

Valeurs de référence de la phosphatase alcaline en pédiatrie et variations physiopathologiques

Pediatric reference values for alkaline phosphatase and pathophysiological variations

Roselyne Garnotel

Laboratoire de biochimie-
pharmacologie-toxicologie,
Pôle de biologie territoriale,
CHU Reims, France

Résumé. L'activité de la phosphatase alcaline est un paramètre inclus en biochimie courante dans le bilan hépatique. Ses iso-enzymes sont d'origines cellulaires diverses induisant des variations physiologiques en fonction de l'âge et du sexe. La standardisation des méthodes de dosage de l'activité de la phosphatase alcaline ainsi que de nombreuses études internationales ont permis d'uniformiser les valeurs de référence pédiatriques. Les étiologies des augmentations de l'activité phosphatase alcaline dans le plasma sont bien connues, mais les diminutions de l'activité phosphatase alcaline sont peu explorées et peuvent permettre le diagnostic de certaines pathologies dont l'hypophosphatasie, maladie rare traitable.

Mots clés : *phosphatase alcaline, standardisation, valeurs de référence, hypophosphatasie*

Abstract. Alkaline phosphatase activity is a parameter included in biochemical liver test. These isoenzymes are of various cellular origin inducing physiological variations on age and sex. The alkaline phosphatase activity standardization as well as numerous international studies have made it possible to standardize the pediatric reference values. The hyperphosphatasemia etiologies are very well know but the hypophosphatasemia are hardly explored and can allow the diagnosis of pathologies including hypophosphatasia, a rare treatable disease.

Key words: *alkaline phosphatase, standardization, reference values, hypophosphatasia*

Article reçu le 7 septembre 2020,
accepté le 15 octobre 2020

La phosphatase alcaline (PAL, EC 3.1.3.1) catalyse l'hydrolyse de liaisons phospho-diester de nombreux substrats. Ses enzymes sont localisées au niveau de la membrane cytoplasmique et sont retrouvées dans de nombreux tissus de l'organisme dont le tractus hépatobiliaire, l'épithélium intestinal, les tubules rénaux, l'os et le placenta. La synthèse de la phosphatase alcaline est codée par trois gènes différents qui produisent à trois isoformes subissant des modifications post-traductionnelles qui conduisent à la formation d'un certain nombre d'isoformes [1]. Les isoformes qui prédominent dans le plasma de sujets sains sont principalement d'origines hépatique et osseuse, avec une

forte variabilité en fonction de l'âge pendant la période de croissance osseuse. La technique de dosage de l'activité de la PAL est basée sur la procédure de référence de l'*International federation of clinical chemistry and laboratory medicine* (IFCC) avec un matériel de référence, ce qui a permis d'uniformiser les valeurs de référence qui sont variables en fonction de l'âge et du sexe.

Aspects analytiques et standardisation

La mesure de l'activité de la PAL a été décrite il y a plus de 85 ans et de nombreuses études ont été réalisées et publiées dans les *Annales de Biologie Clinique* [2]. La nature de l'anticoagulant utilisé lors du prélèvement a une grande importance car l'activité de la PAL n'est pas dosable sur plasma EDTA du fait de la complexation de

Correspondance : R. Garnotel
rgarnotel@chu-reims.fr

cations divalents, activateurs de l'enzyme [3]. En 2011, la division scientifique de l'IFCC a recommandé une procédure de référence pour la détermination de l'activité de la PAL, l'utilisation de 4-nitrophénylphosphate comme substrat dans un tampon contenant du 2-amino-2-méthyl-1-propanol et des cations magnésium et zinc à 37 °C [4]. Ce test colorimétrique consiste en un clivage du p-nitrophényl phosphate en phosphate et p-nitrophénol dont la variation est mesurée à 450 nm. L'activité de la PAL est donc proportionnelle à l'augmentation de l'absorbance par unité de temps.

Contrairement à de nombreux matériaux du commerce, un matériau de référence préparé au niveau du Bureau communautaire de référence (BCR 371) à partir de rein de porc qui a été utilisé comme calibrateur de techniques différentes, a démontré sa commutabilité en réduisant de façon considérable des différences inter-techniques [5].

L'utilisation de différentes techniques pour la détermination des différentes isoformes des PAL n'a pas connu de développement important en enzymologie clinique de routine.

Valeurs de référence de la phosphatase alcaline en pédiatrie

L'activité de la PAL dépend de l'élévation des différentes isoformes. On observe des augmentations physiologiques au cours de la grossesse, dues à l'isoenzyme placentaire, et pendant l'enfance (en période de croissance osseuse), dues à l'isoenzyme osseuse. L'activité PAL plasmatique est élevée à la naissance puis diminue rapidement ensuite. Elle reste cependant deux à trois fois plus élevée que l'activité normale adulte (valeurs de référence : 40 à 158 U/L chez l'homme et 35 à 95 U/L chez la femme) et augmente à nouveau au moment du pic de croissance de l'adolescence, avant de rejoindre les valeurs adultes lorsque la croissance osseuse est terminée. L'activité de la PAL est plus élevée chez l'homme que chez la femme, l'homme ayant un capital osseux plus important.

Au début des années 2000, une grande étude nommée *Canadian laboratory initiative in pediatric reference intervals* (CALIPER) se met en place au Canada pour combler le manque de valeurs de référence pédiatriques. Les intervalles de référence sont déterminés pour 40 paramètres biochimiques (analytes chimiques, enzymatiques, lipidiques et protéiques) en prenant en compte l'influence de l'âge, du sexe et de l'ethnie. Cette étude initiale a été réalisée sur un analyseur Abbott Architect c8000 [6]. Suite à la standardisation, les résultats obtenus pour l'étude CALIPER sur l'automate d'Abbott ont pu être adaptés sur les autres automates présents dans les laboratoires (Beckman, Ortho, Roche et Siemens) [7]. Une revue très complète

sur l'étude CALIPER a été publiée par Adali *et al.* en 2017 [8] ainsi que d'autres études avec un nombre important de sujets réalisées en Allemagne [9] et dans le Nord de l'Europe [10]. Des études spécifiques de l'activité de la PAL ont également été réalisées en Allemagne [11] et plus récemment en Chine [12]. La synthèse des valeurs de référence concernant l'activité de la PAL en fonction de l'âge et du sexe est présentée sur la *figure 1*.

Des approches mathématiques utilisant des équations paramétriques complexes ont été récemment publiées permettant de déterminer l'activité de la PAL en fonction de l'âge et du sexe [13].

L'importance d'avoir des valeurs de référence en pédiatrie en fonction de l'âge et du sexe réside dans la classification des patients, ceci pouvant affecter le diagnostic, le suivi et la prise en charge de l'enfant [14].

Variations physiopathologiques de la phosphatase alcaline

L'activité de la PAL fait souvent partie de profils biochimiques et plus particulièrement du bilan hépatique avec les activités aminotransférases (aspartate aminotransférase ou AST et alanine aminotransférase ou ALT) et gamma glutamyltransférase (γ GT).

Les causes d'augmentation et de diminution de l'activité de la PAL dans le plasma sont décrites dans le *tableau 1*.

Les causes d'augmentation de l'activité de la PAL dans le plasma

Les trois principales causes d'une augmentation de l'activité de la PAL dans le plasma sont les pathologies hépatiques, osseuses et tumorales [15].

L'augmentation de l'activité de la PAL d'origine hépatique est principalement due à un défaut d'élimination biliaire de la PAL. L'obstruction des voies biliaires, qu'elle soit d'origine intrahépatique (cancéreuse, médicamenteuse) ou extrahépatique (calcul biliaire, cancer de la tête du pancréas), s'accompagne également d'une augmentation de la synthèse de PAL par les hépatocytes adjacents aux canalicules biliaires étant à l'origine d'une élévation de l'activité de la PAL dans le plasma. La détermination de l'activité de la PAL couplée à la concentration des formes conjuguée et non conjuguée de la bilirubine présente un intérêt certain dans l'exploration biologique des ictères.

Dans les pathologies osseuses associées à une augmentation de l'activité ostéoblastique, les augmentations de l'activité les plus élevées de la PAL sont observées dans la maladie de Paget. Des élévations modérées sont observées lors d'ostéomalacie ou d'hyperparathyroïdies (primaire ou

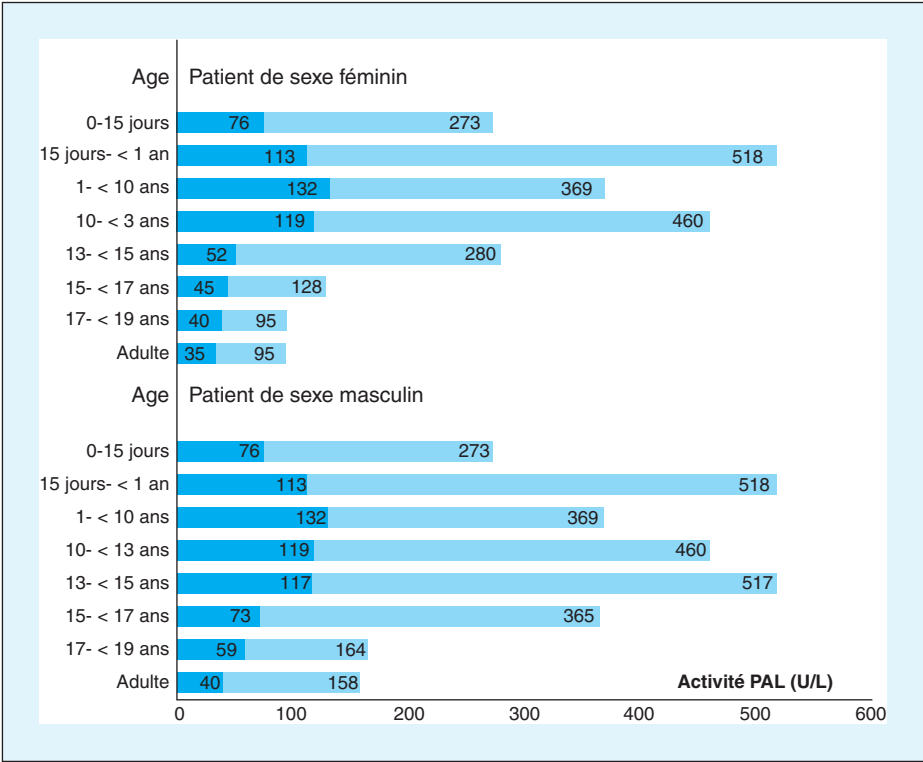


Figure 1. Activité de la phosphatase alcaline en fonction de l'âge et du sexe. Les chiffres correspondent aux valeurs de référence minimales et maximales [8]. Chaque laboratoire devra vérifier la validité de ces valeurs et établir au besoin ses propres valeurs de référence selon la population examinée.

Tableau 1. Causes d'augmentation et de diminution de l'activité de la phosphatase alcaline dans le plasma.

Augmentation activité PAL	Diminution activité PAL
Physiologiques Grossesse (dernier trimestre) Enfance	Causes techniques Prélèvement inadéquat (oxalate, EDTA) Valeurs de référence inappropriées
Pathologiques < 5 x limite supérieure de la normale Tumeurs osseuses (primaires et secondaires) Ostéodystrophie rénale Hyperparathyroïdie primaire avec atteinte osseuse Guérison de fracture Ostéomyélite Lésions hépatiques envahissantes (tumeur, abcès) Affections infiltrantes hépatiques Hépatite Affections inflammatoires de l'intestin > 5 x limite supérieure de la normale Maladie de Paget Ostéomalacie, rachitisme Cholestase (intra- et extrahépatique) Cirrhose	Causes primitives Hypophosphatasie Dysplasie cléidocrânienne Ostéogenèse imparfaite Causes secondaires Maladie cœliaque, dénutrition Déficit en vitamine C Déficit en zinc Déficit en magnésium Maladie de Wilson Hypercorticisme, corticothérapie Hypothyroïdie Hypoparathyroïdie Hypervitaminose D Ostéodystrophie rénale Transfusion récente Traitement de la résorption osseuse (bisphosphonates)

secondaire). Des augmentations transitoires peuvent être retrouvées pendant la phase de consolidation de fractures osseuses.
Une augmentation de l'activité de la PAL peut être observée dans le plasma lors de pathologies malignes autres

qu'hépatiques ou osseuses. Des isoformes de PAL peuvent être sécrétées par les cellules tumorales elles-mêmes. C'est le cas de l'isoenzyme Reagan, forme carcino-placentaire présente chez certains patients atteints de carcinome bronchique.

Les causes de diminution de l'activité de la PAL dans le plasma

En général, les causes de diminution de l'activité de la PAL sont peu décrites dans les traités de biologie clinique. Les trois grandes étiologies des diminutions de l'activité de la PAL dans le plasma sont les déficits du capital osseux, les déficits en vitamines, oligoéléments et apparentés et l'hypophosphatasie [16].

Les diminutions de la masse osseuse peuvent être observées en cas d'ostéopénie du prématuré, d'ostéogenèse imparfaite sévère ou lors de traitements prolongés de la résorption osseuse (traitement par bisphosphonates).

Les divers déficits en vitamines (vitamine C) et oligoéléments (déficit en zinc et magnésium) ainsi que la maladie de Wilson contribuent à diminuer l'activité de la PAL. Ce déficit est également retrouvé dans des pathologies hormono-dépendantes (hypercorticisme, hypothyroïdie, hypoparathyroïdie).

L'hypophosphatasie, maladie génétique due à une diminution de l'activité de la PAL est dépistée grâce à ce marqueur.

L'hypophosphatasie : une maladie rare et pouvant bénéficier d'un traitement

L'hypophosphatasie (HPP) est une maladie héréditaire rare liée à l'existence de mutations du gène *ALPL* codant l'isoenzyme non intestinale non placentaire (dite « os-foie-rein ») entraînant une perte d'activité de la PAL. De nombreux variants pathogènes ont été décrits. Les études génétiques ont permis de montrer qu'il y a deux HPP, l'HPP sévère, récessive et rare, et l'HPP modérée, récessive ou dominante, moins rare et probablement sous-diagnostiquée. La prévalence des formes sévères a été estimée à 1/300 000 en France et en Europe du Nord, celle des formes modérées pourrait atteindre 1/6 370 [17].

Les formes très sévères, rares, se manifestent par une déminéralisation majeure du squelette parfois visible *in utero*. Pour la grande majorité des enfants atteints, les présentations cliniques sont variables allant de l'hypotonie au retard de croissance avec la chute précoce des dents temporaires (de lait) puis parfois des dents définitives [18]. À l'adolescence, les manifestations articulaires et musculaires sont au premier plan (défaut de minéralisation osseuse, rachitisme, anomalies des membres inférieurs, douleurs, anomalies de la croissance) [19]. Chez l'adulte, l'HPP peut se révéler par des fractures, essentiellement des métatarses et des fémurs, ainsi que des arthropathies cristallines [20]. Le diagnostic biologique repose sur la mise en évidence d'une diminution de l'activité de la PAL circulante plasmatique d'où l'intérêt d'avoir des valeurs de référence en fonction de l'âge du patient (*figure 1*). L'étude de

Deeb *et al.*, publiée en 2018 confirme la pertinence du dosage de l'activité de la PAL pour le diagnostic de l'hypophosphatasie [21]. Le *tableau 1* présente les diagnostics différentiels à évoquer en cas d'hypophosphatasémie. La mesure de la concentration en phosphate de pyridoxal (PLP), forme circulante majeure de la vitamine B6 et substrat physiologique des PAL, est un paramètre contributif au diagnostic d'HPP, associé au dosage de l'activité de la PAL. Le dosage du PLP est réalisé par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) suivie d'une détection fluorimétrique. La phospho-éthanolamine (PEA) est un autre substrat potentiel de la PAL dont le dosage dans les urines peut être réalisé par les techniques utilisées actuellement pour la quantification des acides aminés (chromatographie échange d'ions/coloration à la ninhydrine ou spectrométrie de masse en tandem). L'analyse moléculaire reste l'élément majeur permettant de réaliser un diagnostic final mais aussi prénatal [22]. L'interprétation des examens biologiques devra toujours être confrontée aux données cliniques et radiologiques.

La prise en charge des patients atteints d'HPP est multidisciplinaire et organisée avec des centres de référence et de compétence des maladies osseuses constitutionnelles et des troubles du métabolisme phospho-calcique (filière OSCAR). Elle repose sur la prise en charge symptomatique des signes cliniques et biologiques et une prise en charge spécifique par enzymothérapie substitutive par voie sous-cutanée par l'asfotase alfa, protéine humaine de fusion recombinante incluant le domaine catalytique d'une forme de TNSALP et un peptide utilisé pour cibler l'enzyme au niveau osseux [23].

Conclusion

Des paramètres biochimiques classiques comme le dosage de l'activité de la phosphatase alcaline sont toujours dans l'actualité clinique à la fois du point de vue de la standardisation et de l'actualisation des valeurs de référence que de celui de son intérêt dans le diagnostic de pathologies rares.

Liens d'intérêts : cet article a été soutenu institutionnellement par Alexion France. L'auteur déclare ne pas avoir de lien d'intérêts en rapport avec cet article.

Références

1. Harris H. The human alkaline phosphatases: what we know and what we don't know. *Clin Chim Acta* 1989 ; 186 : 133-50.
2. Plomteux G, Reginster N. Mesure des fractions hépatique, intestinale et osseuse de la phosphatase alcaline osseuse. *Ann Biol Clin* 1980 ; 38 : 215-22.

3. Sacchetto E, Ali D, Dumontet E, Le Carrer D, Orsonneau JL, Demaroché O, *et al.* Influence de la nature de l'anticoagulant sur le dosage plasmatique de quinze paramètres biochimiques. *Ann Biol Clin* 2014; 72 : 337-50.
4. Schumann G, Klauke R, Canalias F, Bossert-Reuther S, Franck PF, Gella FJ, *et al.* IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 9: reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alkaline phosphatase. *Clin Chem Lab Med* 2011; 49 : 1439-46.
5. Lessinger JM, Féraud G, Grafmeyer D, Labbé D, Maire I, Schiele F, *et al.* Usefulness of reference materials in calibration of enzymes activities. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1995; 33 : 859-64.
6. Colantonio DA, Kyriakopoulou L, Chan MK, Daly CH, Brinc D, Venner AA, *et al.* Closing the gaps in pediatric laboratory reference intervals: a CALIPER database of 40 biochemical markers in a healthy and multiethnic population of children. *Clin Chem* 2012; 58 : 854-68.
7. Esthey MP, Cohen AH, Colantonio DA, Chan MK, Marvasti TB, Randell E, *et al.* CLSI-Based transference of the CALIPER database of pediatric reference intervals from Abbott to Beckman, Ortho, Roche and Siemens clinical chemistry assays: direct validation using reference samples from the CALIPER cohort. *Clin Biochem* 2013; 46 : 1197-219.
8. Adeli K, Higgins V, Trajcevshi K, White-Al Habeeb N. The Canadian laboratory initiative on pediatric reference intervals: a CALIPER white paper. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2017; 54 : 358-413.
9. Zierk J, Arzideh F, Rechenauer T, Haeckel R, Rascher W, Metzler M, *et al.* Age- and sex-specific dynamics in 22 hematologic and biochemical analytes from birth to adolescence. *Clin Chem* 2015; 61 : 964-73.
10. Ridefeldt P, Hilsted L, Juul A, Hellberg D, Rustad P. Pediatric reference intervals for general clinical chemistry components – merging of studies from Denmark and Sweden. *Scand J Clin Lab Invest* 2018; 78 : 365-72.
11. Zierk J, Arzideh F, Haeckel R, Cario H, Frühwald MC, Groß HJ, *et al.* Pediatric reference intervals for alkaline phosphatase. *Clin Chem Lab Med* 2017; 55 : 102-10.
12. Lü KL, Xie SS, Liu E, Yu XM, Wang ZY, Xiong Q, *et al.* Age-wise in alkaline phosphatase activity in 167,625 Chinese children aged 0-18 years. *Clin Biochem* 2020; 79 : 34-40.
13. Hoq M, Matthews S, Karlaftis V, Burgess J, Cowley J, Donath S, *et al.* Reference values for 30 common biochemistry analytes across 5 different analyzers in neonates and children 30 days to 18 years of age. *Clin Chem* 2019; 65 : 1317-26.
14. Alnor AB, Vinholt PJ. Paediatric reference intervals are heterogeneous and differ considerably in the classification of healthy paediatric blood samples. *Eur J Pediatr* 2019; 178 : 963-71.
15. Moss DW. Diagnostic aspects of alkaline phosphatase and its isoenzymes. *Clin Biochem* 1987; 20 : 225-30.
16. Saraff V, Narayanan VK, Lawson AJ, Shaw NJ, Preece MA, Höglér W. A diagnostic algorithm for children with low alkaline phosphatase activities: lessons learned from laboratory screening for hypophosphatasia. *J Pediatr* 2016; 172 : 181-6.
17. Monet E. Génétique de l'hypophosphatasie. *Arch Pediatr* 2017; 24(5S2) : 5S3-15S.
18. Baujat G, Michot C, Le Quan Sang KH, Cormier-Daire V. Hypophosphatasie, formes périnatale et infantile. *Arch Pediatr* 2017; 24(5S2) : 5S14-15S.
19. Rothenbuhler A, Linglart A. Hypophosphatasie chez l'enfant et l'adolescent : présentation clinique. *Arch Pediatr* 2017; 24(5S2) : 5S19-15S.
20. Briot K, Roux C. Hypophosphatasie de l'adulte. *Arch Pediatr* 2017; 24(5S2) : 5S24-15S.
21. Deeb A, Elfatih A. Could alerting physicians for low alkaline phosphatase levels be helpful in early diagnosis of hypophosphatasia ? *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2018; 10 : 19-24.
22. Gennero I, Salles JP. Diagnostic biologique de l'hypophosphatasie. *Arch Pediatr* 2017; 24(5S2) : 5S10-15S.
23. Salles JP. Hypophosphatasia: biological and clinical aspects, avenues for therapy. *Clin Biochem Rev* 2020; 13 : 27.