop Sci, 2014; 19: 997-1003. DOI10.1007/s00776-014-0617-0

-**Singer F. R, David R.E**. Using biochemical markers of bone turnover in clinical practice. Cleve-Clin. J. Med. 75 739- 750. 10.3949/ccJm 75.10.739. 2008.

-**Sophie Bréban**. Effet de l'activité physique de haut niveau sur la masse, l'architecture et le métabolisme osseux chez les jeunes adultes des deux sexes (16-30 ans), Etude longitudinale de 2 ans. Ecole doctorale Sciences et technologies Unité INSERM- université D'ORLEANS. P87-90. 22 septembre 2009.

-**Steven G. DusBois. MD, Robert Goldsby, MD, Mark Segal, PhD**. Evaluation of Polymorphisms in EWSR1 and Risk of Ewing Sarcoma: A Report from the Childhood Cancer Survivor Study.HHS Public Access. Author manuscript. 15 Juillet 2012.

-**Suzanne Gascon**. Développement d'un modèle de suivi en imagerie TEP de la cardiothérapie chez la souris. Sherbrooke, Quebec. Canada. P17-18. Fev 2015.

-**Sylvain Contié**. La périostine, un nouveau biomarqueur des métastases osseuses : développement d'un immunodosage et évaluation préclinique. Ecole doctorale de Biologie Moléculaire intégrée et cognitive. Université CLAUDE BERNARD. Lyon. P50-57 .2013.

-**Szulc P , Seeman E, Delmas PD**. Biochemical measurements of bone turnover in children and adolescents. Osteoporosis International. 2000; 11(4): 281-294

-**Timothy J. Chambers**. The direct and indirect effects of estrogen on bone formation. DOI: 10.1016/S1569-2590 (08) 60139-t. Dec 1998

-**Timothy N. Trotter, Yang Yang**. Matricellular proteins as regulators of cancer metastasis to bone. Author manuscript. 22 Juin 2016.

-**Turn RT, Riggs BL, Spelsberg TC.** Skeletal effects of estrogen. *Endocr Rev* 15 : 275-300. 1994

-**Turan S, Topcu B, Go'kc, e I' et al.** Serum alkaline phosphatase levels in healthy children and evaluation of alkaline phosphatase z scores in different types of rickets. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*, 2011; 3: 7–11.

-**Ulrike Michaela Pirker Frühauf.** Osteoporosis-A Late effect for bone sarcoma. Medizinischen Universität Graz. . P70 .2011

-**Valentine Mirman.** L'ostéoporose : état des lieux, perspective et rôle du pharmacien d'officine dans la prise en charge. *Sciences pharmaceutiques. HAL. P* 42-45. 2012.

-**Whang B, Chen Y, Song Y et al.** Correlation between follicle-stimulating hormon and total procollagen I N terminal peptide in permenopausal women. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2015, 44(1): 85-9

-**Whelan J, Mc Tieman A, Cooper N et al.** Incidence and survival of malignat bone sarcomas in England 1979-2007. *Int J Cancer* 2012; 131:E508-517.

-**Zhang B, Deng L, Wu H et al.** Relationship between long-term use of a typical antipsychotic medication by Chinese schizophrenia patients and the bone turnover markers serum osteocalcin and crossLaps. *Schizophr Res*, 2016. Pii: S0920-9964(16)30316-4.

Zitouni, H. ; Arhab, R. ; Boudry C. ; Bousseboua, H. ; Beckers, Y. Chemical and biological evaluation of the nutritive value of Algerian green seaweed *Ulva lactuca* using *in vitro* gas production technique for ruminant animals. 2014 *Int. J. Adv. Res.*, 2 (4): 916-925

Résumé : L'intérêt des biomarqueurs osseux dans le diagnostic, suivi et évaluation des tumeurs osseuses :

L'ostéosarcome et le sarcome d'Ewing

SAMY KABOUCHE

Les tumeurs osseuses primaires constituent un problème majeur de la santé publique. L'ostéosarcome et le sarcome d'Ewing sont des maladies rares, touchent les enfants et les jeunes adultes, et sont la conséquence d'altération du remodelage osseux.

Les marqueurs biochimiques du remodelage osseux sont utilisés dans le diagnostic, le pronostic et l'évaluation des métastases osseuses, l'ostéoporose en association avec les techniques d'imagerie.

Cependant, les biomarqueurs osseux de la formation P1NP et PAO et ceux de la résorption osseuse CTX et TRAP5b peuvent être utile dans le diagnostic, l'évaluation et le suivi de l'ostéosarcome et le sarcome d'Ewing.

Dans un premier temps, nous avons décrit les aspects épidémiologiques et thérapeutiques des tumeurs osseuses par une étude rétrospective au niveau du service de centre hôpitalo-universitaire Ibn Badis –Constantine- en Est d'Algérie.

Dans un second temps, nous avons évalué le taux sérique des marqueurs biochimiques de la formation osseuse PAO et P1NP et de la résorption osseuse CTX et TRAP5b chez les patients atteints de l'ostéosarcome (40 cas) et du sarcome d'Ewing (34 cas), par le dosage ELISA de ces biomarqueurs. Ces derniers ont montré une bonne performance dans le diagnostic de l'ostéosarcome et le sarcome d'Ewing en termes de précision avant le traitement, et dans l'évaluation et le suivi après un traitement basé sur une chimiothérapie néoadjuvante. D'autre part, les corrélations de ces marqueurs biochimiques entre eux avant et après le traitement ont permis une évaluation clinique efficace des patients atteints de ces deux types les plus fréquents des tumeurs osseuses primaires.

L'ensemble de notre travail montre un nouvel aspect du diagnostic, évaluation et le suivi de l'ostéosarcome et le sarcome d'Ewing avant que celles-ci soient détectables par imagerie médicale.

Mots clés: Ostéosarcome- Sarcome d'Ewing- Les biomarqueurs osseux – Diagnostic- Tumeurs osseuses primaire.

Summary :

Samy Kabouche

Primary bone tumors are a major public health problem. Osteosarcoma and Ewing's sarcoma are rare diseases that affect children and young adults, and are the result of impaired bone remodeling.

Biochemical markers of bone remodeling are used in the diagnosis, prognosis and evaluation of bone metastases, osteoporosis in combination with imaging techniques.

However, bone biomarkers of P1NP and PAO formation and those of CTX and TRAP5b bone resorption may be useful in the diagnosis, evaluation and monitoring of osteosarcoma and Ewing's sarcoma.

Firstly, we described the epidemiological and therapeutic aspects of bone tumors by a retrospective study at the level of Ibn Badis -Constantine Hospital-University Center in eastern Algeria.

In a second step, we assessed serum biochemical markers of PAO and P1NP bone formation and CTX and TRAP5b bone resorption in patients with osteosarcoma (40 cases) and Ewing's sarcoma (34 cases) by the ELISA assay of these biomarkers. The latter showed good performance in the diagnosis of osteosarcoma and Ewing's sarcoma in terms of precision before treatment, and in evaluation and follow-up after neoadjuvant chemotherapy-based treatment. On the other hand, the correlations of these biochemical markers with each other before and after treatment have allowed effective clinical evaluation of patients with both of these most common types of primary bone tumors.

All of our work shows a new aspect of the diagnosis, evaluation and monitoring of osteosarcoma and Ewing's sarcoma before these are detectable by medical imaging.

Key Words: Osteosarcoma- Ewing sarcoma-Bone biomarkers– Diagnostic- Primary bone tumors.

: همية العلامات البيوكيميائية العظمية في تشخيص متابعة و تطور الاورام العظام

الساركوما العظمية وساركوما إيوينج

أورام العظام الأولية هي مشكلة صحية عامة كبيرة. الساركوما العظمية وساركوما إيوينج هي أمراض نادرة ت
الأطفال والبالغين الصغار، وهي نتيجة لإعادة تشكيل العظام ضعيف.

تستخدم علامات البيوكيميائية لإعادة تشكيل العظام في التشخيص وتقييم النقائل العظمية ، وهشاشة العظام في تركيبة مع
تقنيات التصوير.

ذلك، قد تكون المؤشرات الحيوية PAO PINP خاصة بالتشكي
CTX TRAP5b مفيدة في تشخيص وتقييم ورصد عظمية وساركوما إيوينج.

في البداية، وصفنا الجوانب الوبائية والعلاجية للأورام العظام من خلال دراسة استعادية في مركز
ابن باديس -قسنطينة - .

ثانيا، قمنا بتقييم علامات البيوكيميائية في مصل الدم من تكوين PAO PINP
CTX TRAP5b في المرضى الذين يعانون من (40) وساركوما إيوينج (34)
ELISA من هذه المؤشرات الحيوية. أظهروا أداء جيدا في تشخيص عظمية وساركوما إيوينج في دقة قبل المعالجة،
والتقييم والرصد بعد العلاج القائمة على المواد الجديدة المساعدة العلاج الكيميائي. من ناحية أخرى ، سمحت الارتباطات بين
هذه العلامات البيوكيميائية مع بعضها البعض قبل وبعد العلاج التقييم السريري الفعال للمرضى مع كل من هذه الأنواع الأكثر
شيوعا من أورام العظام الأولية.

يظهر كل عملنا جانبا جديدا من تشخيص وتقييم ورصد الساركوما العظمية وساركوما إيوينج قبل أن يمكن اكتشافها
عن طريق التصوير الطبي.

الكلمات المفتاحية:

ساركوما العظمية-ساركوما إيوينج – البيوكيميائية في العظام-تشخيص- الاورام الاولية السرطانية.



The Evaluation of Osteosarcoma and Ewing Sarcoma by Bone Markers in Children and Adult after Chemotherapy

**Kabouche Samy^{1*}, Martin Coheen Solal², N. Roustila³, Asma Benhamdi⁴,
Linda Chakmak⁵, Agnes Ostertag², Corrin Colet², Maza Rabeh⁶,
Abdelkader Rouabah¹ and Leila Rouabah¹**

¹Department of Biochemistry, Cellular and Molecular Biology, Faculty of Science, University of Constantine 1, Algeria.

²INSERM Unit 1132 Biology of Bone and Cartilage (BIOSCAR), Hospital Lariboisière, Paris, France.

³Department of Oncology Pediatric, Hospital Benabadis, Constantine, Algeria.

⁴Department of Applied Biochemistry, Faculty of Science, University of Constantine 1, Algeria.

⁵Department of ENT, Hospital Benabadis, Constantine, Algeria.

⁶Department of Orthopedic, Hospital Benabadis, Constantine, Algeria.

Authors' contributions

This work was carried out in collaboration between all authors. Authors KS, LR, NR, MR and MCS designed the study, performed the statistical analysis, wrote the protocol and wrote the first draft of the manuscript. Authors AB, CC, AR and LC managed the analyses of the study. Author AR managed the literature searches. All authors read and approved the final manuscript.

Article Information

DOI: 10.9734/JAMMR/2017/33972

Editor(s):

(1) Franciszek Burdan, Experimental Teratology Unit, Human Anatomy Department, Medical University of Lublin, Poland and Radiology Department, St. John's Cancer Center, Poland.

(2) Omid Irvani, Department of Anatomy, National University of Singapore, Yong Loo Lin School of Medicine, Singapore.

(3) Philippe E. Spiess, Department of Genitourinary Oncology, Moffitt Cancer Center, USA and Department of Urology and Department of Oncologic Sciences (Joint Appointment), College of Medicine, University of South Florida, Tampa, FL, USA.

Reviewers:

(1) Ayhan Goktepe, Selcuk University, Konya, Turkey.

(2) Thifhelimbilu Emmanuel Luvhengo, University of the Witwatersrand, South Africa.

(3) T. S. Mahesh Kumar, Rajarajeswari Dental College and Hospital, India.

(4) Jose Francisco de Sales Chagas, Sao Leopoldo Mandic Medical School, Brazil.

Complete Peer review History: <http://www.sciencedomain.org/review-history/19956>

Original Research Article

Received 6th May 2017
Accepted 1st July 2017
Published 8th July 2017

ABSTRACT

Background: In the east of Algeria, the rate of bone tumors is very high, unfortunately the Pathological Anatomy and radiology are not sufficient for evaluation and confirmation of the diagnosis. Bone alkaline phosphatase (BAP) and tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP5b)

*Corresponding author: E-mail: samy.kab@hotmail.com;

were commonly elevated in Ostéosarcoma and Ewing sarcoma patients. The Ostéosarcoma is the most striking tumor in childhood and adolescence and Ewing sarcoma is the second bone tumor after the Ostéosarcoma. Evaluation and failure of the treatment is a major problem in the clinical practice of the bone sarcomas in Algeria.

The objective of this study was to assess the serum BAP and TRAP5b levels and establish the relation between age and serum level of those markers in control population and to study the bone tumors after chemotherapy with the correlation between the serum levels of BAP and TRAP5b before and after chemotherapy in children and adult.

For this, a total of 73 patients: 40 Ostéosarcoma and 33 Ewing sarcoma aged 5-20 years, admitted in the hospital of Constantine named BENBADIS, between January 19, 2013 and January 03, 2015 and 100 patients aged 5- 20 years, as control population were reviewed in a prospective study. Bone alkaline phosphatase (BAP), was measured by using Ysis and tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP5b), by Elisa kit.

Results show that elevated serum levels of these markers are a very good prognostic factor of primary bone tumors as well as monitoring and evaluation tools, and the Difference of rate of markers before and after chemotherapy is good factor for the evaluation of bone sarcoma.

Bone markers BAP and TRAP5b can be used in the evaluation of bone tumors and to assess remodeling during chemotherapy for primary tumors in the children and the adults.

Keywords: BAP; TRAP5b; osteosarcoma; Ewing sarcoma; chemotherapy.

1. INTRODUCTION

Bone is subject to a permanent physiological renewal through the activities of osteoblasts and osteoclasts. Bone remodeling is well realized by cell implementation of formation and resorption processes that maintain the integrity of the bone. However, during various metabolic diseases of the bone, an inequality between these two processes is observed, causing the more often a loss of bone mass [1]. Recently, the isolation and characterization of several compounds of the bone matrix have enabled the development of biochemical markers of bone remodeling [2]. They use either the measurement of enzyme activity related to the activity of bone cells, or the measure of a component of bone matrix released into circulation.

Bone alkaline phosphatase (BAP), for formation and tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP5b), for bone resorption. The markers of formation and resorption activity are differentiated [3,4], the specificity and sensitivity of these markers have forward considerably, allowing exploration reliable, noninvasive, inexpensive.

The Ostéosarcoma is a first primary tumor in childhood and adolescence and Ewing sarcoma is the most frequent second bone tumor after the Ostéosarcoma it appears at the young adult and children Ewing sarcoma and Ostéosarcoma have the same epidemiological features, both with a peak incidence rate [5,6,7].

Treatment failure is a major problem in clinical practice of bone sarcomas in Algeria. The

survival rates of Ostéosarcoma and Ewing sarcoma have remained stagnant at 65-70% for more than 30 years. The three-drug chemotherapy used for bone tumor therapy was cisplatin, doxorubicin and methotrexate.

The use of primary chemotherapy and conservative surgery by the development of multidisciplinary treatment have significantly improved survival of children affected by bone tumors, but in the east of Algeria the rate of bone tumors is very high, unfortunately it is poorly diagnosed, and poorly monitored and evaluated.

The biomarkers are practical for the clinical evaluation, but poorly documented during primary tumors [8] they can be practical in assessing and quantifying and remodeling in young carriers of primary tumors biochemical markers of bone remodeling ,most sensitive bone formation are (BAP) measured in the blood. Serum levels (BAP) have been reported as functional for the prognosis of bone tumors [9,10,11]. The objective of this study was to assess the serum levels of BAP and TRAP5b and create the relation between age and serum level of those markers to study the evaluation of bone tumors after chemotherapy with the study of the correlation between the serum levels of BAP and TRAP5b before and after chemotherapy in children and adult.

2. PATIENTS AND METHODS

Between January 19, 2013 and January 03, 2015 a total of 73 patients : 40 Ostéosarcoma and 33

Ewing sarcoma (aged between 5 and 20 years) admitted in the hospital of Constantine named BENBADIS were reviewed in a prospective study. The inclusion criteria were a primary bone tumor confirmed by Pathological Anatomy and radiology study and postoperative pathology. Benign tumors were excluded from the study. As a control group, 100 participants (aged between 5 and 20 years) with any disease likely to affect bone metabolism or with a history of recent fracture were reviewed.

The blood sample of the patients was taken before and after taking the chemotherapy drugs, namely: cisplatin, doxorubicin, and methotrexate.

Blood sampling is performed in a semi-seated vein by venipuncture position on the heparin tubes, the samples are then centrifuged at 4° during Min at 4000 rpm. The blood plasma is divided into two aliquots: one for the determination of bone biomarkers and the other for reserving and numbered samples that must be protected from light.

Bone alkaline phosphatase was evaluated with Ysis Analyzer (IDS immune Diagnostics Systems, Paris, France) and TRAP5Bb levels with Elisa kit (IDS Immunodiagnosics Systems).

The normal adult serum BAP level is <15ng/ml and the normal adult serum TRAP5b level is ≤ 2.03ng/ml for male and ≤ 2.64ng/ml for female. The statistical analysis performed using Excel Stat software. Quantitative variables are expressed in means ± distance - type and category-specific variables in percentage of different modalities of different modalities. The test of chi 2 was used to compare differences between groups for qualitative variables. The search for association between continuous variables is done by calculating Spearman and Mann-Whitney correlation coefficient. To determine the effects of those resorption and bone formation, we applied the ANOVA model

including variables as covariates. Data of each result are presented as means±SD Normality was tested using the Kolmogorov–Smirnov test at p<0.05 level.

3. RESULTS

In this study, 73 patients with localized bone sarcoma were included: 40 with osteosarcoma (22 male and 18 female) and 33 with Ewing sarcoma (18 male 15 female).100 patients were served as a control population. The mean age of patients and controls is shown in (Table 1).

The serum BAP and TRAP5B levels in the group of controls Varies, practically, in a similar manner as a function of age. These peaked at14 years in male and 10 years Then thrown at the level of the 20-year in adults (Fig. 1).

Evaluation of the levels of BAP and TRAP5b before and after chemotherapy in female and male Fig. 2(a, b), Fig. 3(a, b) show a diminution of the level of markers after chemotherapy. The decrease of those markers in male is concomitant with their decrease in female In osteosarcoma the decrease of the level of BAP after chemotherapy (from 43.51 ng/ml to 17.64 ng/ml) in male is concomitant with the decrease of the level of BAP in female from48.14 ng/ml to 17.29 ng/ml and the decrease of the level of TRAP5b after chemotherapy from =6.59 ng/ml to 2.41 ng/ml in male is concomitant with the decrease of the level of TARP5b in female from 6.93 ng/ml to 2.13 ng/ml. in Ewing sarcoma the decrease of the level of BAP after chemotherapy from42.94 ng/ml to 16.24 ng/ml in male is concomitant with the decrease of the level of BAP in female from. 50.84 ng/ml to 16.42 ng/ml and the decrease of the level of TRAP5b after chemotherapy from =5.99 ng/ml to 2.09 ng/ml in male is concomitant with the decrease of the level of TRAP5b after chemotherapy from 6.43 ng/ml to2.39 ng/ml in female there are a high variation in the level of BAP and TRAP5b before and after chemotherapy.

Table 1. Characteristics (Number and mean age) of Attained patients by primary bone tumor and control population

	Male		Female	
	Number	Mean age	Number	Mean age
Osteosarcoma	22	13.3±1.7 (range 5-20)	18	12.6±2.5 (range 4-19)
Ewing sarcoma	18	11.7±5.2 (range 4-19)	15	11.3±7.9 (range 3-18)
Controls	50	13.6±3.9 (range 3-20)	50	13.3±4.9 (range 3-20)

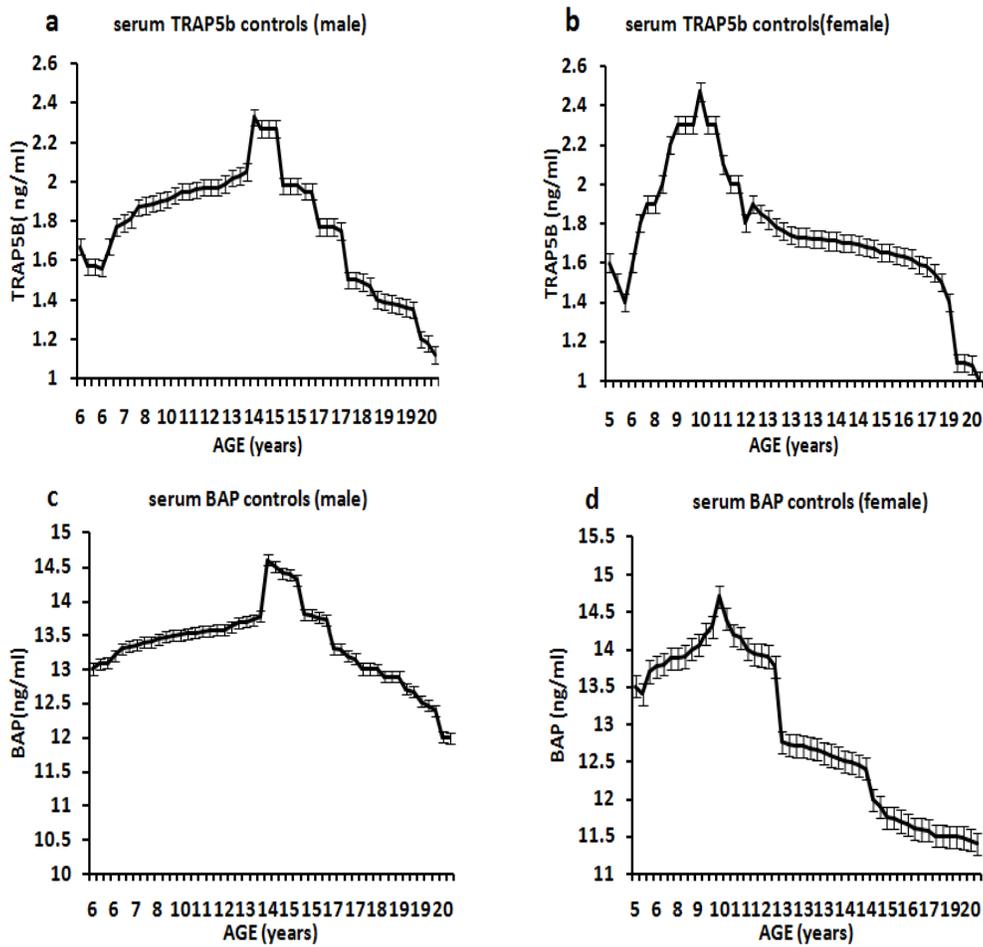


Fig. 1. The serum level variation with age of TRAP5b in male (a) and female (b) and BAP in male (c) and female (d) in the control population

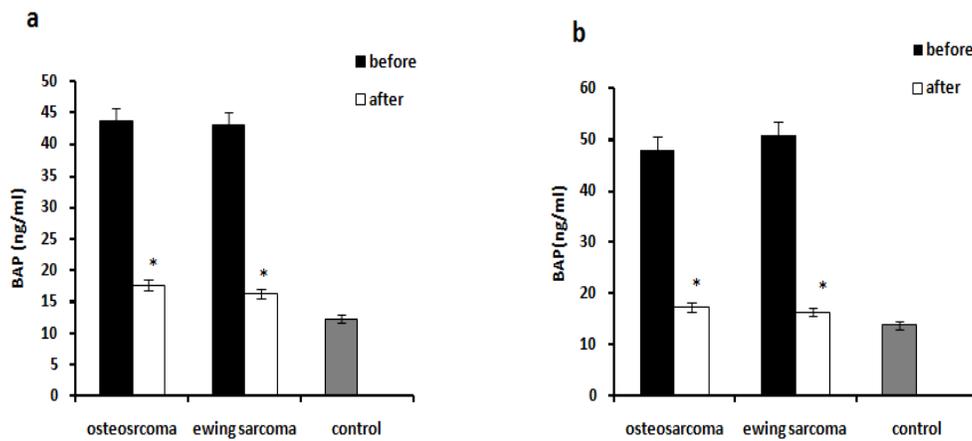


Fig. 2. BAP level in Osteosarcoma and Ewing sarcoma before and after chemotherapy in male (a) and female (b). Values represent means \pm SD (N=73)

The chi 2 test was used to discriminate statistical difference between each tumor before and after chemotherapy ($p < 0.05$)

Study shows that there are significant correlations between the serum BAP and TRAP5B levels in control ($r = 0,67$) ($p = 0,004$), in male and ($r = 0,69$) ($p = 0,0047$) in female, but there were no significant correlation between the serum BAP and TRAP5B levels in the patient

attained by Ostéosarcoma before the chemotherapy ($r = 0,60$) ($p = 0,58$) and there were no significant correlations between the serum BAP and TRAP5B levels in the patient with the Ewing sarcoma before the chemotherapy ($R = 0,80$) ($p = 0,3$).

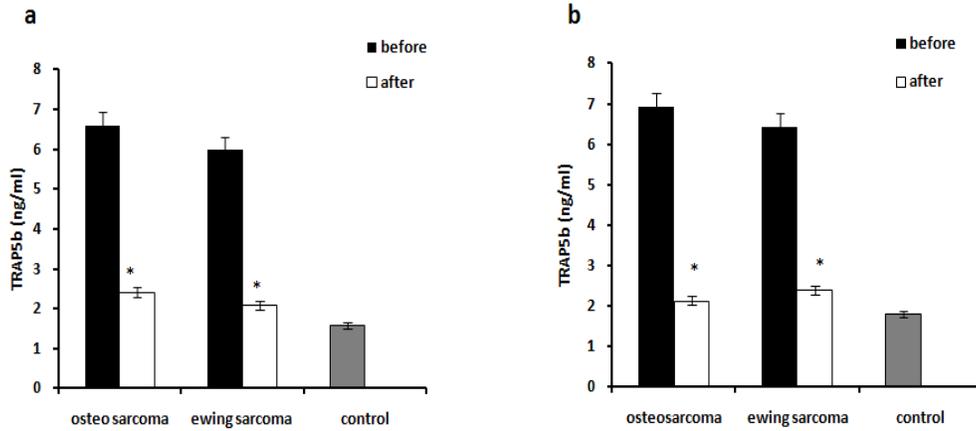
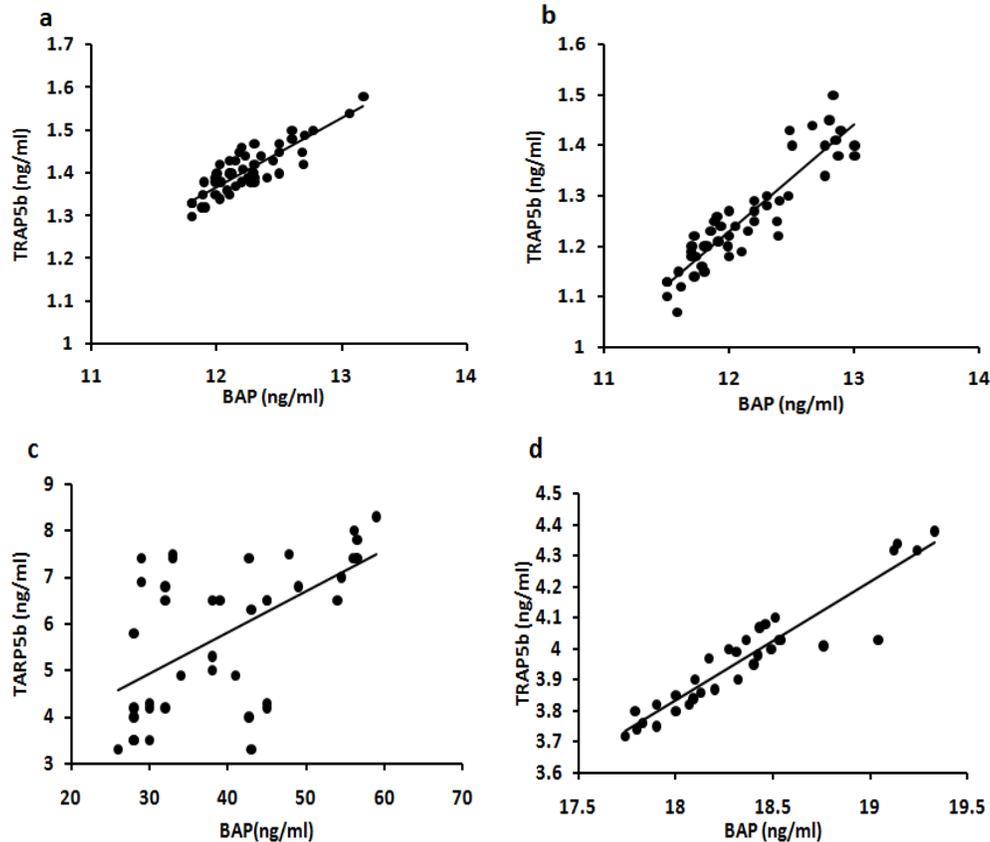


Fig. 3. TRAP5b level in osteosarcoma and Ewing sarcoma before and after chemotherapy in male (a) and female (b). Values represent means \pm SD (N=73)
 The chi 2 test was used to discriminate statistical difference between Each tumor before and after chemotherapy ($P < 0.005$) and ($0.352 < r < 0.903$)



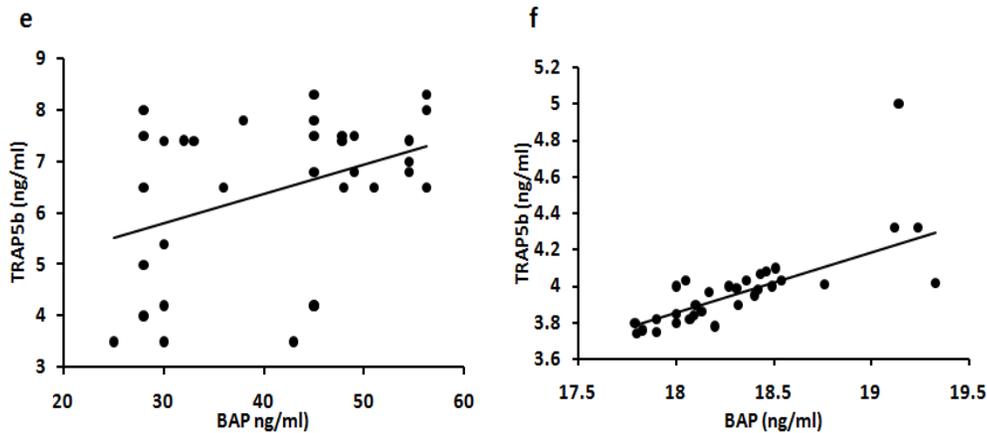


Fig. 4. The correlation between BAP and TRAP5b in control male (a) and female (b), in osteosarcoma before (c) and after (d) chemotherapy and in Ewing sarcoma before (e) and after (f) chemotherapy

The result of non-parametric test for linkage analysis between two quantitative variables: Test Spearman So there is a positive link between 2 quantitative variables studied

There is a significant correlation between the serum BAP and TRAP5B levels in the patient attained by Ostéosarcoma after the chemotherapy ($r = 0,37$) ($p = 0,004$) and a significant correlation between the serum BAP and TRAP5B levels in the patient with Ewing sarcoma after chemotherapy ($r = 0,62$) ($p = 0,0039$).

4. DISCUSSION

The assessment of BAP and TRAP5b is simple, rapid, and provides valuable information for patients with osteosarcoma and Ewing sarcoma. Serum biomarkers is confirmed in different cancers [4,11]. Little studies have explored the prognostic value of serum biomarkers in sarcoma patients [11,12] and so little is known about their prognostic value especially in bone sarcomas. The BAP levels on Ostéosarcoma and Ewing sarcoma were evaluated with others methods [11,12,13] but not with markers and there was no significant publication bias during analytic process [13]. The evaluation of levels BAP and TRAP5B at the children and the teenagers is difficult because these levels are generally higher than at the adults [14,15,16]. The Normal value of BAP and TRAP5b is complicated in preadult osteosarcoma and Ewing patients. The results of subgroup analyses revealed similar prognostic role of BAP and TRAP5B between adult and preadult patients. However, more efforts are required to refine the prognostic value of BAP and TRAP5b by different age, especially among preadult patients. Metastasis is the most crucial

prognostic factor in osteosarcoma and Ewing sarcoma patients [17,18].

This article introduces more definite markers of the bone training and bone resorption, respectively. The Study shows that there are significant correlations between the serum BAP and TRAP5B levels in female and the male. But there were not significant correlations between the serum BAP and TRAP5B levels in patient introducing an Ostéosarcoma before the chemotherapy and between the serum BAP and TRAP5B levels in patient with the Ewing sarcoma before the chemotherapy. Result means that it exists specificity in the diagnosis of tumor with the aid of markers and Can us confirm this result by significant correlation between the serum BAP and TRAP5B levels in patient attained by Ostéosarcoma after chemotherapy and correlation between the serum BAP and TRAP5B levels in patients attained by Ewing sarcoma after the chemotherapy.

BAP is an active actor in calcification and skeletal mineralization, it is in the plasmatique membrane of ostéoblastes [4,19]. TRAP5B is secreted by ostéoclastes and was defended as biomarker of activity and BAP is for bone resorption activity, BAP can be mainly lead to the variability of the rate of bone growth at the teenagers and different groups of age and at different individuals [11,20].

Significant correlation between the serum TRAP5b levels and BAP levels in the patient with

osteosarcoma and Ewing sarcoma after and before chemotherapy can be interpreted by transforming osteoblasts in osteosarcoma would disrupt the tight control of proliferation and progressively express the genes associated with cell differentiation, causing a constantly high level of BAP [21,22]. It is reported that BAP and TRAP5b levels were significantly increased in osteoblastic subtype of osteosarcoma and Ewing sarcoma than in other subtypes [23]. In addition, osteosarcoma metastasis are associated with expansion and infiltration of tumor cells, stimulating local secretion of cytokines or growth factors and causing the activation of osteoclasts, which aggravate the severity of osteolysis accompanying BAP and TRAP5b elevation [10,11,24]. The study of Han and al. [23] indicated that the matrix metalloproteinases (MMPs) can be secreted by the cancer cells to dissolve extracellular matrix, which may also lead to the rise of BAP and TRAP5b. It is reasonable to assume that osteosarcoma and Ewing sarcoma progression, invasion, or metastasis would aggravate osteolysis and elevate BAP and TRAP5b.

In this study, we found a diminution in the level of BAP and TRAP5b after chemotherapy in male and in female in osteosarcoma and in Ewing sarcoma, the largest studies of chemotherapy for bone sarcomas are in the pediatric population. Although increasing age is often found to be an adverse prognostic factor, few studies are aimed at assessing regimens specifically in the adult population. Osteosarcoma and Ewing sarcoma have peak incidences in the pediatric and young adult population, but also occur in adults [11,25,26]. It is reported that, in most patients with initial elevated BAP, the values decreased to be normal after preoperative chemotherapy [27,23,28]. The Rizzoli Institute [28] analyzed BAP value after neoadjuvant chemotherapy and surgery in patients with initial high levels of the enzyme, but failed to find a significant relationship with relapse. However, Bramer and al [27] and Han and al [23], indicated that elevated postchemotherapy BAP correlated with TRAP5b after chemotherapy. Decrease of BAP and TRAP5b level during clinical therapy may be a symptom of a positive reaction to treatment and disease remission.

5. CONCLUSION

In conclusion, the study shows that the levels of serum BAP and TRAP5b are strongly correlated with each other. This correlation is useful for the

evaluation of Osteosarcoma and Ewing sarcoma. The evaluation of serum BAP and TRAP5b is a new clinically useful approach for the confirmation, evaluation and monitoring of primary bone tumors after chemotherapy.

The BAP and TRAP5b serum allow an evaluation of bone activity. However, practical recommendations on the use of bone markers are needed. The search for new reliable prognostic factors that can help to allocate patients to the best treatment and to improve the end result must continue.

CONSENT

It is not applicable.

ETHICAL APPROVAL

It is not applicable.

ACKNOWLEDGEMENTS

Authors are thankful to Mrs. K Chahrazed, Mr. K Amdjad Yanis, Dr. M Talhi, Dr. A Bouhouhou, Dr. S Issa, Dr. A Ghouati, Inserme Paris, Orthopedic Service Hospital of Constantine.

COMPETING INTERESTS

Authors have declared that no competing interests exist.

REFERENCES

1. Jiang YX, Tang SY, Wu XP, Yang LF, Liao EY. Biochemical markers of age-related changes in bones turnover and bone mineral density in healthy Chinese men. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2008;33(1):53-6.
2. Guo Q, Fan P, Luo J, Wu S, Sun H, He L, Zhou B. Assessment of bone mineral density and bone metabolism in young male adults recently diagnosed with systemic lupus erythematosus in China. *Lupus*; 2016. pii: 0961203316664596
3. Wang J, Pei F, Tu C, Zhang H, Qiu X. Serum bone turnover markers in patients with primary bone tumors. *Oncol.* 2007;72: 338–42.
4. Kabouche Samy, Martine Cohen Solal, Corrine Collet, Agnes Ostertag, Maza Rabeh, Leila Rouabah, Abdelkader

- Rouabah. The evaluation of the primary bone tumors by bone markers. *IJPSR*. 2017;8(1):101-106.
5. Whelan J, McTiernan A, Cooper N, Wong YK, Francis M, Vernon S, Strauss SJ. Incidence and survival of malignant bone sarcomas in England 1979-2007. *Int J Cancer*. 2012;131:E508-517.
 6. Damron TA, Ward WG, Stewart A. Osteosarcoma, chondrosarcoma, and Ewing's sarcoma: National Cancer Data Base report. *Clin Orthop Relat Res*. 2007; 459:40-47.
 7. Mirabello L, Troisi RJ, Savage SA. Osteosarcoma incidence and survival rates from 1973 to 2004: Data from the surveillance, epidemiology, and end results program. *Cancer*. 2009;115:1531-1543.
 8. Shoji S, Tadahiko K, Jun F, Taisuke F, Mitsuo O. A novel assessment method of serum alkaline phosphatase for the diagnosis of osteosarcoma in children and adolescents. *J Orthop Sci*. 2014;19:997-1003.
DOI: 10.1007/s00776-014-0617-0
 9. Hu T, Yang Q, Xu J, Zhang Z, He N, Du Y. Role of β -isomerized C-terminal telopeptides (β -CTX) and total procollagen type 1 amino-terminal propeptide (tP1NP) as osteosarcoma biomarkers. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(1):890-6.
eCollection 2015.
 10. Hao H, Chen L, Huang D, Ge J, Qiu Y, Hao L. Meta-analysis of alkaline phosphatase and prognosis for osteosarcoma. *Eur J Cancer Care (Engl)*; 2016.
DOI: 10.1111/ecc.12536
 11. kabouche Samy, Maza Rabeah, Talhi Mehdi, Sadki Issa, Rouabah Abdelkader, Rouabah Leila. The confirmation of diagnosis of primary bone tumors by serum alkaline phosphatase and tartrate-resistant acid phosphatase in children and adolescents: 10.20959/wjpps201611-7966.
 12. Li MX, Liu XM, Zhang XF, Zhang JF, Wang WL, Zhu Y, Dong J, Cheng JW, Liu ZW, and Ma L, et al. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. *Int J Cancer*. 2014;134:2403-2413.
 13. Hao MMed H, Chen MMed L, Huang MMed D, Ge MMed J, Qiu MMed Y, L. Hao MD. Meta-analysis of alkaline phosphatase and prognosis for osteosarcoma. *Eur J Cancer Care (Engl)*; 2016.
 14. Rauchenzauner M, Schmid A, Heinz-Erian P, et al. Sex and age-specific reference curves for serum markers of bone turnover in healthy children from 2 months to 18 years. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2007; 92(2):443-449.
 15. Turan S, Topcu B, Gökç I, et al. Serum alkaline phosphatase levels in healthy children and evaluation of alkaline phosphatase z-scores in different types of rickets. *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology*. 2011;3(1): 7-11.
 16. Szulc P, Seeman E, Delmas PD. Biochemical measurements of bone turnover in children and adolescents. *Osteoporosis International*. 2000;11(4): 281-294.
 17. Nakamura T, Matsumine A, Matsubara T, Asanuma K, Uchida A, Sudo A. Clinical significance of pretreatment serum C-reactive protein level in soft tissue sarcoma. *Cancer*. 2012;118(4):1055-61.
DOI: 10.1002/cncr.26353
Epub 2011 Jul 14
 18. Wang B, Chen Y, Song Y, Wang ES, Zheng D, Qu F, Zhou JH. Correlation between follicle-stimulating hormone and total procollagen I N-terminal propeptide in perimenopausal women. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2015;44(1):85-9.
 19. Brown JP, Albert C, Nassar BA, et al. Bone turnover markers in the management of postmenopausal osteoporosis. *Clin Biochem*. 2009;42:929-42.
 20. Zhang B, Deng L, Wu H, Lu X, Peng L, Wu R, Guo W, Chen J, Li L, Zhao J. Relationship between long-term use of a typical antipsychotic medication by Chinese schizophrenia patients and the bone turnover markers serum osteocalcin and β -CrossLaps. *Schizophr Res*; 2016. pii: S0920-9964(16)30316-4
 21. Stein GS, Lian JB, Owen TA. Relationship of cell growth to the regulation of tissue-specific gene expression during osteoblast differentiation. *The FASEB Journal*. 1990;4(13):3111-3123.
 22. Limmahakhun S, Pothacharoen P, Theera-Umpon N, et al. Relationships between serum biomarker levels and clinical presentation of human osteosarcomas. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2011;12(7):1717-1722.

23. Han J, Yong B, Luo C, Tan P, Peng T, Shen J. High serum alkaline phosphatase cooperating with MMP-9 predicts metastasis and poor prognosis in patients with primary osteosarcoma in Southern China. *World Journal of Surgical Oncology*. 2012;10. Article 37.
24. Ambroszkiewicz J, Gajewska J, Klepacka T, Chelchowska M, Laskowska-Klita T, Woźniak W. Clinical utility of biochemical bone turnover markers in children and adolescents with osteosarcoma. *Advances in Medical Sciences*. 2010; 55(2):266–272.
25. Boon E, van der Graaf WT, Gelderblom H, Tesselaar ME, van Es RJ, Oosting SF, de Bree R, van Meerten E, Hoeben A, Smeele LE, Willems SM, Witjes MJ, Buter J, Baatenburg de Jong RJ, Flucke, Peer PG, Bovée JV, Van Herpen CM. Impact of chemotherapy on the outcome of osteosarcoma of the head and neck in adults. *Head Neck*; 2016.
26. Wagner MJ, Livingston JA, Patel SR, Benjamin RS. Chemotherapy for Bone Sarcoma in Adults. *J Oncol Pract*. 2016;12(3):208-16.
27. Bramer JAM, Abudu AA, Tillman RM, Carter SR, Sumathi VP, Grimer RJ. Pre- and post-chemotherapy alkaline phosphatase levels as prognostic indicators in adults with localised osteosarcoma. *European Journal of Cancer*. 2005;41(18):2846–2852.
28. Bacci G, Picci P, Ferrari S, et al. Prognostic significance of serum alkaline phosphatase measurements in patients with osteosarcoma treated with adjuvant or neoadjuvant chemotherapy. *Cancer*. 1993; 71(4):1224–1230.

© 2017 Samy et al.; This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Peer-review history:
The peer review history for this paper can be accessed here:
<http://sciencedomain.org/review-history/19956>



THE CONFIRMATION OF DIAGNOSIS OF PRIMARY BONE TUMORS BY SERUM ALKALINE PHOSPHATASE AND TARTRATE-RESISTANT ACID PHOSPHATASE IN CHILDREN AND ADOLESCENTS

**kabouche Samy*, Maza Rabeh, Talhi Mehdi, Sadki Issa, Rouabah Abdelkader,
Rouabah Leila**

Department of Biochemistry and Cellular and Molecular Biology. faculty of Science,
University of Constantine 1, 25000, Algeria.

Article Received on
30 August 2016,

Revised on 20 Sept. 2016,
Accepted on 11 October 2016

DOI: 10.20959/wjpps201611-7966

*Corresponding Author

kabouche Samy

Department of
Biochemistry and Cellular
and Molecular Biology.
faculty of Science,
University of Constantine
1, 25000, Algeria.

ABSTRACT

Background: a high serum alkaline phosphatase (PAO) and (TRAP5b) level is valuable for the diagnosis of primary bone tumors in adults, and teenagers. PAO and TRAP5b levels are affected by age, gender, and pubertal stage. We presumed that serum levels of PAO and TRAP5b would have a strong correlation and would be useful for the diagnosis of bone tumors in teenagers. **Aim:** this study was to evaluate the correlation between the serum levels of PAO and TRAP5b and to investigate the validity in the differential diagnosis of bone tumors in children and adolescents. **Methods:** this is an prospective study, we examined 40 patients admitted to our hospital of Constantine named benbadis in the north of Algeria Between from January 19, 2014 to January 03, 2015, aged 5–20 years, including 34 with osteosarcoma, 6

with Ewing's sarcoma, and with 100 controls. We evaluated the serum levels of PAO and TRAP5b, both obtained by preoperative examination. **Results:** There were significant correlations between the serum PAO and TRAP5b levels in the patients ($r = 0.705$) ($p = 0.005$) in males and ($r = 0.780$) ($p = 0.0067$) in females, There were also significant correlations between TRAP5b levels and PAO in controls ($r = 0.809$), ($p = 0.008$), in male ($r = 0.790$), ($p = 0.02$), in females. The level of PAO and TRAP5b have strong relation with age and they are always higher in female than the males in the patients and controls. **Conclusions.** The results suggest that PAO and TRAP5b is useful in the confirmation of diagnosing of primary bone tumors in children and teenagers and adult.

KEYWORDS: PAO, TRAP5b, primary bone tumors.

INTRODUCTION

Bone tumors are rare and constitute about 6-10% of childhood tumors. Ewing sarcoma, is the second most common malignant bone tumor after osteosarcoma. Occurring mainly in children and young adults; it accounts for 3 % of childhood malignancies. Ewing sarcoma and osteosarcoma have similar epidemiological features, both with a peak incidence rate during the second decade of life. Osteosarcoma has a second incidence peak after 60. The biomarkers are useful for the clinical evaluation were but poorly documented during primary tumors^[1] They can be useful in assessing and quantifying followed and remodeling in young carriers of primary tumors. Biochemical markers of bone remodeling most sensitive, bone formation are (PAO) measured in the blood. Serum levels of serum alkaline phosphatase (PAO) have been reported as useful for the prognosis of bone tumors.^[3] We know that the evaluation of serum PAO is very difficult in children and adolescents because are generally higher in adults^[4] On the other hand, serum (TRA5b), which has been advocated as a marker of bone resorption are measured at 75-92% of the total acid phosphatase in children^[1] Bone is subject to a permanent physiological renewal through the activities of osteoblasts and osteoclasts. Bone remodeling is well realized by cell implementation of formation and resorption processes that maintain the integrity of the bone under the intricate action systemic hormones and local mediators. However during various metabolic diseases of the bone, an imbalance between these two processes is observed, causing the more often a loss of bone mass.^[5] Recently, the isolation and characterization of several compounds of the bone matrix have enabled the development of new biochemical markers of bone remodeling.^[6] They use either the measurement of enzyme activity related to the activity of bone cells, or the measure of a component of bone matrix released into circulation.

The markers of formation and resorption activity are differentiated, although some of them (to some degree)^[7] are the simultaneous reflection of the two activities. The specificity and sensitivity of these markers have advanced considerably, allowing Exploration reliable, noninvasive, inexpensive, bone turnover. Although this study is difficult because of the complexity of bone metabolism and the required technical^[1] implementation is valuable for monitoring primary bone tumors.

The aim of this study was to evaluate the correlation between the serum levels of PAO and TRAP5b in the confirmation in differential diagnosis of primary bone tumors in children and adolescents.

PATIENTS AND METHODS

We reviewed a high number of children and adolescents admitted to our hospital of Constantine named benbadis in the north of Algeria (aged between 5 and 20 years old) for an prospective study from January 19, 2014 to January 03, 2015, there were 34 osteosarcoma, 6 ewing sarcoma. All tumors were confirmed by postoperative pathology. As a control group, we also reviewed 100 non-tumor patients. Children and adolescents with any disease likely to affect bone metabolism or with a history of recent fracture were not included in the controls. (Table 1) Blood sampling shall be effected fasting semi sitting by venipuncture frank position on heparin tubes placed immediately in ice hiding the light sent to the laboratory of biochemistry CHU Constantine in a maximum time of happiness, centrifuged rightly 4000 rpm .the blood plasma is divided into 2 one aliquot for assay and the other is reserved and numbered samples were codified and has retained the shelter of the light.

Blood samples were collected to assess the biomarkers of bone remodeling. The following methods were used to measure the biomarkers; bone alkaline phosphatase on Ysis analyzer (IDS immune Diagnostics Systems, Paris, France) and TRAP5Bb levels using Elisa kit (IDS Immuno Diagnostics Systems).

The normal adult serum PAO level is $<15\text{ng/ml}$ and The normal adult serum TRAP5b level is $\leq 2.03\text{ng/ml}$ for Male and $\leq 2.64\text{ng/ml}$ for female.

The statistical analysis performed using EXEL STAT software. Quantitative variables are expressed as means \pm standard deviation and categorical variables as a percentage of different modalities. The chi 2 test was used to compare differences between groups for qualitative variables. The search for association between.

Continuous variables are done by calculating Spearman and Mann-Whitney correlation coefficient. To determine the effects of those resorption and bone formation, we applied the ANOVA model including variables as covariates. For all tests, the statistical significance was set at 0.05.

RESULTS

The serum PAO and TRAP5b levels in each group are shown in Table 2. These serum PAO levels were significantly higher in patients with osteosarcoma and ewing sarcoma than in the controls . The serum TRAP5b levels were significantly higher in patients with osteosarcoma and ewing sarcoma than in the controls there is hight diference in level of PAO and TRAP5b serum between male and femal in patient and controls the level of PAO is higher in femal than male and the level of TRAP5b is higher in male than in femal.

Table 1 Grouping of 150 patients with primary bone tumors and control population

	Number of Patient		Mean age	
	Male	female	Male	female
Osteosarcome	15	19	13.3±1.7 (range 7-20)	12.6±2.5 (range 6-20)
Ewing'ssarcoma	3	3	11.7±5.2 (range 3-20)	11.3±7.9 (range 3-20)
controls	50	50	13.6±3.9 (range 5-20)	13.3±4.9 (range 5-20)

Table 2 Average serum PAO and TAP5b

	Gender	PAO(ng/ml)	TRAP5b(ng/ml)
Osteosarcoma	M	42.64 ± 6.92	5.59 ± 1.2
	F	49.14 ± 7.08	6.83 ± 1.74
Ewing's sarcomas	M	39.70 ± 5.38	6.6 ± 3.5
	F	41.60 ± 2.83	7.49 ± 7.4
Controls	M	13.34 ± 0.56	1.24 ± 0.29
	F	14.20 ± 3.75	1.79± 4.32

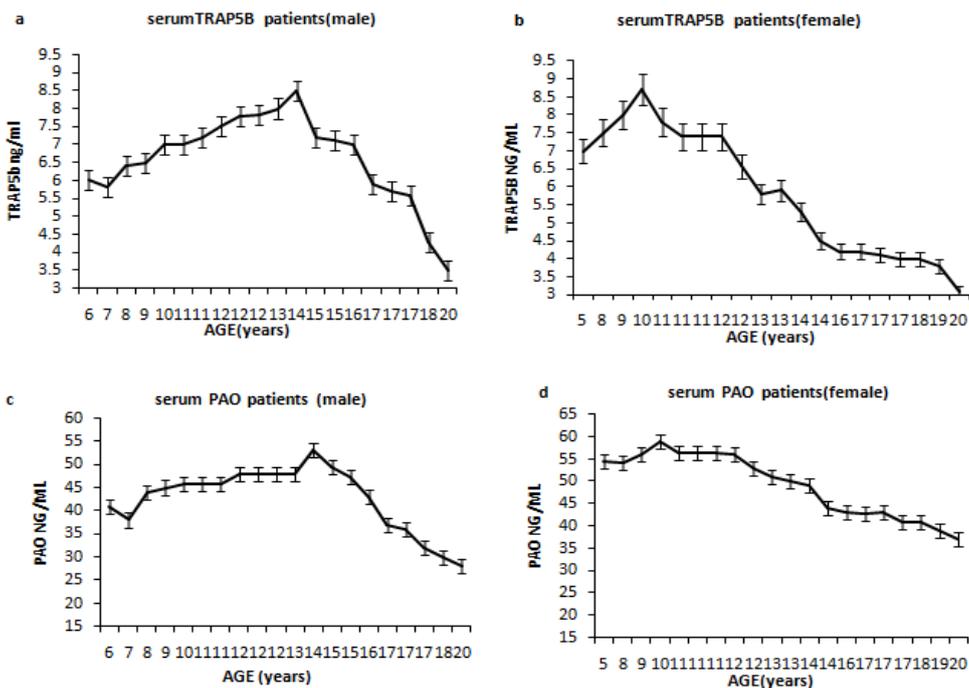


Fig. 1 The mean levels of serum TRAP5b in the group of patients in boys (a) showed a similar tetraphasic pattern. In girls (b), these peaked at 14 years old and then fell to the adult levels at 20 years old. In girls (b), these peaked at 10 years old and then fell to the adult levels at 20 years old and The mean levels of serum PAO in the group of patients in boys (c) showed a similar tetraphasic pattern. In girls (d), these peaked at 14 years old and then fell to the adult levels at 20 years old. In girls (d), these peaked at 10 years old and then fell to the adult levels at 20 years old.

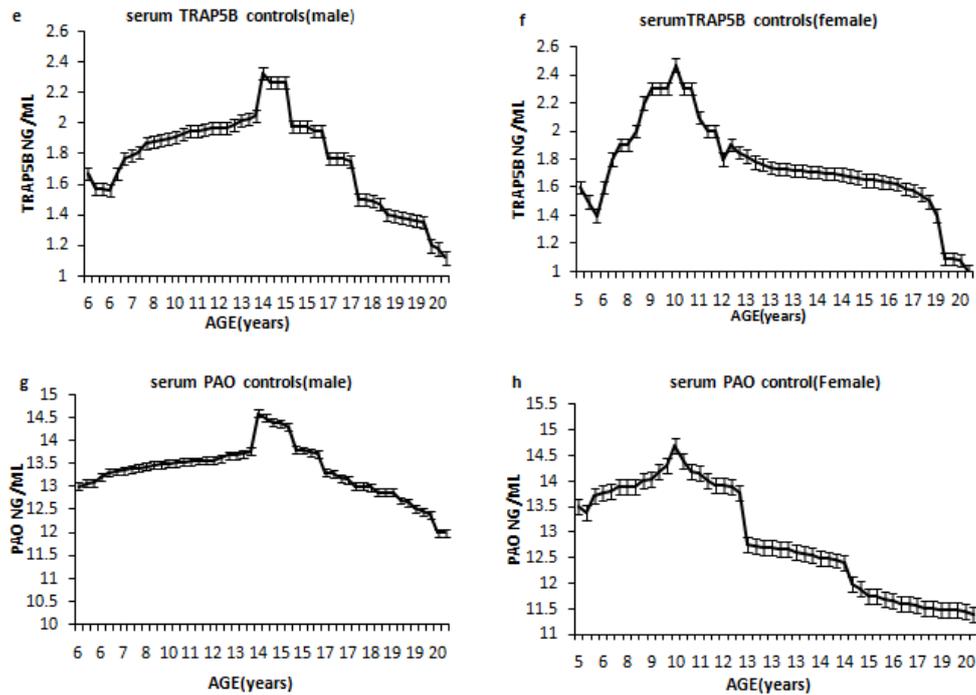


Fig.2 The mean levels of serum TRAP5b in the group of controls in boys (e) showed high variation with age. In girls (f), these peaked at 14 years old and then fell to the adult levels at 20 years old. In girls (d), these peaked at 10 years old and then fell to the adult levels at 20 years old and The mean levels of serum PAO in the group of controls in boys (g) showed a high variation with age. In girls (h), these peaked at 14 years old and then fell to the adult levels at 20 years old. In girls (h), these peaked at 10 years old and then fell to the adult levels at 20 years old.

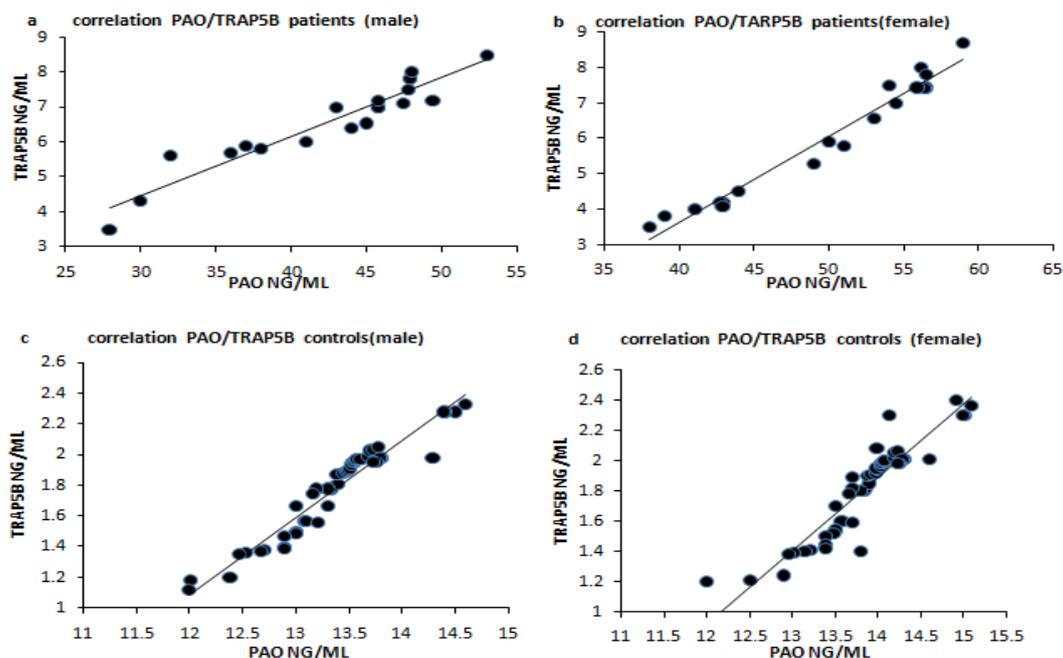


Fig.3 the upper range of adult levels at 20 years old in boys and at 15 years old in girls (Fig. 3a, b). There were significant correlations between the serum TRAP5b levels and PAO levels in the patients ($r = 0.705$) ($p = 0.005$), in males and ($r = 0.780$) ($p = 0.0067$), in females, (Fig. 3a, b). There were also significant correlations between TRAP5b levels and PAO in controls ($r = 0.809$), (Fig. 3c) ($p = 0.008$), in males ($r = 0.790$), (Fig. 3d) ($p = 0.02$), in females.

DISCUSSION

Serum biomarkers is well established in various cancers. However, to avoid erroneous conclusions, the age must be incorporated into such data analysis. Very few studies have investigated the prognostic value of serum biomarkers in sarcoma patients and therefore, little is known about their prognostic value, especially in bone sarcomas Assessment of serum PAO levels in children and adolescents is very difficult because those levels are usually greater than in adults and show a tetraphasic pattern with the highest levels in infancy and puberty and troughs at mid-childhood and at the end of puberty.^[8,9] To establish a novel method for the assessment of serum PAO and TRAP5b levels, we evaluated the correlation between the serum levels of PAO and TRAP5b.

This are more specific markers of bone formation and bone resorption, respectively. In contrast to TRAP5b. Serum pao are widely used in routine biochemical tests and can be performed in almost all laboratories. Therefore, we employed serum PAO and TRAP5b to establish a novel assessment method of bone metabolism in children and adolescents. PAO is

located in the plasma membrane of osteoblasts and plays an active role in bone formation and skeletal mineralization. PAO levels are reported to demonstrate 77–89 % of the total ALP levels in children.^[10] TRAP5b is secreted by osteoclasts and has been advocated as a biomarker of osteoclast activity and bone resorption. Total PAO activity can mostly be In teenagers, due to variations in the rate of bone growth in different age groups and in different individuals, it is considered to be difficult to establish age-specific reference ranges for biochemical markers in a particular pediatric population.^[11] If a high serum PAO level is found in a teenage patient, it is difficult to determine whether it should be suspected as bone tumors, because normal individuals can also reach such a high level because of a pubertal spurt. Moreover, if the level of PAO is over 42.64 in males and 49.14 in females, and if the level of TRAP5b is over 5.59 in male and 6.83 in female the patient should be suspected to have bone tumors and should therefore undergo a detailed examination to clarify the differential diagnosis of bone tumors. Also we can say that the level of PAO and TRAP5b are always higher in female than the males in the patients and controls the PAO is over 42.64 in males and 49.14 in females, TRAP5b is over 5.59 in male and 6.83 in female for patients. PAO is over 13.34 in male 14.20 in female the level of TRAP5b is over 1.24 in male 1.79 in female.

The most relevant result in this study is the diagnosis and monitoring of the primitive bone tumors because it was a decrease in biochemical marker rates with high correlations. The search for new and reliable prognostic factors that can help in allocating patients to the best treatment and improve the final outcome has to continue.

CONCLUSION

In this study, the serum levels of PAO and TRAP5b showed a strong correlation with each other in patients and controls. The level of PAO and TRAP5b proved to be more simple and useful for the confirmation in differential diagnosis of bone primary tumors because of being little affected by age in children and adolescents. Assessment method of serum alkaline phosphatase and tartrate-resistant acid phosphatase in the diagnosis of primary bone tumors in children and adolescents may be clinically useful to evaluate whether a high serum PAO and TRAP5b level is within the normal range or not in children and adolescents.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

ACKNOWLEDGEMENTS

Ms k chahrazed, Mr k amdjad, Dr l chakmak Dr a ghouati, horthopedie service Hospital, Constantine, inserme paris.

REFERENCES

1. Shoji S, Tadahiko K, Jun F, Taisuke F, Mitsuo O: A novel assessment method of serum alkaline phosphatase for the diagnosis of osteosarcoma in children and adolescents. *J Orthop Sci.*, 2014; 19: 997–1003. DOI10.1007/s00776-014-0617-0.
2. Hu T, Yang Q, Xu J, Zhang Z, He N, Du Y: Role of β -isomerized C-terminal telopeptides (β -CTX) and total procollagen type 1 amino-terminal propeptide (tP1NP) as osteosarcoma biomarkers. *Int J Clin Exp Med.* 2015 Jan 15;8(1):890-6. eCollection 2015.
3. Hao H, Chen L, Huang D, Ge J, Qiu Y, Hao L: Meta-analysis of alkaline phosphatase and prognosis for osteosarcoma. *Eur J Cancer Care (Engl).* 2016; Jun 28. doi: 10.1111/ecc.12536
4. Jiang YX1, Tang SY, Wu XP, Yang LF, Liao EY: Biochemical markers of age-related changes in bones turnover and bone mineral density in healthy Chinese men. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.*, Jan, 2008; 33(1): 53-6.
5. Guo Q, Fan P, Luo J, Wu S, Sun H, He L, Zhou B: Assessment of bone mineral density and bone metabolism in young male adults recently diagnosed with systemic lupus erythematosus in China *Lupus*, 2016 Aug 13. pii: 0961203316664596
6. Wang J, Pei F, Tu C, Zhang H, Qiu X. Serum bone turnover markers in patients with primary bone tumors. *Oncol*, 2007; 72: 338–42.
7. Turan S, Topcu B, Go'kc,e I', Gu'ran T, Atay Z, Omar A, Akc,ay T, Bereket A. Serum alkaline phosphatase levels in healthy children and evaluation of alkaline phosphatase z scores in different types of rickets. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*, 2011; 3: 7–11.
8. Turan S, Topcu B, Go'kc,e I', Gu'ran T, Atay Z, Omar A, Akc, ay T, Bereket A. Serum alkaline phosphatase levels in healthy children and evaluation of alkaline phosphatase z scores in different types of rickets. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*, 2011; 3: 7–11.
9. Callegari ET, Gorelik A, Garland SM, Chiang C, Wark JD: ANNALS EXPRESS: Bone turnover marker reference intervals in young women. *Ann Clin Biochem*, 2016 Aug 5. pii: 0004563216665123
10. Ambroszkiewicz J, Gajewska J, Klepacka T, Chełchowska M, Laskowska-Klita T, Woz'niak W. Clinical utility of biochemical bone turnover markers in children and adolescents with osteosarcoma. *Adv Med Sci.*, 2010; 55: 266–72.

11. Singer Fr, Eyre DR. Using biochemical markers of bone turnover in clinical practice. *Cleve Clin J Med.*, 2008; 75: 739-50.



Received on 04 July, 2016; received in revised form, 16 August, 2016; accepted, 02 September, 2016; published 01 January, 2017

THE EVALUATION OF THE PRIMARY BONE TUMORS BY BONE MARKERS

Kabouche Samy *, Martine Cohen Solal, Corrine Collet, Agnes Ostertag, Maza Rabeh, Leila Rouabah and Abdelkader Rouabah

Department of Biochemistry and Cellular and Molecular Biology, Faculty of Science, University of Constantine 1, 25000, Algeria.

Keywords:

**PAO, TRAP5B, CTX,
TP1NP Primary Bone Tumors**

Correspondence to Author:

Kabouche Samy

Department of Biochemistry and Cellular and Molecular Biology, Faculty of Science, University of Constantine 1, 25000, Algeria.

E-mail: martine.cohen-solal@inserm.fr

ABSTRACT: Serum markers reflect a bone cell activity that regulate bone remodeling, bone alkaline phosphatase (PAO), Total Intact Procollagen Type I N-terminal propeptide (TP1NP) for training and tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP5), carboxy-terminal collagen crosslinks (Cross Laps) for bone resorption. These markers are sensitive and early tools, Elevated serum levels of these markers is a very good prognostic factor of primary bone tumors as well as monitoring and evaluation tools. We investigated whether biomarkers of bone formation (PAO, P1NP) and bone resorption (CTX and TRAP5) were modified by chemotherapy. The aim of this study was to evaluate the impact of treatment on serum PAO and TP1NP and TP1NP and TRAP5. **Result:** We found a significant correlation between serum levels of training biomarkers (PAO and TP1NP in the group of patients ($p = 0.0042$) and a strong correlation between PAO and TP1NP In the sick and control groups ($p = 0.00027$) and a strong correlation between TP1NP and TRAP5b in the groups of patients and controls ($p = 0.033$). Bone markers can be used in therapeutic monitoring of experimental bone disorders and to assess remodeling during chemotherapy for primary tumors.

INTRODUCTION: Bone tumors are rare and constitute about 6-10% of childhood tumors. The biomarkers are useful for the clinical evaluation were but poorly documented during primary tumors¹. They can be useful in assessing and quantifying followed and remodeling in young carriers of primary tumors Biochemical markers of bone remodeling most sensitive bone formation are (PAO) and (TP1NP) measured in the blood. To assess bone resorption, immunoassays molecules bridging collagen) and associated peptides (CTX, NTX) in blood or urine are currently the most efficient markers². Serum levels of serum alkaline phosphatase (PAO) have been reported as useful for the prognosis of bone tumors³.

We know that the evaluation of serum PAO is very difficult in children and adolescents because are generally higher in adults⁴. On the other hand, serum (TRA5b), which has been advocated as a marker of bone resorption are measured at 75-92% of the total acid phosphatase in children¹. Bone is subject to a permanent physiological renewal through the activities of osteoblasts and osteoclasts. Bone remodeling is well realized by cell implementation of formation and resorption processes that maintain the integrity of the bone under the intricate action systemic hormones and local mediators. However, during various metabolic diseases of the bone, an imbalance between these two processes is observed, causing the more often a loss of bone mass⁵.

Recently, the isolation and characterization of several compounds of the bone matrix have enabled the development of new biochemical markers of bone remodeling⁶. They use either the measurement of enzyme activity related to the

QUICK RESPONSE CODE 	DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.8(1).101-06
	Article can be accessed online on: www.ijpsr.com
DOI link: http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.8(1).101-06	

activity of bone cells, or the measure of a component of bone matrix released into circulation. The markers of formation and resorption activity are differentiated, although some of them (to some degree)⁷ are the simultaneous reflection of the two activities. The specificity and sensitivity of these markers have advanced considerably, allowing Exploration reliable, noninvasive, inexpensive, bone turnover. Although this study is difficult because of the complexity of bone metabolism and the required technical¹ implementation is valuable for monitoring primary bone tumors.

The aim of our study was to describe biomarkers of formation and resorption in a population of primary bone tumor patients (osteosarcoma, Ewing and fibrosarcoma tumors) and determine the impact of treatment on the coupling resorption / formation.

Patients and Methods: This is a prospective study conducted from January 19, 2014 to January 03, 2015. The patients were enrolled consecutively during hospital visits or were call from the medical records. Inclusion criteria were the presence of documented bone tumor on pathologic analysis. We reviewed the medical records of 17 patients aged between 3 and 60 years. There were, osteosarcoma, Ewing, chondrosarcoma. The number of 17 patients were recruited at the oncology department of Constantine these patients included in our study with proven histologically primitive bone tumors and they were under chemo therapy. Controls are 17 healthy subjects it is composed of students, University employees, hospital and voluntary they are in good health the subject are matched for age and sex.

Data collection: A questionnaire was carried to record all the information necessary to our study with the patient himself and by consulting his medical file.

Blood sample: Blood sampling shall be effected fasting semi sitting by venipuncture frank position on heparin tubes placed immediately in ice hiding the light sent to the laboratory of biochemistry CHU Constantine in a maximum time of happiness, centrifuged rightly 4000 rpm .the blood plasma is divided into 2 one aliquot for assay and the other is reserved and numbered samples were codified and has retained the shelter of the light.

Principle of test: Blood samples were collected to assess the biomarkers of bone remodeling. The following methods were used to measure the biomarkers (Crosslaps, P1NP, Osteocalcin) on Cobas e601 analyzer (Roche Immunodiagnostics, Meylan, France) ; bone alkaline phosphatase on Ysis analyzer (IDS immunoDiagnostics Systems, Paris, France) and TRAP5Bb levels using Elisa kit (IDS ImmunoDiagnostics Systems).

The normal adult serum PAO level is <15ng/ml and The normal adult serum TRAP5B level is ≤ 2.03ng/ml for Male and ≤ 2.64ng/ml for female. The normal adult serum TP1NP level is 15-75ng/ml for Male and 25-90ng/ml for female, The normal adult serum CROSSLAPS level is <584pg/ml for Male and <570pg/ml for female.

Statistical analysis: The statistical analysis performed using Exel Stat software. Quantitative variables are expressed as means ± standard deviation and categorical variables as a percentage of different modalities. The chi 2 test was used to compare differences between groups for qualitative variables. The search for association between continuous variables is done by calculating Spearman and Mann-Whitney correlation coefficient. To determine the effects of those resorption and bone formation, we applied the ANOVA model including variables as covariates. For all tests, the statistical significance was set at 0.05.

RESULTS: women, mean age 32 ± 10 years and men, mean age 27 ± 10. Among our patients, 12% were postmenopausal which 12% are premenopause, 53% of them have had chemotherapy. Our population has a three types of bone tumors 47% and 35% Osteosarcoma Ewing's sarcoma and chondrosarcoma 18%. These patients are carried for determination of bone markers in search of an interest, diagnostic and prognostic monitoring. The number is not relatively large because of the rarity of these tumors (**Table 1**).

We evaluate the correlation between (PAO / TP1NP), (PAO / TRAP5b), (PAO /CROSSLAPSS) (TP1NP / TARP5B), (TP1NP / CrossLaps), (TRAP5b / CrossLaps) in patients and controls and (PAO / TRAP5b), (PAO / CROSSLAPSS), (TP1NP / TARP5B), (TP1NP / Cross Laps),

(TRAP5b / CROSSLAP) in patients. There is a significant correlation between the PAO and serum TP1NP in the group of patients ($P < 0.0042$) and ($0.352 < r < 0.903$) and a significant correlation between the PAO and serum TP1NP in the group of patients and controls ($P < 0.00027$) and ($r = 0.714$) and a significant correlation between serum TRAP5b and TP1NP in the group of patients ($P < 0.033$) and ($0.451 < r < 0.680$).

Serum PAO was 32.7 ± 28.7 ng / ml in patients while 68.5 ± 50.8 ng / ml in the controls the rate TP1NP serum was 83.3 ± 93.5 ng / ml in patients while 400.5 ± 409.4 ng / ml in the controls the serum TRAP5b rate is 2.78 ± 1.98 u / l while in patients and 3.48 ± 1.11 u / l in the controls the serum levels Cross Laps was 2.78 ± 1.98 pg / in patients while 370.6 ± 255.6 pg / ml in controls (Table 2).

TABLE 1: DESCRIPTIVE OF 17 PATIENTS WITH BONE TUMORS AND 17 CONTROL POPULATIONS

Pop	Desc	Patient	Mean age±SD	
	Ostéosarcome	8		
	Ewing	6		
	Chondrosarcome	3	Male	27 ± 10
	Tibia localisation 's tumor	29%	Female	32 ± 13
	Fémur localisation 's tumor	59%		
	Humérus localisation 's tumor	12%		
	Controls	17	Male	27 ± 10
			Female	32 ± 13

TABLE 2: BONE REMODELING BIOLOGICAL PARAMETERS

Mark	Pop	Patient	Controls	P-Value ^a
Bone Alkaline phosphatases		32.7 ± 28.7	68.5 ± 50.8	
Median Bone Alkaline Phosphatases (ng/ml) ^b		24.1 (20.4-27.3)	56.3(24.5-74.3)	<0.05
P1NP (ng/ml)		83.3 ± 93.5	400.5 ± 409.4	
Median P1NP (ng/ml) ^c		53.6 (47.5-89.5)	256.6(93.2-571.6)	<10 ⁻²
TRAP5b (u/l)		2.78 ± 1.98	3.48 ± 1.11	
Median TRAP5b (u/l) ^b		2.18 (1.70-2.76)	3.52(2.61-4.35)	<0.05
Serum Cross Laps (pg/ml)		311.4 ± 136.8	370.6 ± 255.5	
Median serum Cross Laps (pg/ml) ^b		368.5(182.9-429.8)	242.4(205-424.3)	0.80

^a: Mann-Whitney test

^b:median (25th through 75th percentile)

^c:Procollagen type 1 N-terminal Propeptide

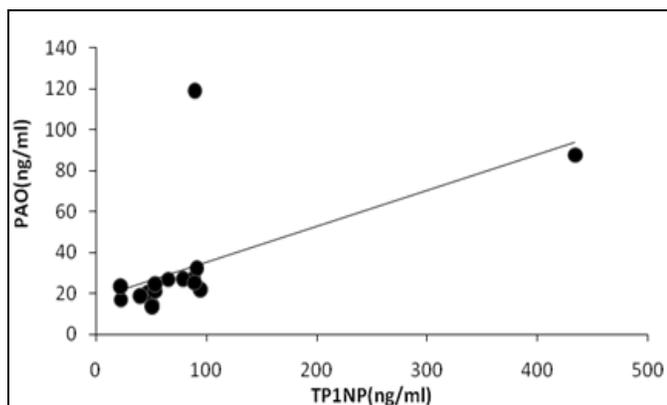


FIG. 1: CORRELATIONS BETWEEN PAO / TP1NP IN (PATIENTS).

Result of non-parametric test for linkage analysis between two quantitative variables: Test Spearman So there is a positive link between 2 quantitative variables studied. The coefficient of determination

determines the percentage of variance explained by the linear regression model. So there is a significant correlation between serum and PAO TP1NP in the group of patients ($P < 0.0042$) and ($0.352 < r < 0.903$).

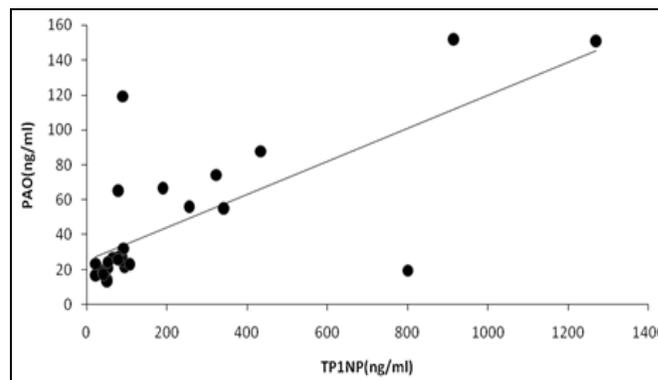


FIG. 2: CORRELATION BETWEEN PAO/TP1NP IN PATIENTS AND CONTROLS

Result of non-parametric test for linkage analysis between two quantitative variables: Test Spearman So there is a positive link between 2 quantitative variables studied.

The coefficient of determination determines the percentage of variance explained by the linear regression model. So there is a significant correlation between serum and PAO /TP1NP in the group of patients and controls ($P < 0.00027$) and ($r = 0.714$).

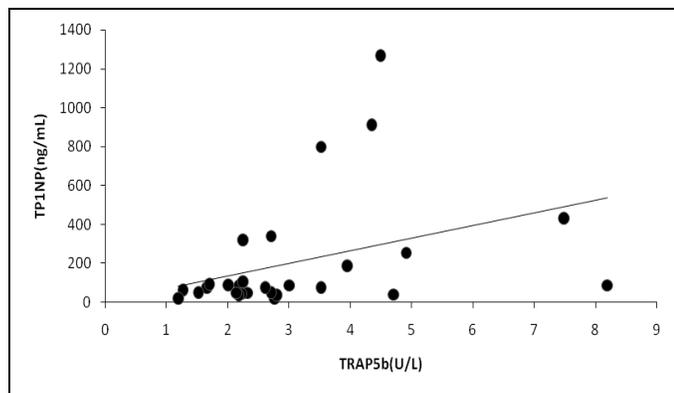


FIG. 3: CORRELATION BETWEEN TP1NP/TRAP5B IN PATIENTS AND CONTROLS

Result of linkage analysis test between two quantitative variables: Pearson correlation so there is a positive link between 2 quantitative variables studied.

The coefficient of determination determines the percentage of variance explained by the linear regression model so there is a significant correlation between serum and TRAP5b TP1NP in the group of patients ($P < 0.033$) and ($0.451 < r < 0.680$)

DISCUSSION: We evaluated the levels of PAO and TP1NP and CrossLaps and TRAP 5b these markers are specific to bone formation and bone resorption. TRAP 5b, serum and TP1NP CROSSLAPSS and PAO are widely used in biochemical tests and routine and may be carried out in almost every laboratory.

TRAP5b is secreted by osteoclasts is advocated as a biomarker of osteoclast activity and bone resorption¹. The total activity PAO can often be attributed to TRAP5b activity, accounting for about 90-92% of total activity PAO.

Children up to 12 years, 80% in children aged 12-18 years and 67% in adults.

The fraction of TRAP5b represents about 75% of total activity DTP in children up to 14 years for girls and 19 for boys and 64% among adults¹.

In this study, there is a strong correlation between serum PAO and TP1NP in the group of patients ($p = 0.0042$) and a strong correlation between PAO and TP1NP in the diseased and control groups ($p = 0.00027$) and a strong correlation between TP1NP and TRAP5b in the groups of patients and controls ($p = 0.033$). The serum PAO tetraphasic show a similar model⁸ Serum levels of average PAO obtained in this study showed a similar pattern tetraphasic these references.

Our results differ from the literature that the average concentration of PAO is 14.2 mg / L⁹. This difference may be due to the choice of study population including gender and age and treatment, and the relatively small number of patients in our study population.

It is interesting to note that the reports of PAO and TP1NP showed a strong correlation in all tumor types. Several studies have shown that markers of bone turnover increased with age. A positive association between age and bone turnover markers (PAO, P1NP, CrossLaps, TRAP5b serum) in a population¹⁵. As well Relate an increase CrossLaps) with age¹⁰. In our study, all markers of bone turnover are higher. Our results show a significant elevation of serum concentrations of CTX¹⁰.

Several studies¹¹ had found a significant increase in both markers of formation (PAO, TP1NP) than those of bone resorption (CrossLaps, TRAP5b). In our patients receiving prolonged, high-dose chemotherapy, there was a significant decrease in concentrations). Our results showed an early decrease in serum important PAO chemotherapy explained by a reduction in osteoblast activity and show a prognostic evaluation and remodeling during chemotherapy for primary tumors. Sectional and longitudinal studies have shown significant correlations, but weak between bone loss and concentrations of bone markers measured at the start of the observation period¹². Bone turnover levels and bone density. Increased bone remodeling was highlighted¹³. It is considered difficult to determine the specific reference biological markers

in a hospital. If a high level of bone marker in serum is in an adolescent patient, it is difficult to determine whether it should be suspected osteosarcoma or Ewing because normal people can also reach such a high level because of a thrust pubertal¹⁴.

The most relevant result in this study is the evaluation and monitoring of the primitive bone tumors golds dune chemotherapy because it is a decrease in biochemical marker rates with high correlations.

CONCLUSION: Nowadays the biochemical study of the bone is under development, the use of biochemical markers of bone metabolism allows to directly evaluate bone remodeling. Concentrations in bone alkaline phosphatase and TRAP5b in serum are sensitive markers, currently used in the biochemical study of bone remodeling, development of all of these biochemical markers requires remodeling evaluation interest during chemotherapy for Primary tumors and prognostic.

In this study, levels of (PAO / TP1NP) and (TP1NP / TRAP5b) serum strongly correlated with each other, this correlation is useful for evaluation of osteosarcoma and Ewing and chondrosarcoma, novel presented is an evaluation method may be clinically useful in assessing whether or PAO TRAP5b or elevated serum TP1NP for confirmation of bone tumors these markers allow an evaluation of the bone activity but they are often limited for the moment looking clinical and are not yet widely used in the treatment of bone tumors. The following proper dosing conditions is mandatory to limit the pre-analytical variability and further studies are needed to determine optimal threshold. However, practical recommendations on the use of these markers of bone turnover are needed.

CONFLICT OF INTEREST: The manuscript is an original article which has not been submitted for publication elsewhere. The author Kabouche samy reports that: I have no conflict of interest and all Authors in this manuscript declares that they have no conflict of interest. This article contain studies with human serum.

ACKNOWLEDGEMENTS: Ms. K Chahrazed, Mr. K Amdjad, Dr. M Talhi, Dr. A Bouhouhou

Dr. S Issa, Dr. L Chakmak Dr. A Ghouati, Horthoppedie service Hospital, Constantine, inserme paris.

REFERENCES:

1. Shoji S, Tadahiko K, Jun F, Taisuke F, Mitsuo O: A novel assessment method of serum alkaline phosphatase for the diagnosis of osteosarcoma in children and adolescents. *J Orthop Sci* (2014) 19:997–1003.DOI10.1007/s00776-014-0617-0.
2. Hu T, Yang Q, Xu J, Zhang Z, He N, Du Y: Role of β -isomerized C-terminal telopeptides (β -CTX) and total procollagen type I amino-terminal propeptide (tP1NP) as osteosarcoma biomarkers. *Int J Clin Exp Med*. 2015 Jan 15; 8(1):890-6. eCollection 2015
3. Hao H, Chen L, Huang D, Ge J, Qiu Y, Hao L: Meta-analysis of alkaline phosphatase and prognosis for osteosarcoma. *Eur J Cancer Care (Engl)*. 2016 Jun 28. doi: 10.1111/ecc.12536
4. Jiang YX1, Tang SY, Wu XP, Yang LF, Liao EY: Biochemical markers of age-related changes in bones turnover and bone mineral density in healthy Chinese men. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2008 Jan; 33(1):53-6..
5. Guo Q, Fan P, Luo J, Wu S, Sun H, He L, Zhou B: Assessment of bone mineral density and bone metabolism in young male adults recently diagnosed with systemic lupus erythematosus in ChinaLupus. 2016 Aug 13. pii: 0961203316664596
6. Wang J, Pei F, Tu C, Zhang H, Qiu X. Serum bone turnover markers in patients with primary bone tumors. *Oncol*. 2007; 72:338–42.
7. Turan S, Topcu B, Go'kc,e I', Gu`ran T, Atay Z, Omar A, Akc,ay T, Bereket A. Serum alkaline phosphatase levels in healthy children and evaluation of alkaline phosphatase z scores in different types of rickets. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2011; 3:7–11.
8. Wang B, Chen Y, Song Y, Wang ES, Zheng D, Qu F, Zhou JH: Correlation between follicle-stimulating hormone and total procollagen I N-terminal propeptide in perimenopausal women. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2015 Jan; 44(1):85-9.
9. Brown Jp, Albert C, Nassar Ba Et Al. Bone turnover markers in the management of postmenopausal osteoporosis. *Clin Biochem*. 2009; 42:929-42.
10. Zhang B, Deng L, Wu H, Lu X, Peng L, Wu R, Guo W, Chen J, Li L, Zhao J: Relationship between long-term use of a typical antipsychotic medication by Chinese schizophrenia patients and the bone turnover markers serum osteocalcin and β -Cross Laps. *Schizophr Res*. 2016 Jul 2. pii: S0920-9964(16)30316-4. doi: 10.1016/j.schres.2016.06.034
11. Boon E, van der Graaf WT, Gelderblom H, Tesselar ME, van Es RJ, Oosting SF, de Bree R., van Meerten E, Hoeben A, Smeele LE, Willems SM, Witjes MJ, Buter J, Baatenburg de Jong RJ, Flucke , Peer PG, Bovée JV, Van Herpen CM: Impact of chemotherapy on the outcome of osteosarcoma of the head and neck in adults. *Head Neck*. 2016 Aug 10. doi: 10.1002/hed.24556
12. Singer Fr, Eyre DR. Using biochemical markers of bone turnover in clinical practice. *Cleve Clin J Med*. 2008; 75:739-50.
13. Garnero P. Biomarkers for osteoporosis management: utility in diagnosis, fracture risk prediction and therapy monitoring. *Mol Diagn Ther*. 2008; 12:157-70

14. Callegari ET, Gorelik A, Garland SM, Chiang C, Wark JD: ANNALS EXPRESS: Bone turnover marker reference intervals in young women. *Ann Clin Biochem*. 2016 Aug 5. pii: 0004563216665123

15. Ambroszkiewicz J, Gajewska J, Klepacka T, Chelchowska M, Laskowska-Klita T, Wozniak W. Clinical utility of biochemical bone turnover markers in children and adolescents with osteosarcoma. *Adv Med Sci*. 2010; 55:266–72.

How to cite this article:

Samy K, Solal MC, Collet C, Ostertag A, Rabeh M, Rouabah L and Rouabah A: The evaluation of the primary bone tumors by bone markers. *Int J Pharm Sci Res* 2017; 8(1): 101-06. doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.8(1).101-06.

All © 2013 are reserved by International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. This Journal licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 Unported License.

This article can be downloaded to **ANDROID OS** based mobile. Scan QR Code using Code/Bar Scanner from your mobile. (Scanners are available on Google Playstore)

Université Constantine 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biochimie et Biologie Moléculaire et Cellulaire

THÈSE EN VUE DE L'OBTENTION

Du Doctorat en science

Biologie Cellulaire et Moléculaire

**THÈME : L'intérêt des biomarqueurs osseux dans le diagnostic, suivi et évaluation des tumeurs osseuses :
L'ostéosarcome et le sarcome d'Ewing**

Présenté par : KABOUCHE SAMY

résumé

Les tumeurs osseuses primaires constituent un problème majeur de la santé publique. L'ostéosarcome et le sarcome d'Ewing sont des maladies rares, touchent les enfants et les jeunes adultes, et sont la conséquence d'altération du remodelage osseux.

Les marqueurs biochimiques du remodelage osseux sont utilisés dans le diagnostic, le pronostic et l'évaluation des métastases osseuses, l'ostéoporose en association avec les techniques d'imagerie.

Cependant, les biomarqueurs osseux de la formation P1NP et PAO et ceux de la résorption osseuse CTX et TRAP5b peuvent être utile dans le diagnostic, l'évaluation et le suivi de l'ostéosarcome et le sarcome d'Ewing.

Dans un premier temps, nous avons décrit les aspects épidémiologiques et thérapeutiques des tumeurs osseuses par une étude rétrospective au niveau du service de centre hospitalo-universitaire ben Badis – Constantine- en Est d'Algérie.

Dans un second temps, nous avons évalué le taux sérique des marqueurs biochimiques de la formation osseuse PAO et P1NP et de la résorption osseuse CTX et TRAP5b chez les patients atteints de l'ostéosarcome (40 cas) et du sarcome d'Ewing (34 cas), par le dosage ELISA de ces biomarqueurs. Ces derniers ont montré une bonne performance dans le diagnostic de l'ostéosarcome et le sarcome d'Ewing en termes de précision avant le traitement, et dans l'évaluation et le suivi après un traitement basé sur une chimiothérapie néoadjuvante. D'autre part, les corrélations de ces marqueurs biochimiques entre eux avant et après le traitement ont permis une évaluation clinique efficace des patients atteints de ces deux types les plus fréquents des tumeurs osseuses primaires.

L'ensemble de notre travail montre un nouvel aspect du diagnostic, évaluation et le suivi de l'ostéosarcome et le sarcome d'Ewing avant que celles-ci soient détectables par imagerie médicale.

Mots clés : Ostéosarcome- Sarcome d'Ewing- Les biomarqueurs osseux – Diagnostic- Tumeurs osseuses primaire

Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire/Université Constantine 1

Inserm unité 1132 biologie de l'os et de cartilage, hôpital Lariboisière paris, france

Année Universitaire : 2017/2018