

STRESS ET MALADIES OSSEUSES : DÉVELOPPEMENT D'UN MODÈLE POUR L'ÉTUDE DES IMPACTS DU STRESS SUR LA SANTÉ OSSEUSE DANS LES POPULATIONS À RISQUE

Caitlin Porter, Taryn McGregor, Justin McCarthy
et Estelle Chamoux*
Bishop's University

Résumé

Le stress est un important déterminant de la santé d'une population. La population de l'Estrie, et plus particulièrement sa minorité anglophone, se trouve dans une situation socio-démographique favorisant de hauts taux de stress. Plusieurs systèmes physiologiques sont fortement affectés par les hormones sécrétées lors d'un stress et c'est particulièrement le cas du système ostéo-articulaire. Il est donc probable que de hauts niveaux de stress perturbent l'équilibre du métabolisme osseux et favorisent l'émergence de pathologies ostéo-articulaires telles que l'ostéoporose ou l'arthrite rhumatoïde. Les études sur le sujet sont parfois contradictoires et mal adaptées à l'étude de la situation chez l'être humain. De plus, il n'existe pas de méthode facile pour évaluer l'activité de résorption osseuse chez les individus d'une population. Nous présentons ici un modèle de culture cellulaire permettant de dériver des cellules ostéoclastiques humaines à partir d'une simple prise de sang. Nous montrons également que l'hormone principale sécrétée lors d'un stress, le cortisol, modifie les capacités résorbantes des cellules osseuses. Ces résultats donnent une base solide pour le développement d'une étude populationnelle évaluant l'impact du stress sur la santé osseuse de la population de l'Estrie.

Abstract

Stress is an important determinant of health in a population. People in the Eastern Townships, particularly the English-speaking minority, face a unique socio-demographic situation which may favour high stress levels. Several body systems are affected by stress hormones. This is particularly true for the skeletal system. It is likely that high levels of stress modify the balance of bone metabolism and favour

* Auteure à qui toute correspondance doit être adressée : Department of Biology, Bishop's University, 2600, College Street, Sherbrooke, QC, J1M 1Z7; echamoux@ubishops.ca

bone and joint disorders like osteoporosis or rheumatoid arthritis. Studies on this subject are sometimes contradictory and poorly adapted to the study of the situation in humans. Moreover, no easy method exists to evaluate bone resorbing functions in the individuals of a population. The work reported here presents a model of cell culture generating human osteoclast-like cells from a simple blood sampling. We also show that the main human stress hormone, cortisol, modifies the resorbing capacities of bone cells. These results provide a solid foundation for the future development of a study at the population level, evaluating the impact of stress on bone health in the Eastern Townships.

Introduction

Le stress est l'un des plus importants déterminants de santé établis par Santé Canada⁽¹⁾. Le rôle du stress sur la santé physique est multiple et complexe, d'autant plus qu'une considérable variabilité individuelle rend les études difficiles à analyser. On peut cependant établir plusieurs liens directs entre stress et santé physique grâce à une meilleure compréhension des effets physiologiques du stress⁽²⁾. La phase initiale du stress est caractérisée par une réaction intense et de courte durée au cours de laquelle les glandes médullo-surrénales, activées par le système nerveux central, sécrètent d'importantes quantités de catécholamines (adrénaline et noradrénaline essentiellement) dans le sang⁽³⁾. Après quelques minutes, les glandes cortico-surrénales sont activées à leur tour et sécrètent des glucocorticoïdes (principalement le cortisol et la cortisone chez l'Homme) pendant parfois plusieurs heures⁽³⁾. Si la situation stressante perdure, la sécrétion de glucocorticoïdes surrénaliens est appelée à durer dans le temps⁽³⁾. D'ailleurs, il est bien démontré que les personnes souffrant de dépression majeure ont des taux de cortisol sanguins significativement plus élevés que les personnes en bonne santé mentale⁽⁴⁾.

Les effets des glucocorticoïdes sur l'organisme sont de plusieurs ordres et peuvent inclure l'inhibition de la fonction immunitaire, une augmentation de la pression sanguine, la modification du métabolisme et la redistribution des réserves de graisse corporelle ou encore une inhibition de la fonction reproductive⁽⁵⁻⁷⁾. L'un des systèmes physiologiques particulièrement touché par les effets délétères des glucocorticoïdes est le squelette⁽⁸⁾. En effet, bien qu'il s'avère souvent nécessaire d'administrer des glucocorticoïdes pour le traitement de maladies auto-immunes ou inflammatoires, les études réalisées sur des patients placés sous corticothérapie démontrent une diminution de la masse osseuse de près de 12% en moins d'un an. Après seulement trois

mois de corticothérapie, le risque de fracture augmente de 75%⁽⁹⁻¹²⁾ quel que soit le site étudié ou le régime de thérapie utilisé. Cependant, il reste difficile encore aujourd'hui de bien comprendre et prévenir les effets osseux des glucocorticoïdes. En particulier, l'impact de niveaux de glucocorticoïdes élevés dus à une situation stressante chronique reste à évaluer. Plusieurs études démontrent que la dépression⁽¹³⁻¹⁶⁾ ou l'hypercorticisme subclinique⁽¹⁷⁻²¹⁾ (taux de cortisol élevés) favorisent les problèmes de santé osseuse.

En 2008, une enquête réalisée auprès de la population québécoise montrait que 28% de la population ressentait un niveau de stress élevé⁽²²⁾. La situation socio-démographique en Estrie est particulière et présente plusieurs spécificités contribuant à élever le niveau de stress ressenti et le risque de détresse psychologique⁽²³⁻²⁵⁾. De plus, la population anglophone de l'Estrie est généralement plus âgée, plus isolée et plus défavorisée matériellement que les autres personnes résidant en Estrie⁽²⁶⁾. En raison des impacts psychologiques qu'elle peut entraîner, cette situation matérielle et sociale pourrait avoir de sérieux impacts sur la santé osseuse de la population estrienne.

De façon générale, les pathologies ostéo-articulaires sont en augmentation constante dans les pays occidentaux⁽²⁸⁾, une tendance accrue par le vieillissement des populations. Près de deux millions de Canadiens souffrent d'ostéoporose^(28, 29), une pathologie osseuse le plus souvent asymptomatique jusqu'à l'apparition de fractures. Elle affecte majoritairement les femmes de plus de 50 ans⁽³⁰⁾. Évalués à 1,9 milliards de dollars chaque année, les coûts engendrés par les traitements de l'ostéoporose ou de ses conséquences pèsent lourdement sur notre système de santé. Plus de la moitié des patients sont incapables de retourner à la maison à la suite d'une fracture de la hanche et sont orientés vers des soins de moyenne ou longue durée⁽³¹⁾. De plus, une vaste étude canadienne multicentrique sur l'ostéoporose (CaMOS) portant sur plus de 10,000 personnes établissait récemment que jusqu'à 70% des fractures de la hanche dues à l'ostéoporose provoquent la mort ou une incapacité permanente^(27, 32). L'ostéoporose représente donc une charge considérable sur les sociétés occidentales. Si un grand nombre de facteurs de risque ont été identifiés, on ne connaît pas de cause particulière à l'ostéoporose et la prévention fait une large part aux habitudes de vie (nutrition, exercice physique...), bien que la gestion du stress soit encore relativement peu prise en compte.

L'effet marqué des glucocorticoïdes sur le squelette est le résultat d'actions directes et indirectes sur le métabolisme osseux: jouant au niveau systémique sur le métabolisme endocrinien (inhibition de la sécrétion de stéroïdes gonadiques) et phosphocalcique (diminution de l'absorption intestinale et rénale du calcium)⁽³³⁾, les glucocorticoïdes

agissent également dans le microenvironnement osseux^(34, 35) et au niveau cellulaire. On rapporte un effet fortement inhibiteur sur les ostéoblastes, cellules responsables de la formation osseuse, et une modification des voies de signalisation de l'ostéoclaste, cellules responsables de la résorption osseuse^(21, 36-38). Si les effets inhibiteurs des glucocorticoïdes sur la formation osseuse sont bien documentés, il n'en va pas de même pour leurs effets sur la résorption. Or un squelette en santé dépend essentiellement de ces deux paramètres, soit la formation et la résorption osseuse, qui doivent être maintenues en équilibre tout en assurant un remodelage constant du tissu osseux⁽³⁹⁾. Un cycle de remodelage débute par une intense activité des cellules résorbantes (ostéoclastes) menant à la formation d'une lacune de résorption. Une fois la lacune exposée au milieu environnant, sa surface est colonisée par des ostéoblastes qui combleront l'espace avec une matrice osseuse nouvellement synthétisée. Le recrutement et l'activité des ostéoblastes étant avant tout déterminés par l'activité initiale des ostéoclastes, la plupart des stratégies thérapeutiques visent à influencer le niveau de résorption^(40, 41).

La plupart des études sur le sujet indiquent que les glucocorticoïdes augmentent la durée de vie des ostéoclastes^(36, 42). Par contre, l'effet des glucocorticoïdes sur l'ostéoclastogénèse et l'activité résorbante des ostéoclastes varient selon le modèle étudié^(36, 38, 42-45). Plusieurs études démontrent qu'une stimulation par les glucocorticoïdes enclenche une modification de l'architecture cellulaire (cytosquelette d'actine) et induit le détachement de l'ostéoclaste de sa matrice osseuse^(36, 46). En conséquence, dans ce modèle les glucocorticoïdes auraient un rôle plutôt inhibiteur sur la résorption osseuse, ce qui apparaît contradictoire avec les observations faites chez les patients humains. Une étude plus récente démontre au contraire que les ostéoclastes humains, stimulés *in vitro* par des glucocorticoïdes adhèrent plus solidement à la matrice osseuse et arrêtent de se déplacer à la surface de l'os⁽⁴⁷⁾. Il en résulte des lacunes de résorption qui, au lieu d'être allongées et de faible profondeur, ont plutôt une allure de puits restreints en surface mais de plus grande profondeur. Ceci pourrait contribuer à fragiliser la structure de l'os en profondeur, d'autant plus que la partie résorbée est moins accessible aux ostéoblastes chargés de reformer la nouvelle matrice osseuse. Ces études sont cependant sporadiques et ne décrivent pas toujours les mécanismes cellulaires et moléculaires mis en jeu. Il n'existe pas de lignée cellulaire d'ostéoclastes humains et les modèles de rongeurs sont inadaptés. Prenant exemple sur un modèle bien établi à partir de cellules du sang de cordon ombilical⁽⁴⁸⁻⁵¹⁾, nous avons développé et raffiné un modèle d'ostéoclastes humains capables de résorber l'os *in vitro*, à partir de cellules du sang périphérique. Il s'agit d'un

modèle de cultures primaires requérant temps et expertise, mais qui permet de faire face au défi le plus important pour ce genre d'études : **obtenir des cellules d'origine humaine ayant un fonctionnement se rapprochant des activités cellulaires *in vivo***. L'article présenté ici est une description du modèle d'étude suivie d'une analyse de l'action des glucocorticoïdes sur les interactions entre la cellule ostéoclastique humaine et la surface osseuse.

Matériels et méthodes

Modèle cellulaire d'ostéoclastes humains

Le modèle d'ostéoclastes humain est dérivé de monocytes du sang périphérique de donneurs volontaires recrutés dans la région de l'Estrie. Après avoir reçu toute l'information nécessaire, 27 femmes pré-ménopausées ont signé le formulaire de consentement et ont intégré notre protocole de recherche (approuvé par le comité d'éthique de l'Université Bishop's). En bref, 50 ml de sang périphérique ont été prélevés par prise de sang au pli du coude. Les leucocytes ont été isolés du sang par centrifugation (20 min, 2000 rpm) sur Ficoll-Paque (GE Healthcare), puisensemencés sur une surface de verre traitée à une densité de 3 millions/ml et dans un milieu sélectif (OPTI-MEM supplémenté de 100pg/ml de GM-CSFⁱ) pendant 24 heures. Les cellules non-adhérentes, correspondant en majorité aux lymphocytes et neutrophiles, ont été retirées après 24 heures en même temps que le milieu sélectif. Seules les cellules adhérentes, constituées en majorité de monocytes, restaient alors dans la culture. Un milieu de différenciation contenant du M-CSFⁱⁱ (25 ng/ml) et du RANKLⁱⁱⁱ (100 ng/ml) a ensuite été ajouté et changé tous les 2 à 3 jours. Après quatre semaines, les cellules multinucléées générées ainsi expriment les marqueurs typiques des ostéoclastes (Calcitonine, V-ATPase, activité Phosphatase Acide Résistante au Tartrate) et sont capables de résorber l'os, tout comme cela avait été démontré pour les ostéoclastes dérivés de monocytes ombilicaux^(49, 51, 52). Au cours des deux dernières semaines de culture, des doses de cortisol humain variant de 10⁻¹¹ à 10⁻⁵ M ont été ajoutées aux milieux de culture à chaque changement de milieu. Chaque dose de cortisol a été testée sur au moins 3 échantillons de cellules par donneuse.

Immunocytochimie Afin de vérifier l'expression de marqueurs indiquant la présence de cellules ostéoclastiques, les cellules ont été fixées à la fin de la période de culture à l'aide d'une solution de paraformaldéhyde 1% dans un tampon phosphate. Après plusieurs lavages, les sites non-spécifiques ont été bloqués avec une solution de

ⁱ GM-CSF : Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor

ⁱⁱ M-CSF : Monocyte-Colony Stimulating Factor

ⁱⁱⁱ RANKL : Receptor Activator of NF-kB Ligand

lait écrémé 5% et les peroxydases endogènes saturées à l'aide d'une solution contenant 3% de peroxyde d'hydrogène. Des anticorps primaires dirigés contre le récepteur à la calcitonine (Santa Cruz Biotechnologies, utilisé 1:50) ou contre la pompe V-ATPase (BD biosciences, utilisé 1:50) ont été utilisés comme marqueurs⁽⁵¹⁾. Après une incubation d'une heure à 37°C, les cellules ont été lavées pour ôter l'excédent d'anticorps primaires puis recouvertes d'une solution contenant un anticorps secondaire universel couplé à la streptavidine (Dako Cytomation). Après 45 minutes d'incubation, l'excédent a été lavé puis une solution de biotine couplée à la peroxydase de raifort (Dako Cytomation) a été appliquée sur la culture de cellules durant 30 minutes. Après le retrait de l'excédent, un substrat incolore a été ajouté. Les sites contenant de la peroxydase ont pris une teinte rouge/brunâtre en raison de l'oxydation du substrat incolore. Un contre-marquage des noyaux a été réalisé à l'aide d'hématoxyline afin de concentrer l'analyse sur les cellules comportant plus de 3 noyaux.

Résorption osseuse

Le même protocole d'isolement et de culture cellulaire a été réalisé en présence d'une lamelle osseuse placée au fond du puits de culture. Les lamelles osseuses de 150 mm d'épaisseur ont été tranchées au laboratoire à partir d'os bovins obtenus dans le commerce. À la fin de la période de culture, les lamelles osseuses ont été retirées des puits et passées dans une solution contenant 1% de NaOH puis soniquées durant 1 minute afin de retirer les cellules de la surface osseuse⁽⁵¹⁾. Ensuite, les lamelles ont été immergées dans une solution de bleu de toluidine 1% durant 1 minute. Après rinçage à l'eau courante, la surface érodée correspondant aux lacunes de résorption laissées par les ostéoclastes apparaissait en bleu/violet.

Anneaux de résorption

À la fin de la période de culture, les ostéoclastes ont été fixés à l'aide d'une solution contenant 1% de paraformaldéhyde. Une solution de triton-100 1% a été appliquée durant 10 minutes afin de perméabiliser les membranes cellulaires, puis les sites non-spécifiques ont été bloqués grâce à une solution contenant 5% de lait écrémé. Une solution contenant de la Phalloïdine-Alexa633 (Invitrogen, utilisée 1:200) a été appliquée sur la culture cellulaire pendant une heure. Après lavage de l'excédent, un contre-marquage des noyaux a été effectué à l'aide d'une solution contenant du DAPI afin de visualiser les cellules multinucléées. Les lames ont ensuite été visualisées à l'aide d'un microscope confocal Olympus et prises en photo à l'aide d'une caméra numérique et du logiciel Fluoview.

Résultats & Discussion

Nous souhaitions pouvoir obtenir des ostéoclastes facilement, provenant d'individus de la population générale et en utilisant une procédure faiblement invasive. Un modèle d'ostéoclastes humains avait été développé il y a plusieurs années à partir de sang de cordon ombilical^(49, 51, 52) : bien que très utile pour un grand nombre de recherches, il nous fallait modifier ce modèle de cellules fœtales afin de pouvoir étudier la physiologie des ostéoclastes provenant d'hommes ou de femmes adultes à différents stades de leur vie. Après avoir adapté et raffiné le protocole, nous avons isolé des cellules ayant les caractéristiques d'ostéoclastes matures capables de résorber l'os à partir du sang périphérique d'individus adultes. Dans le but de réaliser dans le futur des études populationnelles, il était important de valider ce modèle permettant d'obtenir des cellules ostéoclastiques humaines à partir d'une simple prise de sang. Comme le montre la Figure 1, les cellules générées par cette technique de culture sont multinucléées et expriment l'intégrine VLA-2 (récepteur du collagène) ainsi que la pompe V-ATPase. La pompe V-ATPase est une pompe nécessaire au recaptage actif des protons sécrétés dans la lacune de résorption et servant à dissoudre la matrice osseuse minérale^(53, 54). Localisée dans la bordure en brosse au contact de la matrice osseuse, la présence de cette pompe est fortement indicative d'ostéoclastes actifs (Figures 1A et D). L'intégrine VLA-2 n'est pas spécifique aux ostéoclastes puisqu'elle est retrouvée dans une vaste proportion de cellules. Cependant, ce récepteur du collagène est fortement exprimé dans la zone scellée entourant la lacune de résorption, indiquant alors la présence d'un ostéoclaste mature et bien adhérent à sa matrice (Fig. 1B et D). La présence de ces deux marqueurs localisés respectivement au niveau de la lacune de résorption et dans la zone scellée délimitant cette dernière nous indique que le processus de maturation de ces cellules est complet.

Parallèlement à ces marqueurs, nos analyses montrent la présence de lacunes de résorption à la surface des lamelles osseuses sur lesquelles les cellules ont été cultivées (Figure 2). Ceci indique que notre modèle de culture génère, à partir du sang périphérique de donneurs, des cellules exprimant les principales caractéristiques d'ostéoclastes matures et actifs. Nous travaillons en ce moment à l'étude des gènes exprimés dans ces cellules afin de parfaire la validation de notre modèle. Il doit nous permettre à l'avenir de déterminer si le cortisol influence la maturation et l'activation des ostéoclastes. En perspective, ce modèle nous permettra également de mesurer l'impact du stress ressenti sur l'ostéoclastogénèse.

Afin de déterminer l'effet du cortisol sur l'établissement d'un site de résorption caractérisé par l'apparition d'un anneau d'actine, des

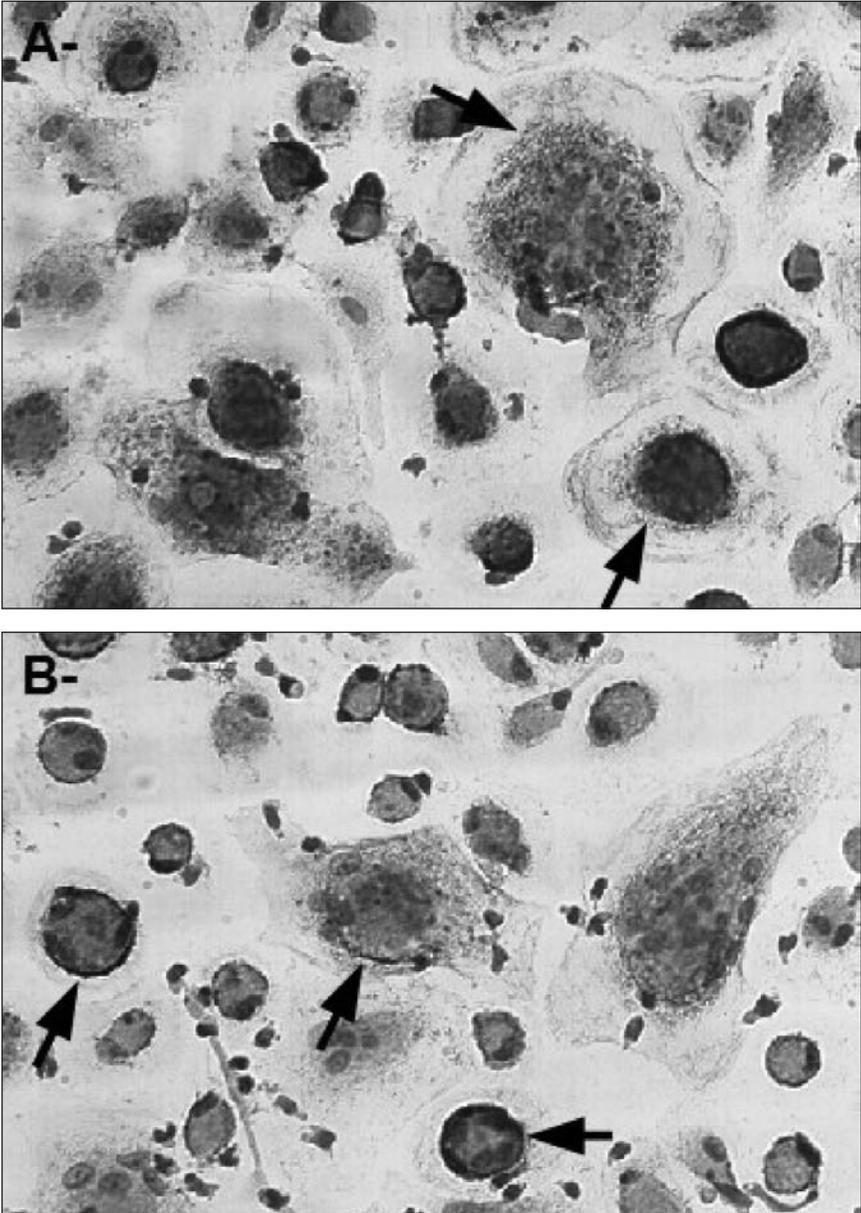
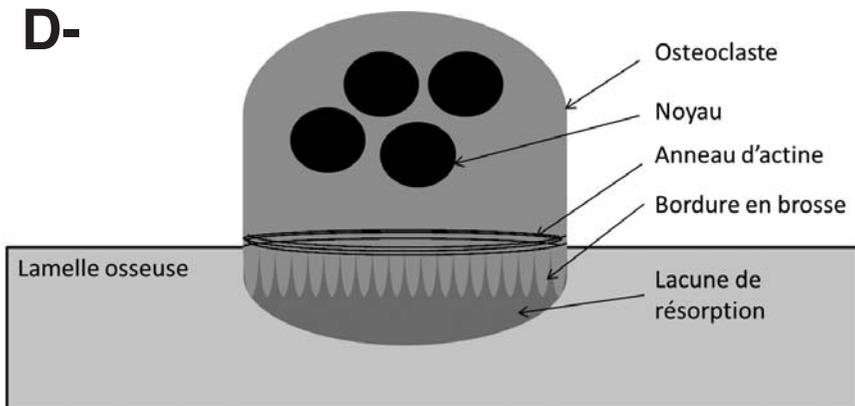
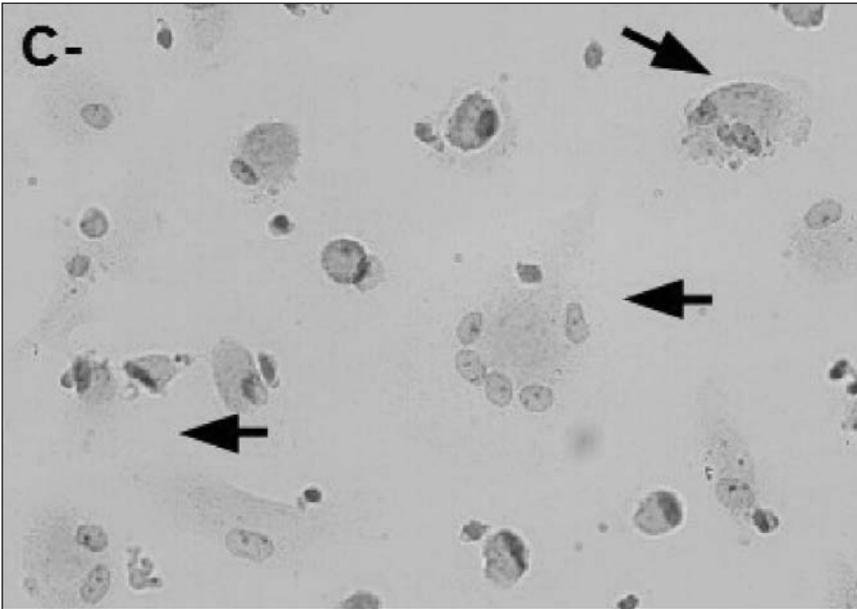


Figure 1 : Expression des marqueurs ostéoclastiques à la surface membranaire. Après culture, l'expression de marqueurs caractéristiques d'ostéoclastes matures a été analysée. A) Expression de la pompe V-ATPase, exprimée dans la bordure en brosse au contact de la lacune de résorption. La coloration brun-rouge représente les zones où cette pompe est exprimée, soit à l'intérieur de la zone scellée délimitant la lacune de résorption (flèches). B) Expression de l'intégrine VLA-2, récepteur du



collagène. L'expression de ce marqueur est retrouvée au niveau de la zone scellée, zone d'adhésion la plus forte de l'ostéoclaste à sa matrice (flèches). C) Marquage non-spécifique : sur cette lamelle, seul l'anticorps secondaire a été utilisé. On distingue bien les ostéoclastes par leur nombre de noyaux, marqués à l'hématoxyline, mais aucun marquage brun-rouge n'est présent attestant la spécificité des marqueurs utilisés. D) Schéma représentant un ostéoclaste résorbant la surface osseuse sur laquelle il est fixé.

cultivées en présence de doses croissantes de cortisol (Figures 3 B, C, soit 10^{-11} M, 10^{-10} M et 10^{-9} M respectivement, correspondant à la normale des taux circulants). Les doses de 10^{-7} à 10^{-6} M, correspondant à des taux élevés de cortisol sanguin, augmentent de façon notable le nombre et l'intensité des anneaux d'actine observés. Cette observation suggère que des niveaux de stress élevés pourraient favoriser l'établissement de sites de résorption. Bien que les mécanismes cellulaires mis en jeu n'aient pas encore été disséqués dans notre modèle, l'analyse d'autres études nous indique des pistes pour expliquer le rôle du cortisol sur l'adhésion de l'ostéoclaste à sa matrice osseuse : l'anneau d'actine est une structure constituée de protéines filamenteuses organisées à la manière d'un squelette microscopique. Localisé à la jonction entre la membrane cellulaire et la surface osseuse, l'anneau d'actine est crucial pour maintenir l'adhésion et l'activité résorbante de l'ostéoclaste⁽⁵⁵⁾.

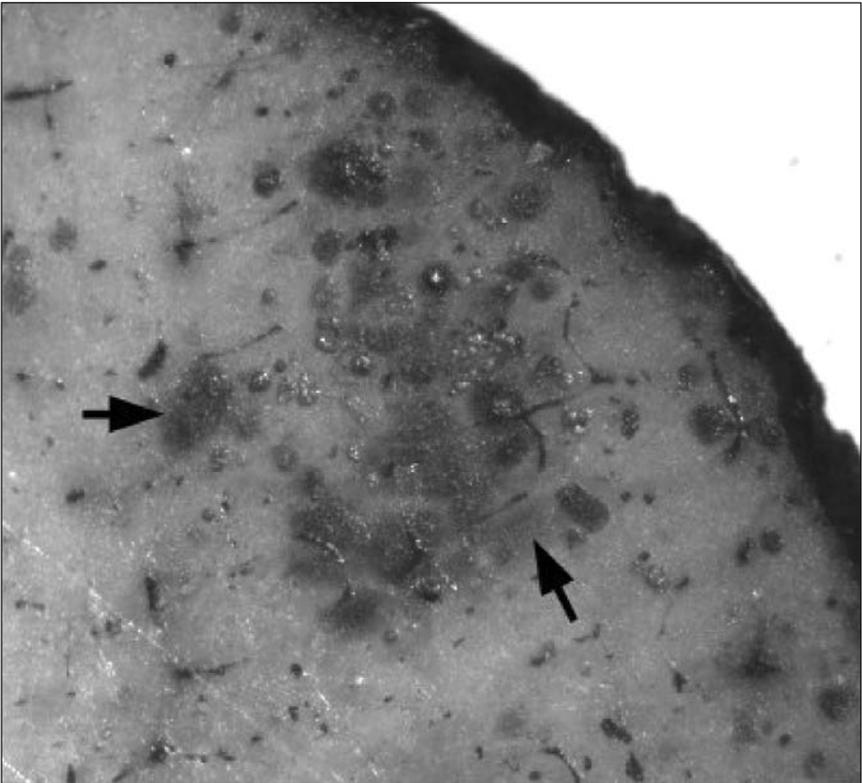


Figure 2 : Lacunes de résorption visualisées sur une lamelle osseuse. Après induction de la différenciation et de la maturation des cellules cultivées sur lamelles osseuses, les cellules ont été retirées et les lamelles osseuses colorées au bleu de toluidine. La lacune de résorption, dont la surface est érodée, fixe le colorant plus fortement que l'os non résorbé (flèches).

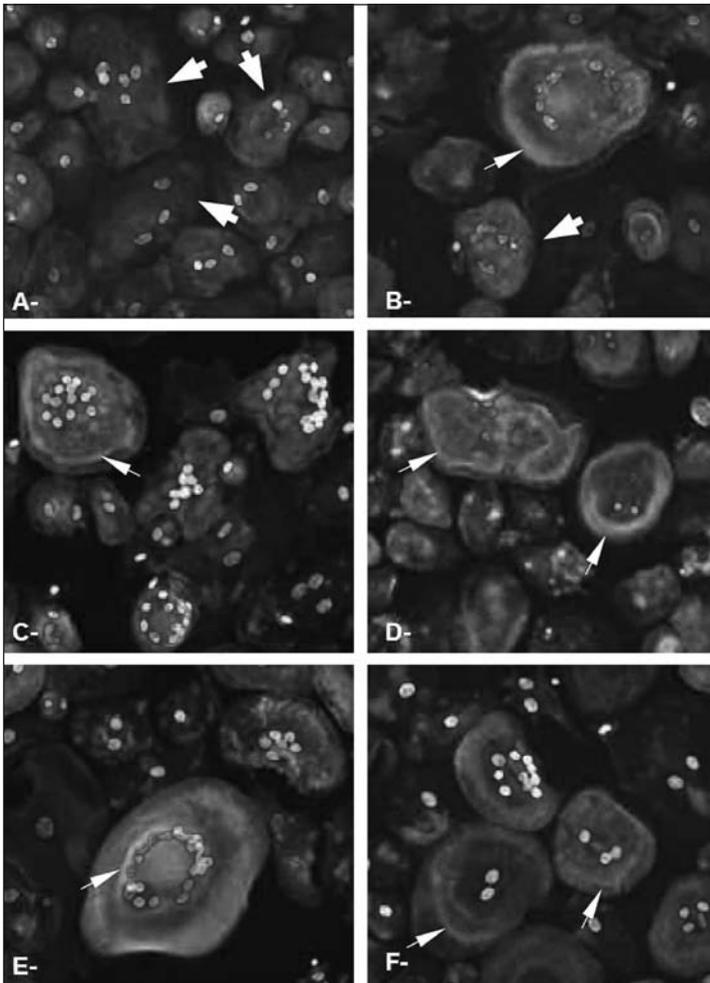


Figure 3 : Formation d'anneaux d'actine délimitant la zone scellée. Les cellules ont été cultivées pendant les deux dernières semaines de leur maturation en présence de doses croissantes de cortisol. L'un des échantillons n'a pas été traité au cortisol afin de servir de contrôle. Nous avons utilisé des doses de 10^{-11} M à 10^{-5} M afin de couvrir les taux physiologiques ($<10^{-9}$ M) ainsi que les taux thérapeutiques ou pathologiques ($>10^{-7}$ M). Toutes les photographies ont été prises à l'objectif 40X. A) Cellules non-traitées au cortisol. Les ostéoclastes multinucléés se distinguent clairement (grosses flèches), mais peu de cellules exposent un anneau d'actine bien délimité. B) À des doses aussi faibles que 10^{-11} M, un marquage plus dense de l'actine est observé dans la région de la zone scellée (petite flèche). C, D, E, F) Doses de 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-7} et 10^{-6} M respectivement: de plus en plus de cellules présentent un anneau d'actine bien marqué et franchement délimité (petites flèches). La proportion de cellules présentant ces anneaux d'actine semble augmenter avec la dose de cortisol utilisée.

Cet anneau d'actine demeure malgré tout extrêmement dynamique et se réorganise constamment afin de maintenir l'adhésion ou au contraire favoriser le détachement de l'ostéoclaste, en fonction des besoins et des stimuli hormonaux^(56, 36, 46). Selon les mêmes études, toutes réalisées chez les rongeurs, les glucocorticoïdes induisent la dissolution de l'anneau d'actine et provoquent le détachement des ostéoclastes de la matrice osseuse. Nos résultats suggèrent au contraire que les cellules ostéoclastiques humaines sont plus fortement adhérentes à la surface osseuse lorsque du cortisol est présent dans le milieu de culture, ceci même à des doses physiologiques. Nos résultats correspondent à ceux d'une autre étude récente démontrant que les ostéoclastes humains mis en présence de glucocorticoïdes génèrent des lacunes de résorption plus profondes et moins étendues⁽⁴⁷⁾. En effet, plus l'anneau d'actine est marqué, moins l'ostéoclaste est susceptible de se détacher et de se déplacer à la surface de l'os⁽⁵⁷⁾. Afin de valider cette hypothèse, des études seront menées à l'aide d'enregistrements vidéo et le suivi de la migration des ostéoclastes à la surface osseuse sera analysé par des algorithmes de migration établis précédemment pour d'autres études.

Les résultats présentés ici sont encore préliminaires. Nous cherchions à valider un modèle d'étude nous permettant de réaliser des études populationnelles afin de déterminer si le niveau de stress subi au quotidien influence le niveau de résorption osseuse et, par là-même, le risque de déséquilibre entre résorption et formation osseuse. Cependant, nos résultats permettent d'élaborer une hypothèse de travail selon laquelle le cortisol favoriserait l'adhésion des ostéoclastes à la matrice osseuse et ainsi l'augmentation des sites de résorption. Notre modèle nous permettra dans l'avenir de tester cette hypothèse et éventuellement d'apporter des arguments physiologiques en faveur d'une prise en charge du stress pour la prévention et le traitement des maladies osseuses. Plusieurs études pointent la dépression, favorisée par le stress, comme un facteur de risque pour l'ostéoporose^(14-16, 58). Il est également bien documenté que les patients souffrant d'arthrite rhumatoïde voient l'intensité de leurs symptômes suivre un rythme circadien proche de celui du cortisol^(59, 60). Les taux de cortisol sont plus élevés chez les patients arthritiques que chez les sujets sains, mais on constate surtout que le rythme de sécrétion est modifié chez ceux ayant des atteintes sévères⁽⁶¹⁾. Il est également clairement montré que les stress mineurs de la vie quotidienne affectent négativement le pronostic à long terme des patients arthritiques^(62, 63). Plus encore, le développement de l'arthrite juvénile est souvent précédé d'un événement stressant majeur, peu de temps avant l'apparition des symptômes⁽⁶⁴⁾. De plus en plus de données permettent aujourd'hui de

considérer le stress comme un facteur prédisposant et aggravant pour les maladies ostéo-articulaires, qu'elles soient de nature inflammatoire ou métabolique.

Un grand nombre de facteurs influencent également l'exposition de l'organisme aux glucocorticoïdes^(4, 65). Plusieurs facteurs sont d'importants vecteurs de stress dans la vie de tous les jours, notamment le statut socio-économique, l'isolement et les problèmes de santé^(66, 67), des problématiques touchant plus particulièrement la minorité anglophone de l'Estrie⁽⁶⁸⁾. Il est donc primordial de s'interroger sur les niveaux de stress, sur l'état de santé psychologique et des effets de ces derniers sur la santé générale de la population estrienne. La validation de notre modèle, présenté ici, nous permettra de réaliser une étude visant à déterminer les impacts de cette situation particulière sur la santé osseuse de la population de l'Estrie.

À plus long terme, les données obtenues devraient nous permettre de mieux comprendre les effets du bien-être psychologique sur le métabolisme osseux et de déterminer si de forts niveaux de stress constituent un facteur prédisposant et/ou aggravant pour les pathologies ostéo-articulaires. Si tel est le cas, nos conclusions pourraient ouvrir la voie à de nouvelles interventions de santé publique, plaçant le bien-être psychologique au cœur des stratégies de prévention des maladies osseuses, ceci dès l'atteinte du pic de masse osseuse. Les campagnes à l'heure actuelle mettent l'accent sur la nutrition et l'exercice physique. Promouvoir le bien-être psychologique pourrait constituer un autre angle d'attaque des campagnes de prévention ou au cours des traitements de réhabilitation.

RÉFÉRENCES

1. Statistiques Canada Report from the Third Consensus Conference on Health Indicators, 2009.
2. Selye H. The nature of stress. *Basal Facts*. 1985; 7:3–11.
3. Lightman SL. The neuroendocrinology of stress: a never ending story. *J Neuroendocrinol*. 2008; 20:880–884.
4. Vreeburg SA, Hoogendijk WJ, van Pelt J, Derijk RH, Verhagen JC, van Dyck R, Smit JH, Zitman FG, Penninx BW. Major depressive disorder and hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity: results from a large cohort study. *Arch Gen Psychiatry*. 2009; 66:617–626.
5. Tasker JG, Di S, Malcher-Lopes R. Minireview: rapid glucocorticoid signaling via membrane-associated receptors. *Endocrinology*. 2006; 147:5549–5556.
6. van der Laan S, Meijer OC. Pharmacology of glucocorticoids: beyond receptors. *Eur J Pharmacol*. 2008; 585:483–491.

7. Liberman AC, Druker J, Garcia FA, Holsboer F, Arzt E. Intracellular molecular signaling. Basis for specificity to glucocorticoid anti-inflammatory actions. *Ann N Y Acad Sci.* 2009; **1153**:6–13.
8. Canalis E, Mazziotti G, Giustina A, Bilezikian JP. Glucocorticoid-induced osteoporosis: pathophysiology and therapy. *Osteoporos Int.* 2007; **18**:1319–1328.
9. LoCascio V, Bonucci E, Imbimbo B, Ballanti P, Adami S, Milani S, Tartarotti D, DellaRocca C. Bone loss in response to long-term glucocorticoid therapy. *Bone Miner.* 1990; **8**:39–51.
10. Van Staa TP, Laan RF, Barton IP, Cohen S, Reid DM, Cooper C. Bone density threshold and other predictors of vertebral fracture in patients receiving oral glucocorticoid therapy. *Arthritis Rheum.* 2003; **48**:3224–3229.
11. Angeli A, Guglielmi G, Dovio A, Capelli G, de Feo D, Giannini S, Giorgino R, Moro L, Giustina A. High prevalence of asymptomatic vertebral fractures in post-menopausal women receiving chronic glucocorticoid therapy: a cross-sectional outpatient study. *Bone.* 2006; **39**:253–259.
12. De Vries F, Bracke M, Leufkens HG, Lammers JW, Cooper C, Van Staa TP. Fracture risk with intermittent high-dose oral glucocorticoid therapy. *Arthritis Rheum.* 2007; **56**:208–214.
13. Eskandari F, Martinez PE, Torvik S, Phillips TM, Sternberg EM, Mistry S, Ronsaville D, Wesley R, Toomey C, Sebring NG, Reynolds JC, Blackman MR, Calis KA, Gold PW, Cizza G. Low bone mass in premenopausal women with depression. *Arch Intern Med.* 2007; **167**:2329–2336.
14. Cizza G, Ravn P, Chrousos GP, Gold PW. Depression: a major, unrecognized risk factor for osteoporosis? *Trends Endocrinol Metab.* 2001; **12**:198–203.
15. Dorn LD, Susman EJ, Pabst S, Huang B, Kalkwarf H, Grimes S. Association of depressive symptoms and anxiety with bone mass and density in ever-smoking and never-smoking adolescent girls. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2008; **162**:1181–1188.
16. Coelho R, Silva C, Maia A, Prata J, Barros H. Bone mineral density and depression: a community study in women. *J Psychosom Res.* 1999; **46**:29–35.
17. Mitchell IC, Auchus RJ, Juneja K, Chang AY, Holt SA, Snyder WH, 3rd, Nwariaku FE. “Subclinical Cushing’s syndrome” is not subclinical: improvement after adrenalectomy in 9 patients. *Surgery.* 2007; **142**:900–905.
18. Reincke M. Subclinical Cushing’s syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2000; **29**:43–56.

19. Chiodini I, Mascia ML, Muscarella S, Battista C, Minisola S, Arosio M, Santini SA, Guglielmi G, Carnevale V, Scillitani A. Subclinical hypercortisolism among outpatients referred for osteoporosis. *Ann Intern Med.* 2007; **147**:541–548.
20. Chiodini I, Morelli V, Masserini B, Salcuni AS, Eller-Vainicher C, Viti R, Coletti F, Guglielmi G, Battista C, Carnevale V, Iorio L, Beck-Peccoz P, Arosio M, Ambrosi B, Scillitani A. Bone mineral density, prevalence of vertebral fractures, and bone quality in patients with adrenal incidentalomas with and without subclinical hypercortisolism: an Italian multicenter study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; **94**:3207–3214.
21. Chiodini I, Torlontano M, Carnevale V, Trischitta V, Scillitani A. Skeletal involvement in adult patients with endogenous hypercortisolism. *J Endocrinol Invest.* 2008; **31**:267–276.
22. CANSIM Tableau 105-0200, 2008. Statistiques Canada.
23. CSSS-IUGS Le projet clinique du RLS de Sherbrooke- Programme-services Santé mentale Jeunesse 2008–2012, 2008.
24. Smith A. Stress costs billions for American businesses. *The Eagle tribune*, 2008.
25. American Psychologists Association. *Stress in America*, 2008
26. Floch W, Warnke J. The Evolving Demographic Context of the Anglophone Communities in the Eastern Townships. In: *Heritage DoC* (ed.), 2004
27. Canadian Multicenter osteoporosis study (CaMos) Largest ever Canadian study on osteoporosis shows osteoporosis-related fractures increase risk of subsequent fracture independently of low bone mineral density. *News releases*, 2008
28. Institut canadien sur les indicateurs de santé arthroplasties de la hanche et du genou de 2003 à 2008. 2009
29. Osteoporosis Canada Données statistiques, 2010
30. Nelson HD, Humphrey LL, Nygren P, Teutsch SM, Allan JD. Postmenopausal hormone replacement therapy: scientific review. *Jama.* 2002; **288**:872–881.
31. Kaiser S. Le risque fracturaire ne tient pas seulement à la DMO. *Le point sur l'ostéoporose.* 2008; **12**:2–5.
32. Ioannidis G, Papaioannou A, Hopman WM, Akhtar-Danesh N, Anastassiades T, Pickard L, Kennedy CC, Prior JC, Olszynski WP, Davison KS, Goltzman D, Thabane L, Gafni A, Papadimitropoulos EA, Brown JP, Josse RG, Hanley DA, Adachi JD. Relation between fractures and mortality: results from the Canadian Multicentre Osteoporosis Study. *Cmaj.* 2009; **181**:265–271.

33. Kim HJ, Zhao H, Kitaura H, Bhattacharyya S, Brewer JA, Muglia LJ, Patrick Ross F, Teitelbaum SL. Glucocorticoids and the osteoclast. *Ann N Y Acad Sci.* 2007; **1116**:335–339.
34. Canalis E. Mechanisms of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Curr Opin Rheumatol.* 2003; **15**:454–457.
35. Swanson C, Lorentzon M, Conaway HH, Lerner UH. Glucocorticoid regulation of osteoclast differentiation and expression of receptor activator of nuclear factor-kappaB (NF-kappaB) ligand, osteoprotegerin, and receptor activator of NF-kappaB in mouse calvarial bones. *Endocrinology.* 2006; **147**:3613–3622.
36. Kim HJ, Zhao H, Kitaura H, Bhattacharyya S, Brewer JA, Muglia LJ, Ross FP, Teitelbaum SL. Glucocorticoids suppress bone formation via the osteoclast. *J Clin Invest.* 2006; **116**:2152–2160.
37. Manelli F, Giustina A. Glucocorticoid-induced osteoporosis. *Trends Endocrinol Metab.* 2000; **11**:79–85.
38. Sivagurunathan S, Muir MM, Brennan TC, Seale JP, Mason RS. Influence of glucocorticoids on human osteoclast generation and activity. *J Bone Miner Res.* 2005; **20**:390–398.
39. Hadjidakis DJ, Androulakis, II. Bone remodeling. *Ann N Y Acad Sci.* 2006; **1092**:385–396.
40. Cruz JC, Alsina M, Craig F, Yoneda T, Anderson JL, Dallas M, Roodman GD. Ibandronate decreases bone disease development and osteoclast stimulatory activity in an in vivo model of human myeloma. *Exp Hematol.* 2001; **29**:441–447.
41. Roodman GD, Dougall WC. RANK ligand as a therapeutic target for bone metastases and multiple myeloma. *Cancer Treat Rev.* 2008; **34**:92–101.
42. Jia D, O'Brien CA, Stewart SA, Manolagas SC, Weinstein RS. Glucocorticoids act directly on osteoclasts to increase their life span and reduce bone density. *Endocrinology.* 2006; **147**:5592–5599.
43. Dempster DW, Moonga BS, Stein LS, Horbert WR, Antakly T. Glucocorticoids inhibit bone resorption by isolated rat osteoclasts by enhancing apoptosis. *J Endocrinol.* 1997; **154**:397–406.
44. Hirayama T, Sabokbar A, Athanasou NA. Effect of corticosteroids on human osteoclast formation and activity. *J Endocrinol.* 2002; **175**:155–163.
45. Jevon M, Sabokbar A, Fujikawa Y, Hirayama T, Neale SD, Wass J, Athanasou NA. Gender- and age-related differences in osteoclast formation from circulating precursors. *J Endocrinol.* 2002; **172**:673–681.
46. Kim HJ, Zhao H, Kitaura H, Bhattacharyya S, Brewer JA, Muglia LJ, Ross FP, Teitelbaum SL. Dexamethsone suppresses bone formation via the osteoclast. *Adv Exp Med Biol.* 2007; **602**:43–46.

47. Soe K, Delaisse JM. Glucocorticoids maintain human osteoclasts in the active mode of their resorption cycle. *J Bone Miner Res.* 2011.
48. Chamoux E, Bisson M, Payet MD, Roux S. TRPV-5 mediates a receptor activator of NF-kappaB (RANK) ligand-induced increase in cytosolic Ca²⁺ in human osteoclasts and down-regulates bone resorption. *J Biol Chem.* 2010; **285**:25354–25362.
49. Chamoux E, Couture J, Bisson M, Morissette J, Brown JP, Roux S. The p62 P392L mutation linked to Paget's disease induces activation of human osteoclasts. *Mol Endocrinol.* 2009; **23**:1668–1680.
50. Roux S, Lambert-Comeau P, Saint-Pierre C, Lepine M, Sawan B, Parent JL. Death receptors, Fas and TRAIL receptors, are involved in human osteoclast apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005; **333**:42–50.
51. Roux S, Quinn J, Pichaud F, Orcel P, Chastre E, Jullienne A, De Vernejoul MC. Human cord blood monocytes undergo terminal osteoclast differentiation in vitro in the presence of culture medium conditioned by giant cell tumor of bone. *J Cell Physiol.* 1996; **168**:489–498.
52. Quinn JM, Morfis M, Lam MH, Elliott J, Kartsogiannis V, Williams ED, Gillespie MT, Martin TJ, Sexton PM. Calcitonin receptor antibodies in the identification of osteoclasts. *Bone.* 1999; **25**:1–8.
53. Komarova SV, Shum JB, Paige LA, Sims SM, Dixon SJ. Regulation of osteoclasts by calcitonin and amphiphilic calcitonin conjugates: role of cytosolic calcium. *Calcif Tissue Int.* 2003; **73**:265–273.
54. Supanchart C, Kornak U. Ion channels and transporters in osteoclasts. *Arch Biochem Biophys.* 2008; **473**:161–165.
55. Pfaff M, Jurdic P. Podosomes in osteoclast-like cells: structural analysis and cooperative roles of paxillin, proline-rich tyrosine kinase 2 (Pyk2) and integrin alphaVbeta3. *J Cell Sci.* 2001; **114**:2775–2786.
56. Destaing O, Saltel F, Geminard JC, Jurdic P, Bard F. Podosomes display actin turnover and dynamic self-organization in osteoclasts expressing actin-green fluorescent protein. *Mol Biol Cell.* 2003; **14**:407–416.
57. Kajiya H, Okamoto F, Fukushima H, Takada K, Okabe K. Mechanism and role of high-potassium-induced reduction of intracellular Ca²⁺ concentration in rat osteoclasts. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2003; **285**:C457–466.
58. Cizza G, Eskandari F, Coyle M, Krishnamurthy P, Wright EC, Mistry S, Csako G. Plasma CRP levels in premenopausal women with major depression: a 12-month controlled study. *Horm Metab Res.* 2009; **41**:641–648.

59. Cutolo M, Sulli A, Pizzorni C, Craviotto C, Straub RH. Hypothalamic-pituitary-adrenocortical and gonadal functions in rheumatoid arthritis. *Ann N Y Acad Sci.* 2003; **992**:107–117.
60. Cutolo M, Sulli A, Pizzorni C, Secchi ME, Soldano S, Serio B, Straub RH, Otsa K, Maestroni GJ. Circadian rhythms: glucocorticoids and arthritis. *Ann N Y Acad Sci.* 2006; **1069**:289–299.
61. Straub RH, Cutolo M. Circadian rhythms in rheumatoid arthritis: implications for pathophysiology and therapeutic management. *Arthritis Rheum.* 2007; **56**:399–408.
62. Feigenbaum SL, Masi AT, Kaplan SB. Prognosis in rheumatoid arthritis. A longitudinal study of newly diagnosed younger adult patients. *Am J Med.* 1979; **66**:377–384.
63. Cutolo M, Straub RH. Stress as a risk factor in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Neuroimmunomodulation.* 2006; **13**:277–282.
64. Henochoa MJ, Batson JW, Baum J. Psychosocial factors in juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1978; **21**:229–233.
65. Watson S, Owen BM, Gallagher P, Hearn AJ, Young AH, Ferrier IN. Family history, early adversity and the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis: Mediation of the vulnerability to mood disorders. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2007; **3**:647–653.
66. Carleton RN, Sharpe D, Asmundson GJ. Anxiety sensitivity and intolerance of uncertainty: requisites of the fundamental fears? *Behav Res Ther.* 2007; **45**:2307–2316.
67. Orpana H, Lemyre L, Gravel R. Revenu et détresse psychologique: le rôle de l'environnement social. 82-003-X au catalogue de Statistique Canada – Rapports sur la santé. 2009.
68. Stout D, Charpentier C, Chiasson M, Filion E. Culture, language and self-assessments of future health: Anglophones and francophones in Quebec's Eastern Townships. *Journal of Eastern Townships Studies.* 2009; **34**:7–30